

"Reproduktivni ciklus prugaste ladinke Chamelea gallina (Linnaeus, 1758), (Mollusca: Bivalvia) na ušću rijeke Neretve"

Ćurković, Tea

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Dubrovnik / Sveučilište u Dubrovniku**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:155:147406>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-02**



SVEUČILIŠTE U DUBROVNIKU
UNIVERSITY OF DUBROVNIK

Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Dubrovnik](#)



zir.nsk.hr



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U DUBROVNIKU
ODJEL ZA AKVAKULTURU
DIPLOMSKI STUDIJ MARIKULTURA

Tea Ćurković

Reproduktivni ciklus prugaste ladinke
Chamelea gallina (Linnaeus, 1758), (Mollusca: Bivalvia)
na ušću rijeke Neretve

DIPLOMSKI RAD

Dubrovnik, 2017.

SVEUČILIŠTE U DUBROVNIKU
ODJEL ZA AKVAKULTURU
DIPLOMSKI STUDIJ MARIKULTURA

Tea Ćurković

Reproduktivni ciklus prugaste ladinke
Chamelea gallina (Linnaeus, 1758), (Mollusca: Bivalvia)
na ušću rijeke Neretve

DIPLOMSKI RAD

Mentor:

doc.dr.sc. Ana Bratoš Cetinić

Dubrovnik, 2017.

Ovaj diplomski rad izrađen je pod stručnim vodstvom doc.dr.sc. Ana Bratoš Cetinić, u sklopu diplomskog studija Marikultura na Odjelu za akvakulturu Sveučilišta u Dubrovniku.

SAŽETAK

Reproduktivni ciklus prugaste ladinke *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758), (Mollusca:Bivalvia) na ušću rijeke Neretve

Ovo istraživanje je dio sveobuhvatnijeg istraživanja prugaste ladinke, *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758) kojeg je provela Bratoš Cetinić (2012.).

Suvremenom metodom koja omogućuje mjerenje stanica sa histoloških preparata, izmjerene su oocite iz 83 ženki koje izdvojene iz ukupnog uzorka od 195 jedinki prikupljenih u periodu siječanj 2003.-siječanj 2004. godine. Ostali dio uzorka čine mužjaci. U dosadašnjim istraživanjima nije korištena ova metoda za utvrđivanje reproduktivnog ciklusa kod *C.gallina*.

Promatranjem histoloških preparata utvrđen je omjer mužjaka i ženki, te iznosi 1,34:1. Nije zabilježen niti jedan hermafrodit. Promatranjem je utvrđena skala gametogeneze koja je kasnije uspoređena s dobivenim mjerama oocita. Dobivene mjere oocita su potvrdile podatke dobivene promatranjem. Nije bilo značajnih razlika. Gametogeneza i mriješćenje nisu zabilježeni u određenom periodu godine, već su zabilježene tijekom cijele godine. Intenzivno mriješćenje je zabilježeno od travnja do srpnja, kada su utvrđene najzrelije oocite.

Ova metoda se pokazala uspješnom za određivanje reproduktivnog ciklusa kod *C.gallina*.

Ključne riječi: / *Chamelea gallina* / reproduktivni ciklus / oocite / ušće Neretve /

ABSTRACT

Reproductive cycle of Striped Venus *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758), (Mollusca: Bivalvia) in the mouth of Neretva river

This research is part of more comprehensive research of Striped Venus, *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758), which was carried out by Bratoš Cetinić (2012.)

With modern method, which allows measuring cells from histological preparations, oocytes from 83 isolated females were measured. Females were isolated from the total sample of 195 individuals collected in period January 2003-January 2004, and the rest of the sample were males. There wasn't any research which provided using this method for determination reproductive cycle of *C.gallina*.

By observing histological preparations, the ratio of the male and female measuring 1,34:1. No hermaphrodite was recorded. By observing gonadal tissue, scalar gametogenic stages was establish, which was later compared with oocytes measures. The measures confirmed the finding made by observation. There was no significant difference.

The event of gametogenesis and spawning event weren't recorded at a certain period, but were recorded throughout the year. Mass spawning event is recorded from April to July, in the same period when measures of oocytes were biggest.

This method proved to be successful in determinig reproductive cycle of *C.gallina*.

Keywords: / *Chamelea gallina* / reproductive cycle / oocytes / mouth of Neretva /

Sadržaj

1. UVOD	1
1.1. Biološka klasifikacija prugaste ladinke, <i>Chamelea gallina</i> , (Linnaeus, 1758)....	2
1.2. Rasprostranjenost prugaste ladinke	2
1.3. Morfološke i biološke značajke prugaste ladinke.....	3
1.4. Građa i funkcija reproduktivnog sustava.....	5
1.5. Ciljevi istraživanja	8
2. MATERIJALI I METODE.....	9
2.1. Područje istraživanja	9
2.2. Uzorkovanje jedinki prugaste ladinke i priprema histoloških preparata.....	11
2.3. Utvrđivanje spolova i analiza gonada	12
3. REZULTATI.....	13
3.1. Utvrđivanje spola prugaste ladinke.....	13
3.2. Analiza razvoja gonada tijekom godine.....	14
3.2.1. Siječanj, 2003. godine	14
3.2.2. Veljača, 2003. Godine	15
3.2.3. Ožujak, 2003. godine	17
3.2.4. Travanj, 2003. godine	18
3.2.5. Svibanj, 2003. godine	20
3.2.6. Lipanj, 2003. godine.....	21
3.2.7. Srpanj, 2003. godine	23
3.2.8. Kolovoz, 2003. godine	24
3.2.9. Rujan, 2003. godine	26
3.2.10. Listopad, 2003. godine.....	28
3.2.11. Studeni, 2003. godine.....	29
3.2.12. Prosinac, 2003. godine.....	31
3.2.13. Siječanj, 2004. godine.....	33
4. RASPRAVA.....	37
5. ZAKLJUČAK.....	40
6. LITERATURA	42

1. UVOD

Prugasta ladinka, *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758) je školjkaš koji može narasti do 5 cm (Relini i sur., 1999). Ljušture su joj debele i ovalne (Slika 1.), te su po njihovoj površini vidljive koncentrične linije. Umbo je izražen i blago nakrivljen. Na lijevoj ljušturi prati liniju ljušture, dok je na desnoj ljušturi konkavniji. Ljušture su bijelo do bež obojane s primjesama žutih tonova. Vidljive su tri karakteristične smečkaste ili roza linije koje se protežu od umba do ruba ljušture. Periostrakum ljušture je tanak (Carter, 2008).



Slika 1. Vanjski i unutarnji izgled ljušture *Chamelea gallina*, izvor: <http://www.marlin.ac.uk>

Zahvaljujući organoleptičkim svojstvima prugasta ladinka je kvalitetna namirnica i ima svoje tržište, stoga je dobar kandidat za akvakulturu. U Španjolskoj se eksperimentalno uzgajala 1998.-2000. godine, ali nakon slabih prinosa komercijalni uzgoj nije nastavljen (FAO) (Tablica 1.).

Tablica 1. Akvakultura *Chamelea gallina* (FAO)

	1998.(t)	1999.(t)	2000.(t)	2001.-2015.(t)
Španjolska	80	123	119	0

Često je prikupljanje prugaste ladinke iz prirodnih populacija, a vodeća zemlja je Turska koja je u razdoblju 2010.-2015. godine prijavila ukupno 204 694 t prikupljenih školjkaša ove vrste. Tursku slijedi Italija s ukupno prijavljenih 102 820 t, Španjolska sa 18 207 t, Francuska s 3787 t, Portugal s 1621 t, te Grčka s 886t prikupljenih školjkaša ove vrste u istom razdoblju (FAO) (Tablica 2.).

Tablica 2. Prikupljanje *Chamelea gallina* (FAO)

	2010.(t)	2011.(t)	2012.(t)	2013.(t)	2014.(t)	2015.(t)
Turska	26 031	30 176	61 225	28 030	21 828	37 404
Francuska	609	600	659	638	646	635
Grčka	294	138	121	121	118	94
Italija	19 748	19 668	20 028	14 598	14 118	14 660
Portugal	20	132	225	255	424	565
Španjolska	2 413	1 161	2 573	3 916	4 085	4 059

1.1. Biološka klasifikacija prugaste ladinke, *Chamelea gallina*, (Linnaeus, 1758)

Prema „*World Register of Marine Species*“ (WoRMS) prugasta ladinica je sistematski svrstana u:

Tablica 3. Sistematika prugaste ladinice, Gofas, S. (2004).

CARSTVO	Animalia
KOLJENO	Mollusca
RAZRED	Bivalvia
PODRAZRED	Heterodonta
RED	Venerida
PORODICA	Veneridae
ROD	<i>Chamelea</i>
VRSTA	<i>Chamelea gallina</i> (Linnaeus, 1758)

1.2. Rasprostranjenost prugaste ladinice

Prugasta ladinica rasprostranjena je uz obale sjeveroistočnog Atlantika i Sredozemnog mora (Slika 2.). Najgušće naseljava zapadnu obalu Jadranskog mora, te obale Egejskog i Mramornog mora (Tunçer i Erdemir, 2002). Živi ukopana u pijesku i muljevitom dnu na dubinama 0-55 m (Carter, 2008).

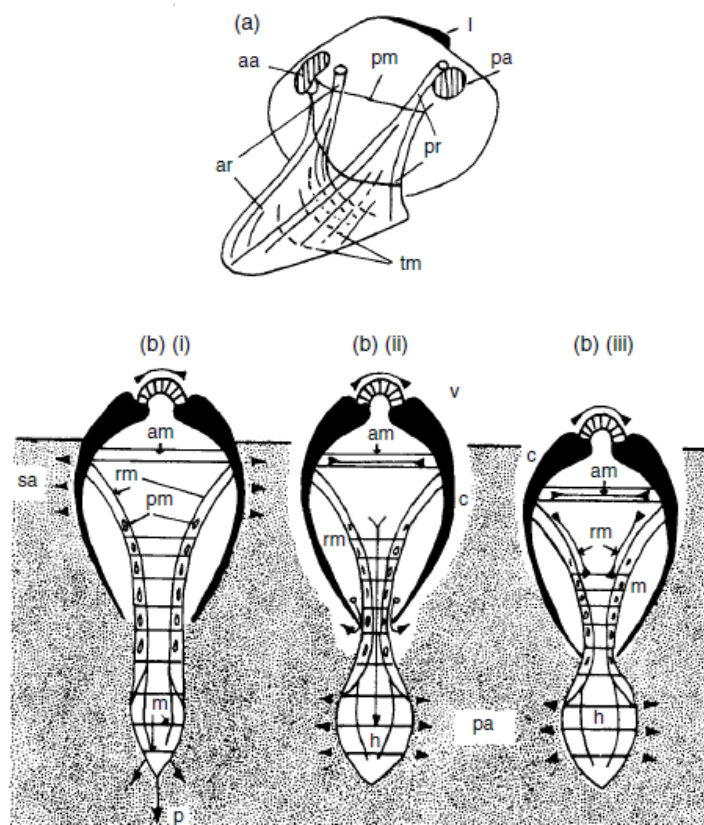
Uz istočnu jadransku obalu nastanjuje pješčana područja nižeg saliniteta i viših koncentracija hranjivih soli. Nalazimo je na dubinama 2-4 m u ušću rijeke Neretve, Cetine i Jadro, na području otoka Brača, Suska i Raba, u Novigradskom moru, te u Kaštelanskom zaljevu (Bratoš Cetinić, 2012; Jukić i sur., 1991, 2002; Peharda i sur., 2010; Vrgoč i sur., 1997).



Slika 2. Rasprostranjenost prugaste ladinke, *Chamelea gallina* (karta rasprostranjenja kompjutorski je generirana, www.aquamaps.org, 2016)

1.3. Morfološke i biološke značajke prugaste ladinke

Tijelo prugaste ladinke je bilateralno simetrično i bočno spljošteno. S vanjske strane je dvodijelna ljuštura, lijeva i desna. Na dorzalnoj strani ljušture su spojene ligamentom koji ima ulogu prilikom otvaranja ljušture, dok zatvaranje ljuštura obavlja jedan ili dva mišića aduktora. S unutrašnje strane ljuštura je plašt koji prati oblik školjkaša. Povezan je mišićima i formira plaštanu šupljinu u kojoj se nalazi stopalo, ktenidije, labijalne palpe i probavni sustav. Školjkaši koji imaju stopalo koriste ga za zakopavanje, a kod nekih vrsta je u potpunosti reducirano. Školjkaši imaju simetričan živčani sustav sastavljen od tri ganglija; cerebropleuralni ganglij inervira prednji dio organizma, pedalni ganglij inervira stopalo, mišiće retraktore u stopalu i mišiće bisusnog kompleksa, te visceralni ganglij inervira stražnji dio organizma (Habdija i sur., 2004). Bisusna žlijezda izlučuje sluz koja se u doticaju s vodom pretvara u duge i čvrste bisusne niti (Gosling, 2003).



Slika 3. Mišići koji sudjeluju tijekom zakopavanja u supstrat (Gosling, 2015) (a) aa-anteriorni aduktor, ar-anteriorni retraktor, l-ligament, pr-posteriorni aduktor, pm-protraktori, pr-posteriorni retraktor, tm-transverzalni pedalni mišići

Prugasta ladinka koristi bisusne niti kako bi se prihvatila za čestice sedimenta. Međutim, čim nađe odgovarajuće mjesto, odbacuje bisus u potpunosti, te se, kombinacijom mišićne aktivnosti i tlaka hemolimfe u stopalu, zakopava u supstrat (Gosling, 2015). Povećanjem volumena hemolimfe i djelovanjem parnih pedalnih protraktora se produžuje stopalo školjkaša (Slika 3. (b)(i)). Kontrakcije mišića aduktora izbacuju vodu iz plaštane šupljine. Na ovaj način se oslobađa mjesto oko ljuštura u supstratu (Slika 3. (b)(ii)). Hemolimfa iz visceralnog hemocela premješta se u hemocel stopala što uzrokuje ekspanziju stopala i sidrenje u podlozi. Nakon što se stopalo usidri, anteriorni i posteriorni parovi pedalnih retraktora se stežu i potežu ljušturu prema dolje (Slika 3. (b)(iii)). Povlačenje stopala u ljušturu povezano je sa stezanjem pedalnih retraktora i opuštanjem aduktora (Gosling, 2015).

1.3.1. Građa i funkcija reproduktivnog sustava

Reproduktivni sustav školjkaša je jednostavan. Gonade su parne, međutim često su toliko blizu jedna druge, da je teško detektirati par. Kod ladinke se nalaze na bazi stopala (Gosling, 2015). Svaka gonada je sustav razgranatih tubula, a gamete su izdanci epitelnog sloja istih tih tubula (Gosling, 2015). Tubuli tvore kanaliće koji vode do većih kanala koji se naposljetku otvaraju u kratki gonodukt. Kod većine školjkaša, gonodukti se otvaraju kroz individualne pore u plaštanu šupljinu, blizu nefridiopora. Utvrđena je izravna veza između razvoja gonada i trajanja reproduktivnog ciklusa s količinom konzumirane hrane ili rezerva energije u tkivima (Delgado i Pérez Camacho, 2005).

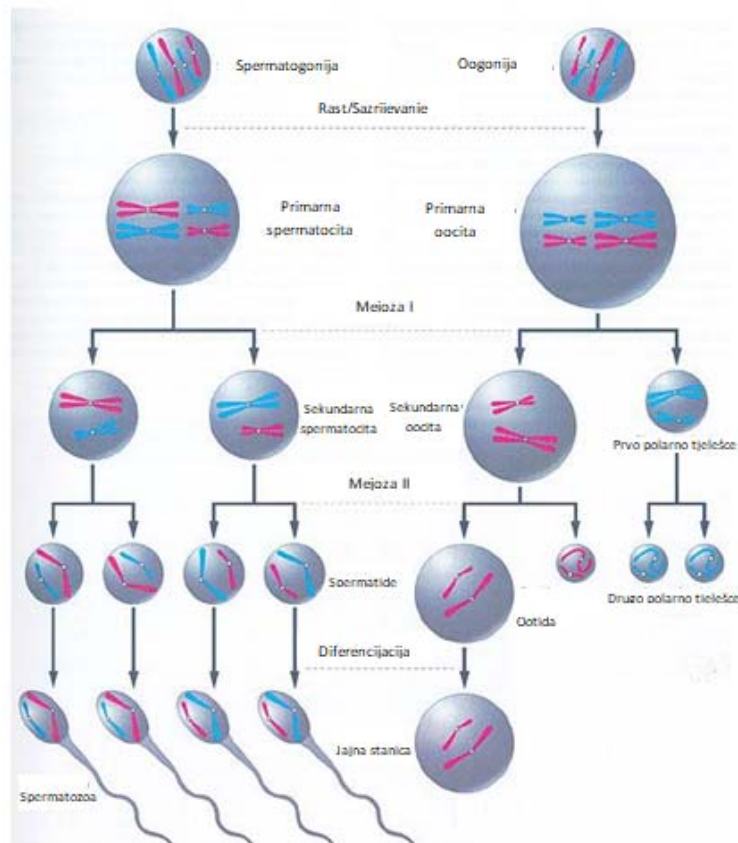
Prugasta ladinica spolno sazrijeva u prvoj godini života pri duljini od 12 mm, a fekunditet se povećava nakon što dosegnu 20 mm duljine. Razmnožavaju se u ljetnim mjesecima (Bratoš Cetinić, 2012). Kod vrste *C.gallina* nije zabilježeno posebno ponašanje tijekom razmnožavanja (Mackie, 1984).

Oplodnja većine školjkaša je vanjska. Gamete se otpuštaju kroz ekshalantne komorice (Gosling, 2015). Biološki ciklus, time i vrijeme otpuštanja gameta, najviše je pod utjecajem temperature. Stoga, vrijeme mriješćenja varira ovisno o geografskom području (Delgado i Pérez Camacho, 2005). Općenito, kućice su gonohoristi, ali su u nekim istraživanjima zabilježeni i sukcesivni hermafroditi (Gosling, 2015; Corni i sur., 1985).

Smatra se da se u populaciji školjkaša uobičajeno nalazi podjednak broj mužjaka i ženki, iako se spol ne može determinirati na temelju morfoloških karakteristika (Gosling, 2015). Standardna metoda za određivanje spola je fiksacija gonadnog tkiva, pravljenje histoloških preparata, te njihova analiza pod svjetlosnim mikroskopom (Gosling, 2015).

Reproduktivni ciklus školjkaša obuhvaća period gametogeneze koju prati jedan produženi ili više kraćih perioda mriješćenja, nakon čega slijedi period obnavljanja gonada (Gosling, 2015). Gametogeneza nastupa brzo nakon sazrijevanja gonada. Na sazrijevanje gameta utječu vanjski faktori kao što su temperatura, dubina, količina

dostupne hrane, intenzitet svjetlosti, Mjesečev ciklus, mehanički podražaj, te unutarnji faktori kao što su ekspresija gena i hormonska regulacija (Mackie, 1984). Tijekom spermatogeneze (Slika 4.), primarna spermatogonija prolazi kroz više mitozu koje stvaraju sekundarnu spermatogoniju. Procesom mejoze I sekundarna spermatogonija postaje spermatoocita. Nakon mejoze II nastaju spermatide koje se diferenciraju u spermatozoide duge 25-60 μm (Franco i sur., 2008).



Slika 4. Spermatogeneza i oogeneza, izvor: <http://www.bionet-skola.com>

Tijekom oogeneze (Slika 4.), primarna oogonija prolazi kroz više mitozu stvarajući sekundarnu oogoniju koja prolazi kroz mejozu. Oogeneza se odvija kroz fazu proliferacije, fazu rasta, te fazu sazrijevanja koja se odvija kroz mejozu I i mejozu II. Faze proliferacije i rasta pripadaju premejotičkom ili mitotičkom periodu, a faza sazrijevanja pripada mejotičkom periodu. Mejozom I primarne oocite se dijele na sekundarnu oocitu i polocitu I. U mejozi II od sekundarne oocite nastaje krupna ootida (jajna stanica) i sitna polocita II, a od polocite I nastaju dvije polocite II. Krajnji rezultat mejoze je jedna funkcionalna jajna stanica i tri nefunkcionalne polocite. U profazi 1. mejotičke diobe dolazi do mejotskog aresta, a mejoza se nastavlja prilikom

oplodnje. Tada oocita prolazi kroz fazu vitelogeneze koja uključuje akumulaciju lipidnih globula i malih količina glikogena (Chung, 2007).

Dalgic i sur. (1998) i Salvatorelli (1967) su zabilježili da gametogeneza započinje nakon duže faze mirovanja, a Marano i sur. (1980) nisu zabilježili pojavu faze mirovanja, već prisutnost gametogeneze tijekom cijele godine.

Reproduktivni ciklus je bitan kako bi se odredilo vrijeme mriješćenja (Dalgic i sur., 2009). Za determinaciju stadija razvoja gonada i vremena mriješćenja koriste se sljedeće metode: razmaz gonadnog tkiva, godišnje promijene indeksa kondicije (IK) i histološka analiza gonadnog tkiva. Od spomenutih metoda, najdetaljnije informacije daje histološka analiza gonadnog tkiva (Moura i sur., 2008).

Reproduktivni ciklus populacija prugaste ladinke u Jadranu opisivali su Salvatorelli (1967), Poggiani i sur. (1973), Marano i sur. (1982), Corni i sur. (1985) i Bratoš Cetinić (2012), te u Atlantiku Gaspar i Monteiro (1998).

U području sjevernog Jadrana Salvatorelli (1967) je zabilježio da su gonade mužjaka prazne u rujnu, listopadu i studenome, te početak gametogeneza u prosincu. Vrhunac gametogeneze je zabilježen u travnju. Folikuli ispunjeni zrelim spermijima su zabilježeni u svibnju i lipnju, a otpuštanje spermija u srpnju. Ciklus gametogeneze završava do kraja kolovoza. Otpuštanje jajnih stanica kod ženki je zabilježeno u srpnju i kolovozu, a prazni folikuli u prosincu. Za isto područje su Corni i sur. (1985) zabilježili početak oogeneze u listopadu, a početak spermatogeneze je zabilježen od listopada do prosinca. Otpuštanje spermija i jajnih stanica je zabilježeno od rujna do kraja listopada. U Tršćanskom zaljevu razdoblje razmnožavanja je zabilježeno od travnja do rujna, a vrhunac je zabilježen u srpnju i kolovozu (Rellini i sur., 1999).

U području jugoistočnog Jadrana reproduktivni ciklus počinje u veljači, a folikuli su vidljivi u ožujku u velikom broju (Bratoš Cetinić, 2012). Otpuštanje jajnih stanica i spermija je zabilježeno od travnja do rujna ili listopada (Marano i sur., 1980).

U području zapadne obale srednjeg Jadrana Froglija (1975) je zabilježio vrhunac otpuštanja jajnih stanica i spermija u svibnju, te dosezanje duljine ličinaka 4-5mm u lipnju.

1.4. Ciljevi istraživanja

Ciljevi istraživanja prugaste ladinke su bili:

- Odrediti raspodjelu spola
- Utvrditi tijek razvoja gonada i reproduktivnog ciklusa
- Utvrditi postoji li utjecaj ostalih fizioloških parametara na razvoj gonada i tijek reproduktivnog ciklusa
- Kvantitativno opisati gonade ženki
- Kvalitativno opisati gonade mužjaka

2. MATERIJALI I METODE

Ovo istraživanje je dio širih istraživanja ove vrste koje su provele Bratoš Cetinić (2012) i Dupčić Radić (2012) od siječnja 2003. do siječnja 2005. godine u istočnom dijelu ušća rijeke Neretve na lokacijama Ušće (Slika 5.) i Osinj (Slika 6.).

2.1. Područje istraživanja



Slika 5. Ušće rijeke Neretve, izvor: <https://www.google.hr/>



Slika 6. Mala Neretva – Osinj, izvor: <https://www.google.hr/>

Područje istraživanja u pojasu plime i oseke je pod izrazitim utjecajem meteoroloških prilika, osobito je značajan utjecaj temperature zraka na temperaturu vode, te utjecaj količine oborina na salinitet vode (Bratoš Cetinić, 2012).

Temperatura zraka i količina oborina se mjerila tri puta dnevno u Meteorološkoj postaji Ploče Državnog hidrometeorološkog zavoda (Bratoš Cetinić, 2012). Na

temelju prikupljenih podataka, prikazano je kretanje srednje mjesečne temperature zraka.

Tablica 4. Podatci o temperaturi zraka 2003. i 2004. godine

	2003. godina	2004. godina
Srednja temperatura zraka (°C)	16,2°C	15,5°C
Najtopliji mjesec (srednja mjesečna temperatura)	Kolovoz 27,4°C	Srpanj 25,3°C
Najviša izmjerena temperatura (°C)	36,6°C Kolovoz	35,7°C Srpanj
Najhladniji mjesec (srednja mjesečna temperatura)	Veljača 4,5°C	Siječanj 5,9°C
Najniža izmjerena temperatura (°C)	-2°C Veljača	-4,8°C Siječanj

Srednja temperatura zraka 2003. godine je iznosila 16,2°C, a 2004. godine 15,5°C. Najtopliji mjesec 2003. godine je bio kolovoz sa srednjom mjesečnom temperaturom 27,4°C, a 2004. godine srpanj sa srednjom mjesečnom temperaturom 25,3°C. Najviša temperatura 2003. godine je zabilježena u kolovozu (36,6°C), a 2004. godine u srpnju (35,7°C). Najhladniji mjesec 2003. godine je bila veljača sa srednjom mjesečnom temperaturom 4,5°C, a 2004. godine siječanj sa srednjom mjesečnom temperaturom 5,9°C. Najniža temperatura 2003. godine zabilježena je u veljači (-2°C), a 2004. godine u siječnju (-4,8°C) (Bratoš Cetinić, 2012) (Tablica 4.).

Tablica 5. Podatci o oborinama 2003. i 2004. godine

	2003. godina	2004. godina
Ukupna količina oborina	898,3 mm (l/m ³)	1281,8mm (l/m ³)
Najvlažniji mjesec (količina oborina)	Siječanj 225,3 mm kiše	Studeni 233,2 mm kiše
Najsuši mjesec (količina oborina)	Srpanj Bez oborina	Srpanj 34,7 mm kiše

Ukupna količina oborina 2003. godine je bila 898,3 mm (l/m^3), a 2004. godine 1281,8mm (l/m^3). Najvlažniji mjeseci tijekom trajanja istraživanja su bili siječanj 2003. godine (225,3 mm kiše), te studeni 2004. godine (233,2 mm kiše). Najsušiji mjeseci tijekom trajanja istraživanja su bili srpanj 2003. godine (bez oborina), te srpanj 2004. godine (34,7 mm kiše) (Bratoš Cetinić, 2012).

Temperatura morske vode na ušću Neretve se u periodu siječanj 2003.-siječanj 2005. godine kretala od 8,9°C (veljača 2003. godine) do 28,8°C (srpanj 2003. godine). Srednja vrijednost temperature za vrijeme trajanja istraživanja je bila 18,03°C (Bratoš Cetinić, 2012).

Vrijednosti saliniteta u periodu trajanja istraživanja su se kretale od 6,21‰ (ožujak 2004. godine) do 37,6‰ (listopad 2003. godine). Srednja vrijednost saliniteta je iznosila 26,14‰ (Bratoš Cetinić, 2012).

Zasićenost kisikom u periodu trajanja istraživanja se kretala od 42% (ožujak 2003. godine) do 181% (lipanj 2003. godine). Srednja vrijednost zasićenosti kisikom iznosila je 113,22% (Bratoš Cetinić, 2012).

2.2. Uzorkovanje jedinki prugaste ladinke i priprema histoloških preparata

Za utvrđivanje spola i analizu gonada, prikupljano je 15 - 20 jedinki mjesečno (ovisno o prisutnosti jedinki) na postaji Ušće. Jedinke su odmah fiksirane 6%-tnim formaldehidom. Naknadno, tkivo je postupno dehidrirano etilnom alkoholom koncentracija od 70% do 100%. Nakon dehidracije, tkivo je uronjeno u ksilol i impregnirano, te je uklopljeno u parafin. Blokovi su rezani mikrotomom na debljinu od 5 μ m, stavljeni su na površinu tople vode kako bi se izravnali, te su prenijeti na predmetno stakalce. Zbog ksilola tkivo je postalo prozirno, stoga su preparati obojeni eozinom i hematoksilinom kako bi strukture postale izraženije. Obojeni preparati su sušeni u struji toplog zraka ili na sobnoj temperaturi.

2.3. Utvrđivanje spolova i analiza gonada

Histološke i morfološke značajke trajnih preparata gonada promatrane su invertnim svjetlosnim mikroskopom Olympus IX7 s ugrađenom kamerom. Program DP Soft koristio se za spremanje i obradu fotografija. Programom AxioVision mjeren je promjer jajnih stanica. Za ovaj dio istraživanja izdvojeno je po 15 preparata mjesečno, te je mjereno po 300 jajnih stanica.

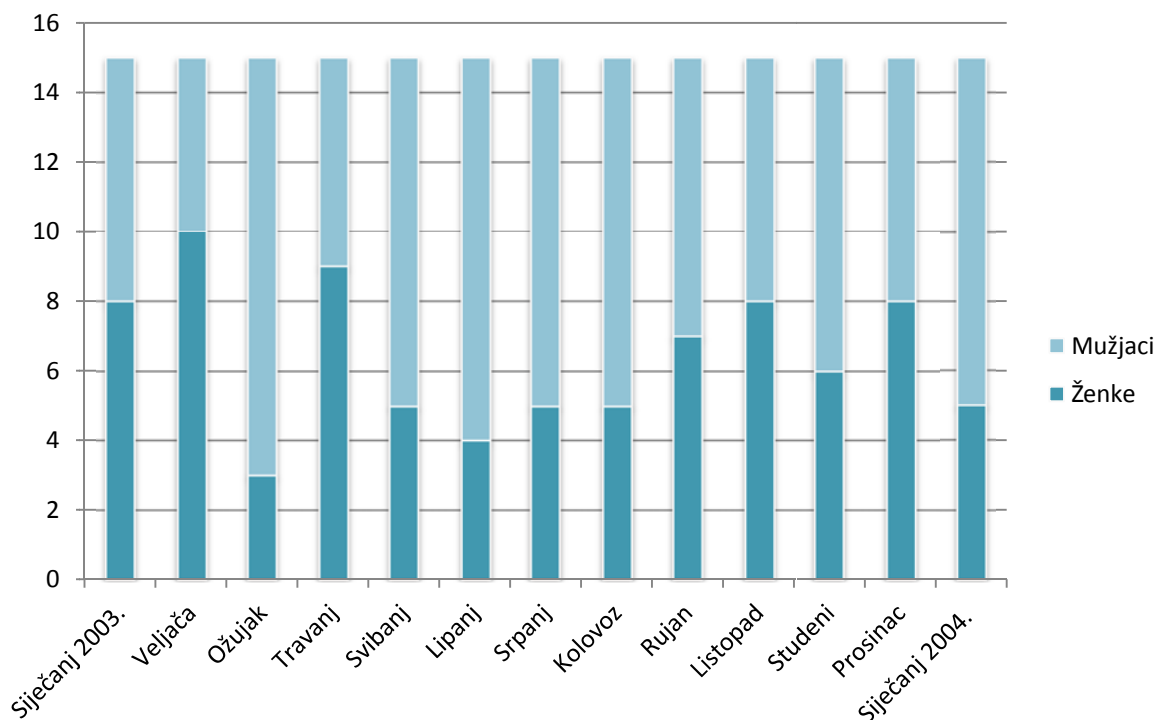
U statističkom programu Statistica napravljen je neparametrijski Hi-kvadrat (χ^2) test očekivanog (1:1) i dobivenog (0,74:1) omjera kako bi se utvrdilo postoji li značajna razlika (p) između očekivanih i dobivenih omjera za populaciju prugaste ladinke. Podatci o promjerima oocita su uneseni u Microsoft Excel 2010, te je pomoću histograma prikazan raspon učestalosti promjera oocita za svaki mjesec. Godišnja distribucija podataka, izračunata je i grafički prikazana pomoću statističkog programa Minitab.

3. REZULTATI

3.1. Utvrđivanje spola prugaste ladinke

Mikroskopskim pregledom histoloških preparata 195 jedinki, utvrđeno je da je udio ženki 42,56% (83 jedinke), a mužjaka 57,44% (112 jedinki). U omjerima je to 0,74:1 (ženki:mužjaka), te 1,35:1 (mužjaka:ženki). Nisu nađeni hermafroditi. Najviše ženki je nađeno u veljači kada su zauzimale 66,7% uzorka (10), dok su mužjaci zauzimali 33,3% uzorka (5). Najmanje ženki je nađeno u uzorku iz ožujka kada su zauzimale tek 20% (3), dok su mužjaci zauzimali 80% uzorka (12) (Slika 7.).

Hi-kvadrat testom očekivanog (1:1) i dobivenog (0,74:1) omjera je dobiven $X^2= 4,312$, $p= 0,037$. Ovaj rezultat potvrđuje da postoji značajna razlika ($p<0,5$) između očekivanog i dobivenog omjera mužjaka i ženki u jednoj populaciji ove vrste.

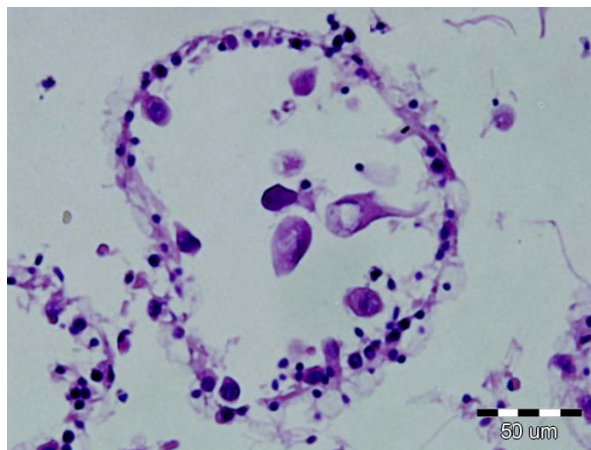


Slika 7. Omjer ženki i mužjaka prugaste ladinke *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758) tijekom jedne godine

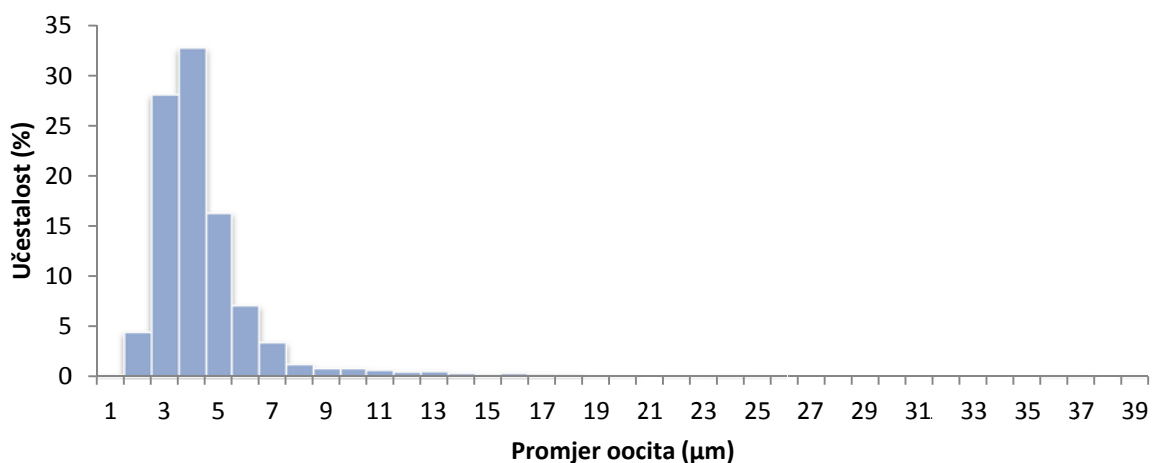
3.2. Analiza razvoja gonada prugaste ladinke tijekom godine

3.2.1. Siječanj, 2003. godine

U siječnju 2003. godine ukupno je izmjereno 2260 oocita. Lumeni ženki su uz stjenku ispunjeni ogonijama, te su vidljive prve previtelogene oocite. Kod nekih jedinki u ovom mjesecu su uočene zrele, slobodne oocite s vidljivom jezgrom. To može biti znak citolize koja nastupa nakon zaostajanja zrele gamete uslijed mriješćenja. U siječnju je najveći dio analiziranih gonada bio u početnom stadiju gametogeneze ili su već bile izmriješćene (Slika 8.). Mjereni promjeri oocita vidljivih na preparatima u lumenima tubula pokazali su raspon od 1,68 do 39,67 μm , a njihova srednja mjesečna vrijednost iznosila je 5,23 μm . Najviše, 32,79% (741) oocita bilo je promjera između 4 i 5 μm (Slika 9.).

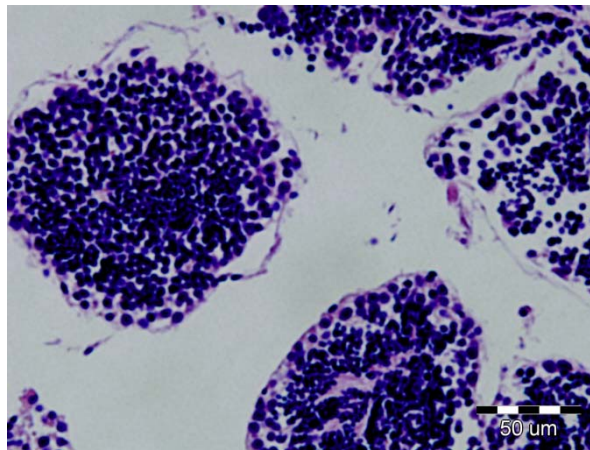


Slika 8. Histološki preparat gonada ženke prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovane u siječnju, 2003. godine



Slika 9. Raspodjela učestalosti vrijednosti promjera oocita prugaste ladinke, *Chamelea gallina* u siječnju 2003. godine

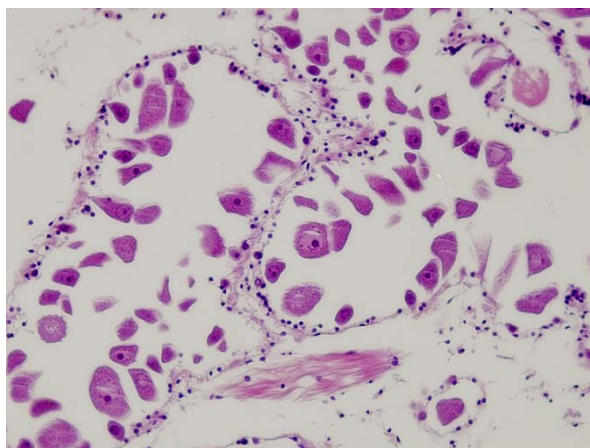
Na histološkim preparatima gonada mužjaka iz siječnja 2003. godine, u lumenima tubula vidljivi su spermatogoniji i spermatociti što upućuje na početak gametogeneze. Na preparatima su uočeni slabije i jače ispunjeni lumeni, pa je tako zabilježen i stadij rane aktivnosti. Također su na nekim preparatima uočeni kružno smješteni spermatozoidi što ukazuje na prisutnost jedinki u stadiju zrelih gonada. Najveći broj lumena bio je gotovo prazan, sa zaostalim zrelim spermijima, što ukazuje da su se te jedinke već izmrijestile (Slika 10.).



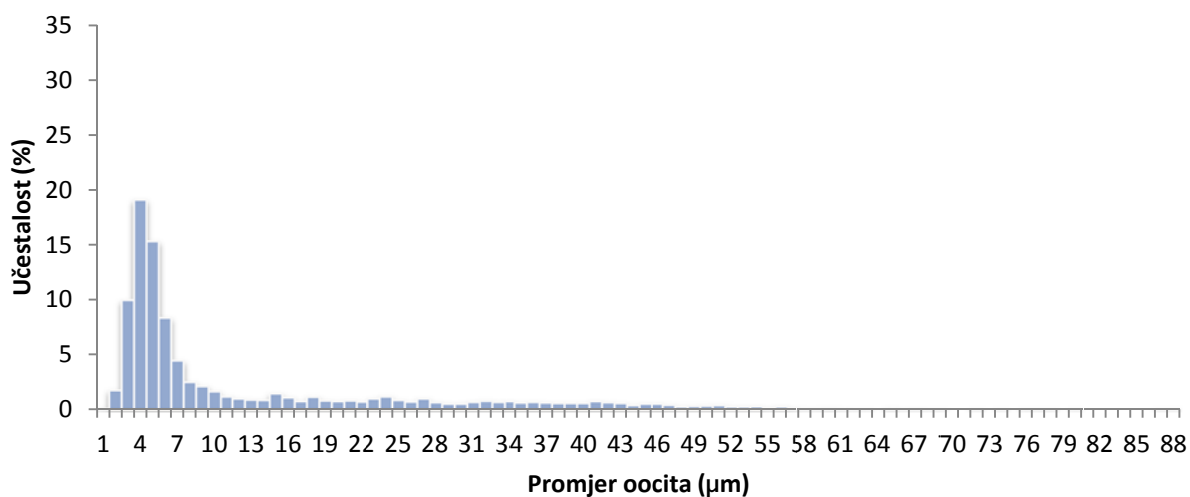
Slika 10. Histološki preparat gonada mužjaka prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovanih u siječnju 2003. godine

3.2.2. Veljača, 2003. Godine

U veljači 2003. godine ukupno je izmjereno 2999 oocita. Lumeni ženki su uz stjenku ispunjeni ogonijama, te su vidljive prve previtelogene oocite. Zabilježene su vezane i slobodne oocite s vidljivim jezgicama koje ukazuju na stadij kasne aktivnosti. Također su zabilježene i zrele oocite, te prazni lumeni koji ukazuju na jedinke koje su se izmrijestile. U veljači je najveći dio analiziranih gonada bilo u stadiju mriješćenja (Slika 11.). Mjereni promjeri oocita viljivih na preparatima u lumenima tubula pokazali su raspon od 1,82 do 88,33 μ m, a njihova srednja mjesečna vrijednost iznosila je 14,25 μ m. Najviše, 19,11% (573) oocita bilo je promjera između 4 i 5 μ m (Slika 12).

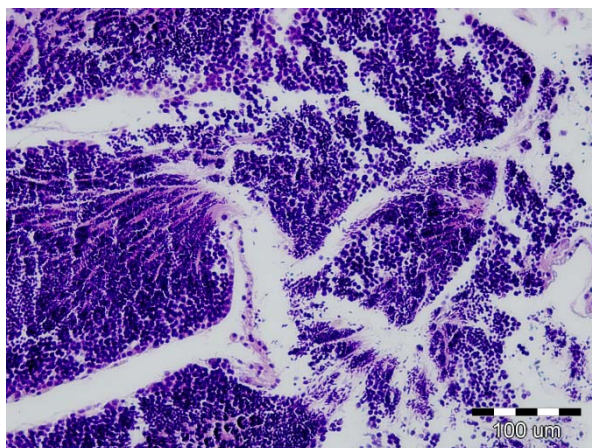


Slika 11. Histološki preparat gonada ženke prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzrokovane u veljači 2003. godine



Slika 12. Raspodjela učestalosti vrijednosti promjera oocita prugaste ladinke, *Chamelea gallina* u veljači 2003. godine

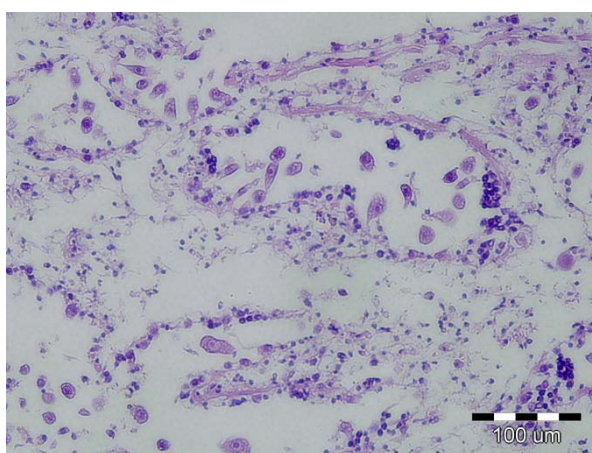
Na histološkim preparatima gonada mužjaka iz veljače 2003. godine, u lumenima tubula gonada vidljivi su spermatogoniji i spermatociti mužjaka što ukazuje na početak gametogeneze, te su uočeni kružno smješteni spermatozoidi kod nekih uzoraka što ukazuje na prisutnost jedinki u stadiju zrelih gonada. Najveći dio uzorka je bio u stadiju zrelih gonada (Slika 13.).



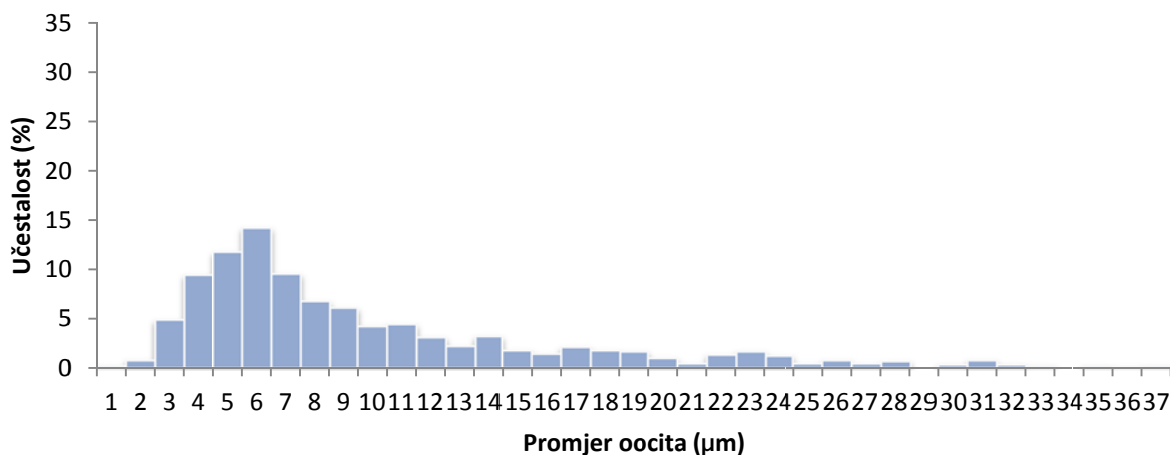
Slika 13. Histološki preparat gonada mužjaka prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzrokovanih u veljači 2003. Godine

3.2.3. Ožujak, 2003. godine

U ožujku 2003. godine ukupno je izmjereno 900 oocita. Lumeni ženki su uz stjenku ispunjeni oogonijama, te su vidljive prve previtelogene oocite. Uz to su zabilježeni prazni lumeni koji ukazuju na već izmriješćene jedinke. Pola analiziranih gonada je bilo u početnom razdoblju gametogeneze, a druga polovica je bila izmriješćena (Slika 14.). Mjereni promjeri oocita vidljivih na preparatima u lumenima tubula pokazali su raspon od 1,90 do 37,96 μ m, a njihova srednja mjesečna vrijednost iznosila je 10,33 μ m. Najviše, 14,22% (128) oocita bilo je promjera između 6 i 7 μ m (Slika 15.).

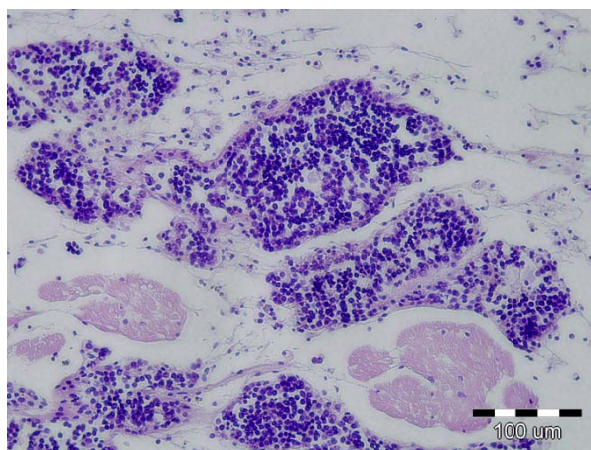


Slika 14. Histološki preparat gonada ženke prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzrokovane u ožujku 2003. Godine



Slika 15. Raspodjela učestalosti vrijednosti promjera oocita prugaste ladinke, *Chamelea gallina* u ožujku 2003. godine

Na histološkim preparatima gonada iz ožujka 2003. godine, u lumenima mužjaka vidljivi su spermatogoniji i spermatociti mužjaka što ukazuje na početak gametogeneze. Uočeni su i prazni lumeni sa zaostalim zrelim spermijima što ukazuje na prisutnost izmriješčenih jedinki. Najveći dio analiziranog uzorka je bilo je izmriješćeno (Slika 16.).

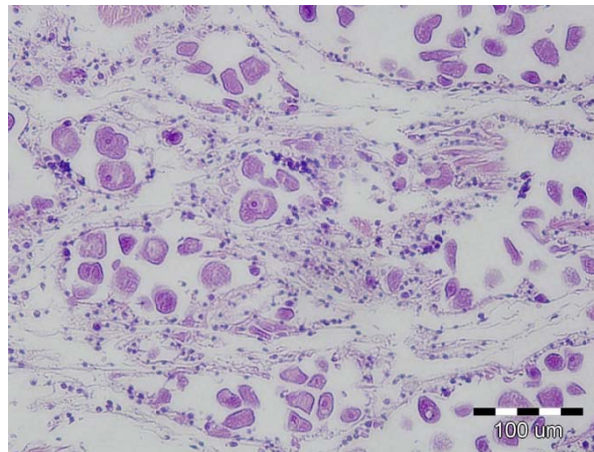


Slika 16. Histološki preparat gonada mužjaka prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzrokovanih u ožujku 2003. godine

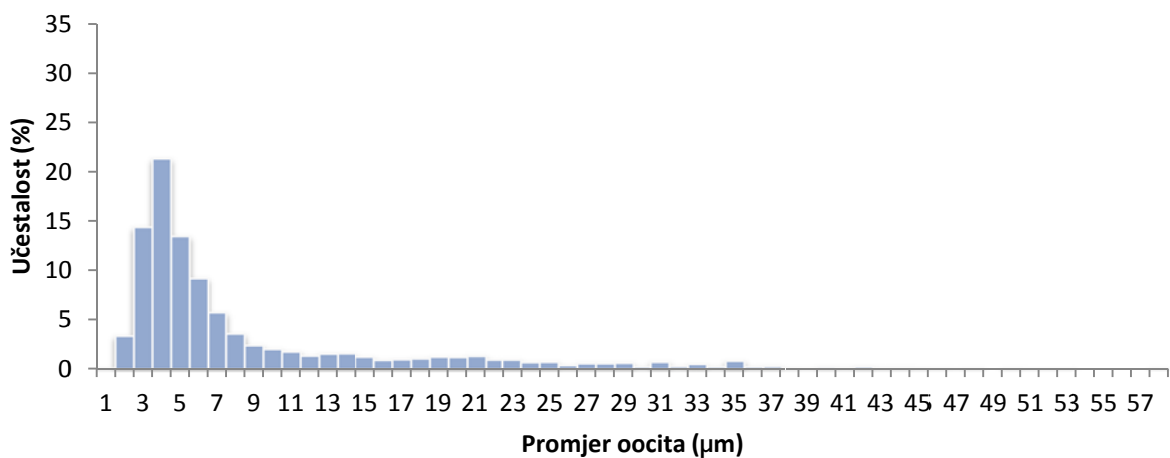
3.2.4. Travanj, 2003. godine

U travnju 2003. godine ukupno je izmjereno 2699 oocita. U lumenima ženki raspoređene su slobodne i vezane oocite s vidljivim jezgicama što ukazuje na stadij kasne aktivnosti gonada. Zabilježeni su i lumeni sa zaostalim zrelim oocitama

tijekom stadija mriješćenja, te prazni lumeni koji ukazuju na izmriješćene gonada. Najveći dio analiziranih gonada je bilo izmriješćeno (Slika 17.). Mjereni promjeri oocita vidljivih na preparatima u lumenima tubula pokazali su raspon promjera od 1,80 do 58,85 μm , a njihova srednja mjesečna vrijednost iznosila je 9,50 μm . Najviše, 14,38% (576) oocita bilo je promjera između 4 i 5 μm (Slika 18.).

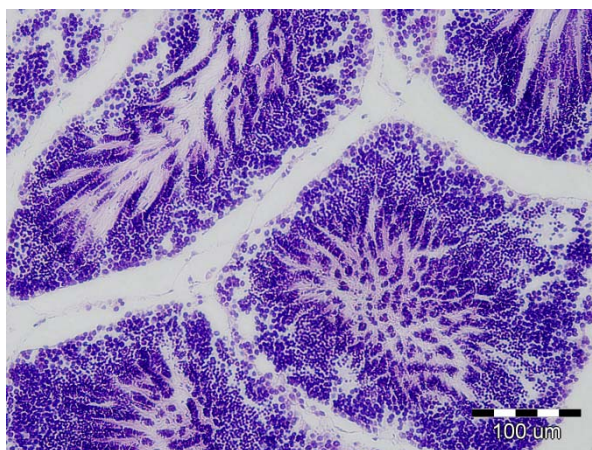


Slika 17. Histološki preparat gonada ženke prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovane u travnju 2003. godine



Slika 18. Raspodjela učestalosti vrijednosti promjera oocita prugaste ladinke, *Chamelea gallina* u travnju 2003. godine

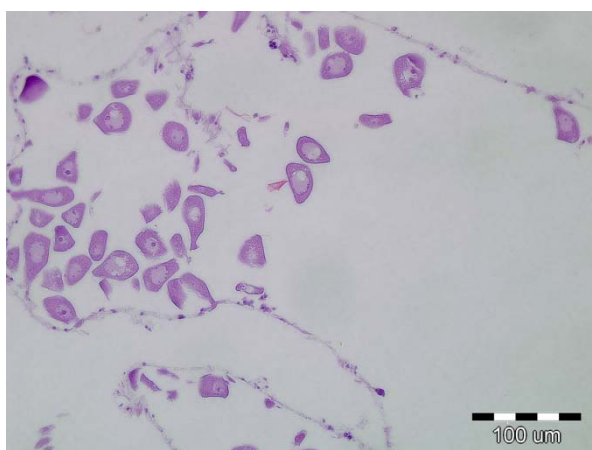
Na histološkim preparatima gonada iz travnja 2003. godine, lumeni mužjaka su slabije i jače ispunjeni, što ukazuje na stadij rane aktivnosti. Također su zabilježeni lumeni u kojima dominiraju spermatidi i spermatozoidi što ukazuje na stadij kasne aktivnosti gonada, te prazni lumeni sa zaostalim zrelim spermijima i nepravilni prazni lumeni što ukazuje na mriješćenje i jedinke koje su već izmriješćene u ovome mjesecu. Najveći dio uzorka je bio u periodu mriješćenja (Slika 19.).



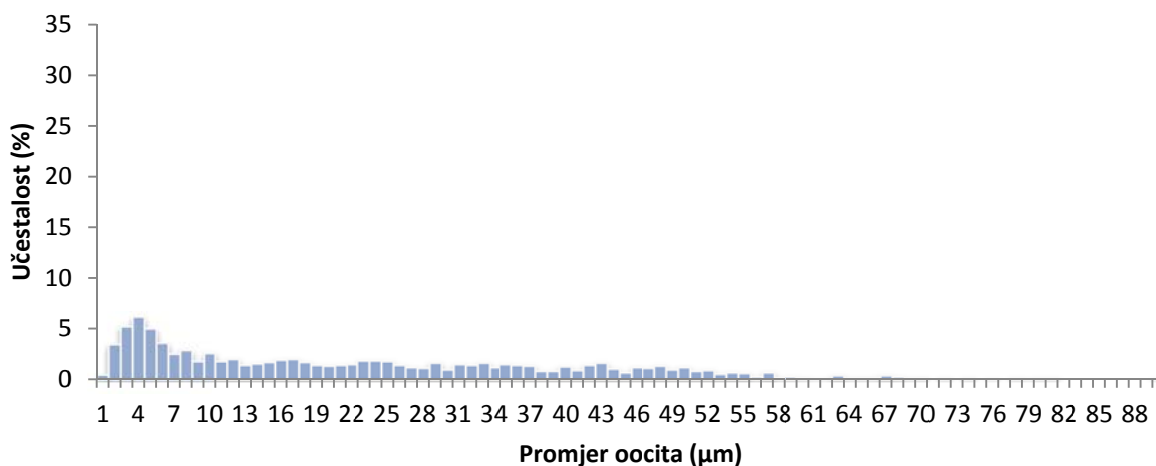
Slika 19. Histološki preparat gonada mužjaka prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovanih u travnju 2003. godine

3.2.5. Svibanj, 2003. godine

U svibnju 2003. godine ukupno je izmjereno 1381 oocita. Lumeni ispunjeni su slobodnim oocitama poligonalniog oblika s vidljivom jezgrom i jezgricama što ukazuje na stadij zrelih gonada. Zabilježeni su i lumeni nepravilnog oblika sa zaostalim zrelim oocitama nakon mriješćenja. Veći dio analiziranih gonada bilo je izmriješćeno (Slika 20.). Mjereni promjeri oocita vidljivih na preparatima u lumenima tubula pokazali su raspon od 1,07 do 90,25 μ m, a njihova srednja mjesečna vrijednost iznosila je 24,00 μ m. Najviše, 6,15% (85) oocita bilo je promjera između 4 i 5 μ m (Slika 21.).

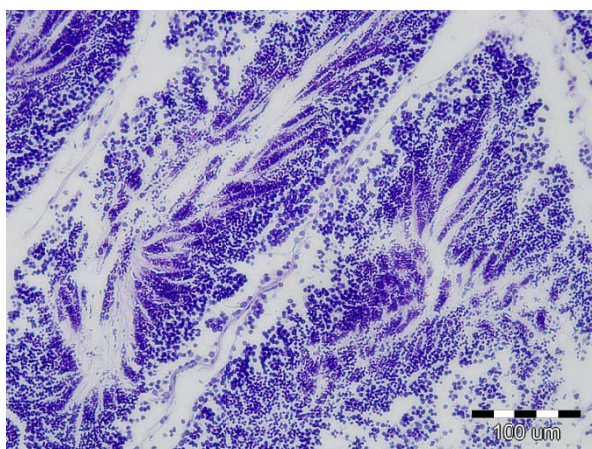


Slika 20. Histološki preparat gonaad ženke prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovane u svibnju 2003. godine



Slika 21. Raspodjela učestalosti vrijednosti promjera oocita prugaste ladinke, *Chamelea gallina* u svibnju 2003. godine

Na histološkim preparatima gonada iz svibnja 2003. godine, u lumenima mužjaka vidljivi su folikuli nepravilnog oblika u kojima su ili otpuštene gamete ili su u fazi otpuštanja, te prazni lumeni sa zaostalim zrelim spermijima što ukazuje na već izmriješćene gonade. Najveći dio uzorka je bio u stadiju mriješćenja (Slika 22.).

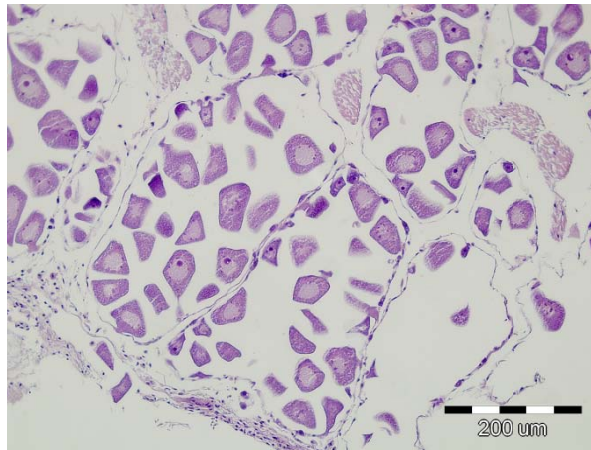


Slika 22. Histološki preparat gonada mužjaka prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovanih u svibnju 2003. godine

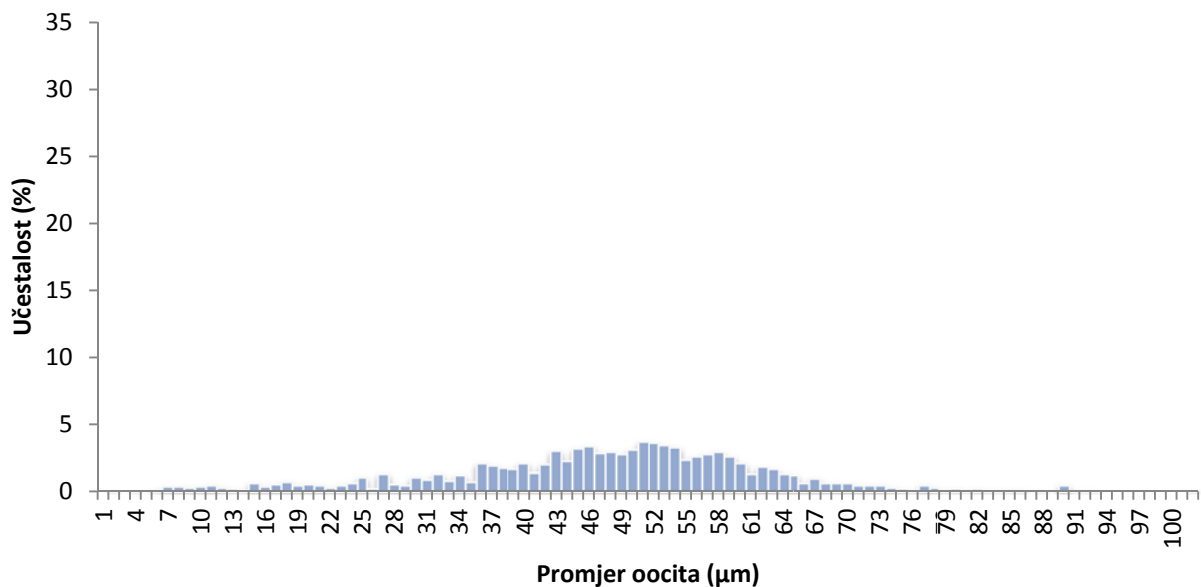
3.2.6. Lipanj, 2003. godine

U lipnju 2003. godine ukupno je izmjereno 1199 oocita. U lumenima ženki raspoređene su vezane i slobodne oocite s vidljivim jezgricama što ukazuje na stadij kasne aktivnosti. Zabilježene su i slobodne oocite poligonalnog oblika s vidljivom jezgrom i jezgricom u stadiju zrelih gonada, te lumeni nepravilnog oblika sa zaostalim

zrelim oocitama tijekom stadija mriješćenja. Veći dio analiziranih gonada bilo je izmriješćeno (Slika 23.). Mjereni promjeri oocita vidljivih na preparatima u lumenima tubula pokazali su raspon promjera od 2,69 do 102,39 μ m, a njihova srednja mjesečna vrijednost iznosila je 47,78 μ m. Najviše, 3,67% (44) oocita bilo je promjera između 51 i 52 μ m (Slika 24.).

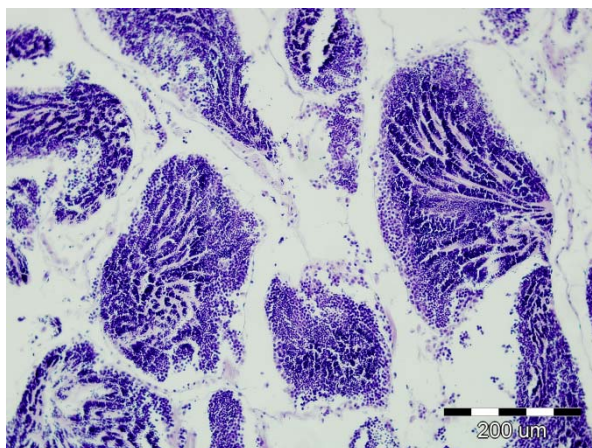


Slika 23. Histološki preparat gonada ženke prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovane u lipnju 2003. godine



Slika 24. Raspodjela učestalosti vrijednosti promjera oocita prugaste ladinke, *Chamelea gallina* u lipnju 2003. godine

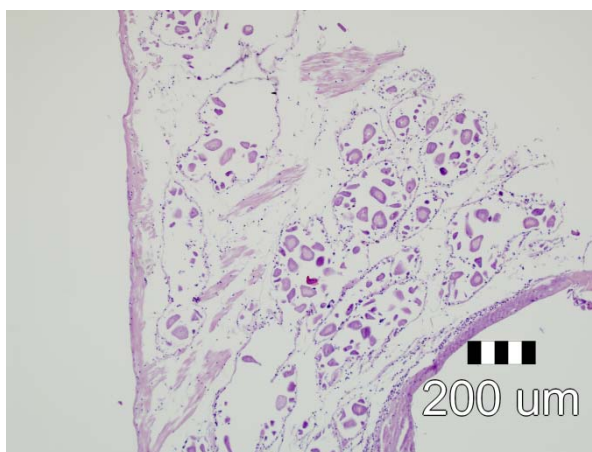
Na histološkim preparatima gonada jedinki iz svibnja 2003. godine vidljivi su folikuli nepravilnog oblika u kojima su ili otpuštene gamete ili su u fazi otpuštanja, te prazni lumeni sa zaostalim zrelim spermijima što ukazuje na stadij izmriješćene gonade. Najveći dio uzorka je bio u stadiju mriješćenja (Slika 25.).



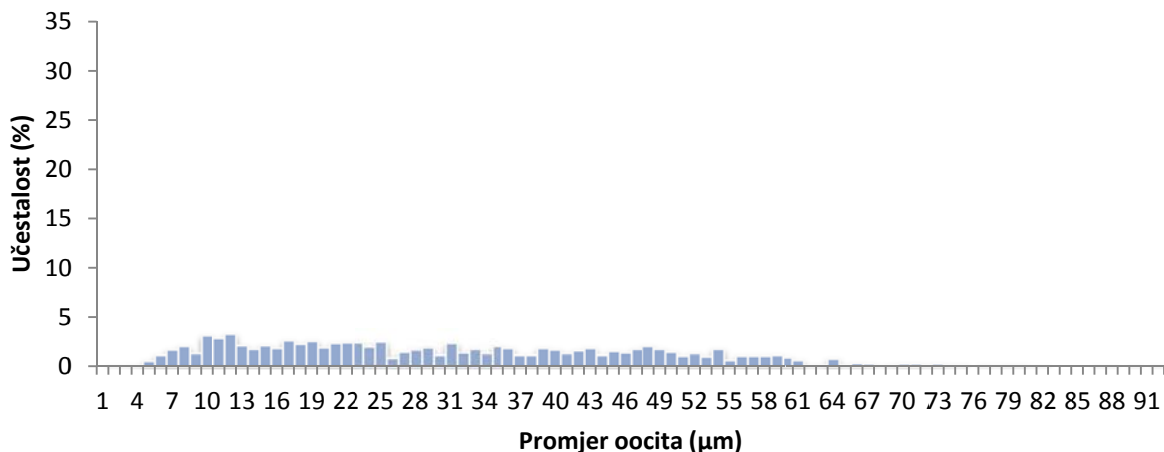
Slika 25. Histološki preparat gonada mužjaka prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovanih u lipnju, 2003. godine

3.2.7. Srpanj, 2003. Godine

U srpnju 2003. godine ukupno je izmjereno 1387 oocita. Zabilježeni su lumeni nepravilnog oblika sa zaostalim zrelim oocitama tijekom mriješćenja, te prazni lumeni koji ukazuju na već izmriješćene gonade. Veći dio analiziranih gonada je bio u stadiju mriješćenja (Slika 26.). Mjereni promjeri oocita vidljivih na preparatima u lumenima tubula pokazali su raspon promjera od 2,69 do 92,01 μm , a njihova srednja mjesečna vrijednost iznosila je 32,24 μm . Najviše, 3,24% (45) oocita bilo je promjera između 12 i 13 μm (Slika 27.).

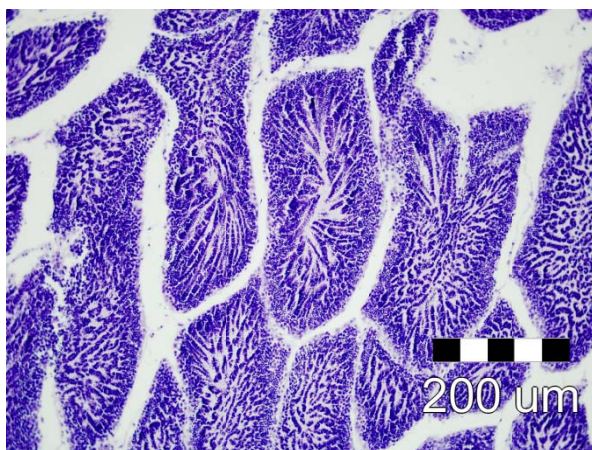


Slika 26. Histološki preparat gonada ženke prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovanih u srpnju 2003. godine



Slika 27. Raspodjela učestalosti vrijednosti promjera oocita prugaste ladinke, *Chamelea gallina* u srpnju 2003. godine

Na histološkim preparatima gonada jedinki iz srpnja 2003. godine vidljivi su folikuli nepravilnog oblika u kojima su ili otpuštene gamete ili su u fazi otpuštanja, te prazni lumeni sa zaostalim zrelim spermijima što ukazuje na izmriješćene gonade. Također su zabilježeni uzorci u neaktivnom stadiju gonada. Najveći dio uzorka je bio izmriješćen (Slika 28.).

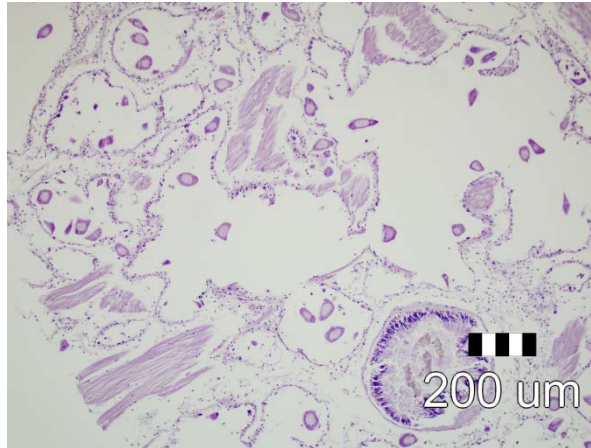


Slika 28. Histološki preparat gonada mužjaka uzorkovanih u srpnju 2003. godine

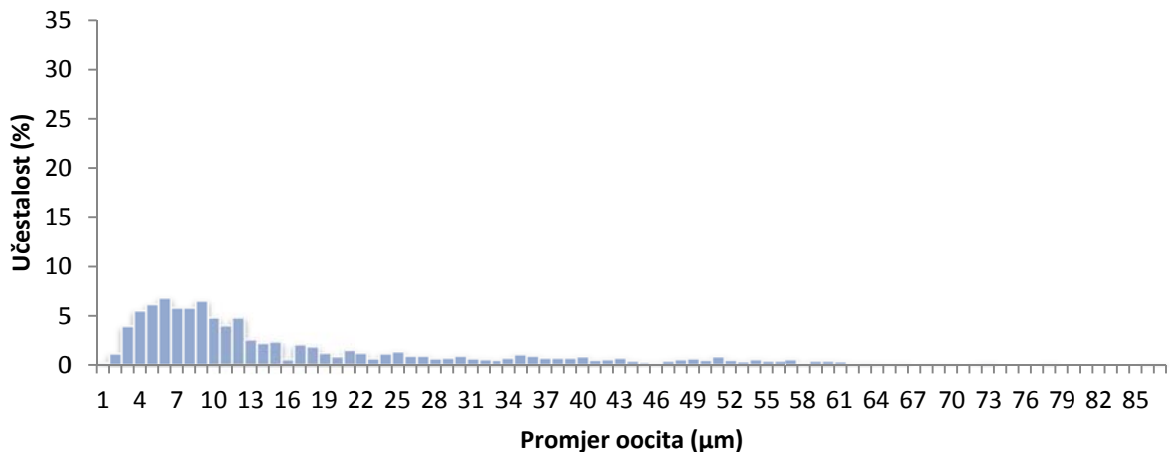
3.2.8. Kolovoz, 2003. godine

U kolovozu 2003. godine ukupno je izmjereno 1389 oocita. Lumeni su uz stjenku ispunjeni oogonijama, te su vidljive prve previtelogene oocite koje ukazuju na početak gametogeneze. Zabilježeni su i prazni lumeni koji ukazuju na izmriješćene

gonade. Veći dio analiziranih gonada je bio izmriješćen (Slika 29.). Mjereni promjeri oocita vidljivih na preparatima u lumenima tubula pokazali su raspon promjera od 1,90 do 87,73 μ m, a njihova srednja mjesečna vrijednost iznosila je 18,34 μ m (Slika 22.). Najviše, 6,77% (94) oocita bilo je promjera između 6 i 7 μ m (Slika 30.).

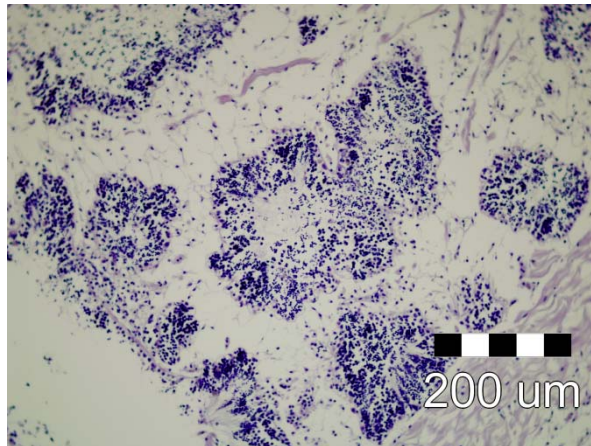


Slika 29. Histološki preparat gonada ženke prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovane u kolovozu 2003. godine



Slika 30. Raspodjela učestalosti vrijednosti promjera oocita prugaste ladinke, *Chamelea gallina* u kolovozu 2003. godine

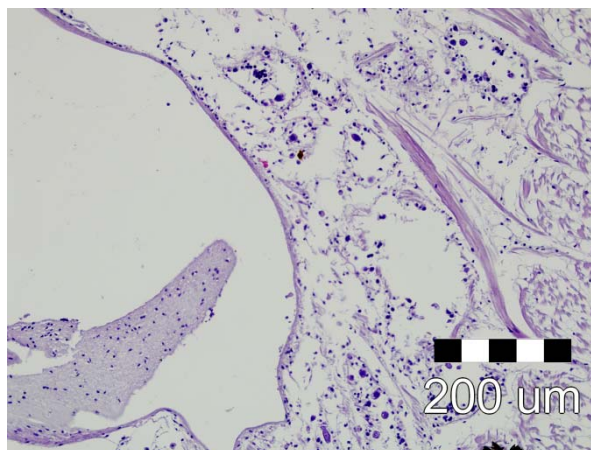
Na histološkim preparatima gonada jedinki iz kolovoza 2003. godine vidljivi su spermatogoniji i spermatociti mužjaka što ukazuje na početak gametogeneze. Među uzorcima su zabilježeni slabije i jače ispunjeni lumeni, pa se tako zabilježio i stadij rane aktivnosti. Također su uočeni lumeni nepravilnog oblika koji su uglavnom prazni ili u tijeku otpuštanja gameta, te prazni lumeni sa zaostalim zrelim spermijima što ukazuje na mriješćenje i već izmriješćene gonade. Najveći dio uzorka je bio u stadiju rane aktivnosti gonada (Slika 31.).



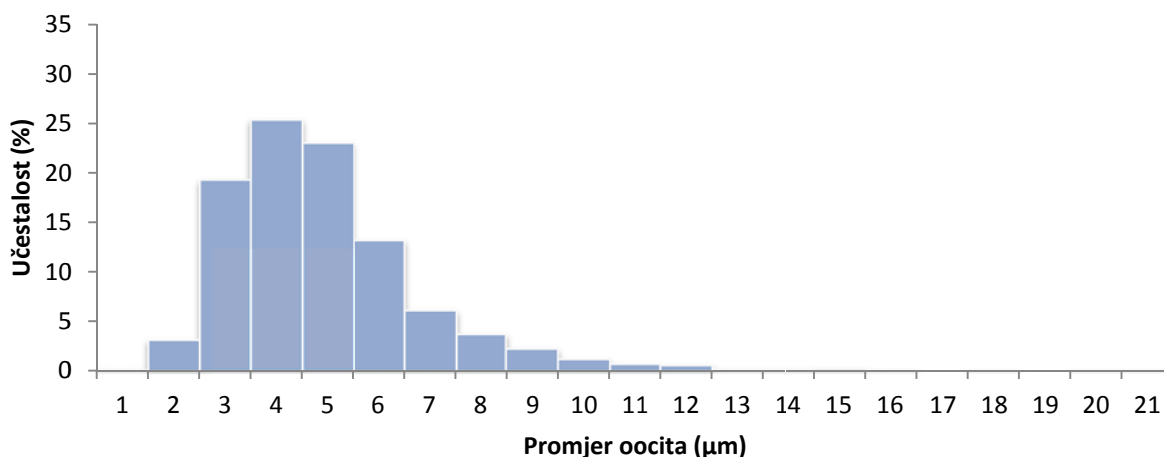
Slika 31. Histološki preparat gonada mužjaka prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovanih u kolovozu 2003. godine

3.2.9. Rujan, 2003. godine

U rujnu 2003. godine ukupno je izmjereno 2100 oocita. Lumeni su uz stjenku ispunjeni ogonijama, te su vidljive prve previtelogene oocite koje ukazuju na početak gametogeneze (Slika 32.). Mjereni promjeri oocita vidljivih na preparatima u lumenima tubula pokazala su raspon promjera od 1,69 do 21,19 μ m, a njihova srednja mjesečna vrijednost iznosila je 5,44 μ m. Najviše, 25,38% (533) oocita bilo je promjera između 4 i 5 μ m (Slika 33.).

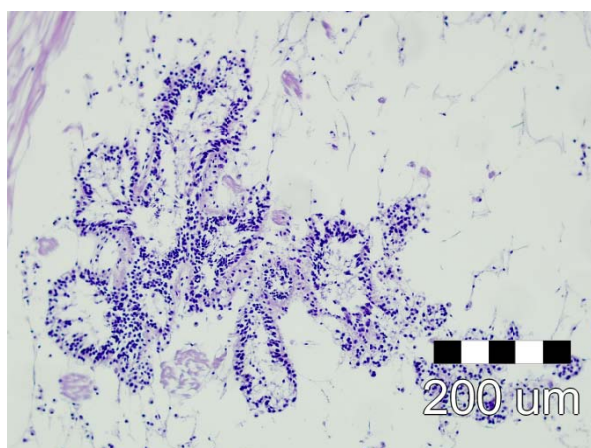


Slika 32. Histološki preparat gonada ženke prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovane u rujnu 2003. godine



Slika 33. Raspodjela učestalosti vrijednosti promjera oocita prugaste ladinke, *Chamelea gallina* u rujnu 2003. Godine

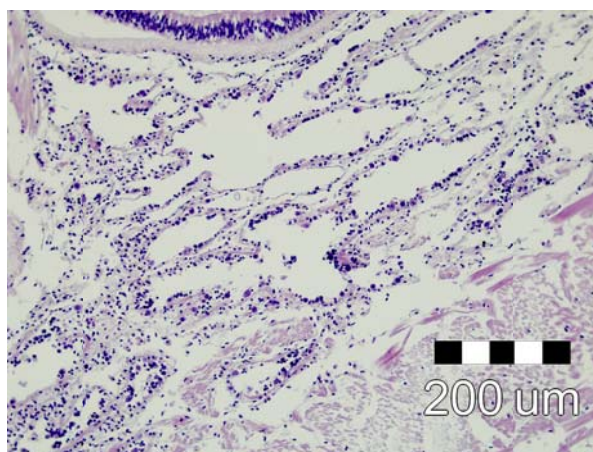
Na histološkim preparatima gonada jedinki iz rujna 2003. godine vidljivi su spermatogoniji i spermatociti mužjaka što ukazuje na početak gametogeneze. Među uzorcima su zabilježeni slabije i jače ispunjeni lumeni, pa se tako zabilježio i stadij rane aktivnosti. Također su uočeni prazni lumeni sa zaostalim zrelim spermijima što ukazuje na izmriješćene gonade. Najveći dio uzorka je bio u stadiju početka gametogeneze (Slika 34.).



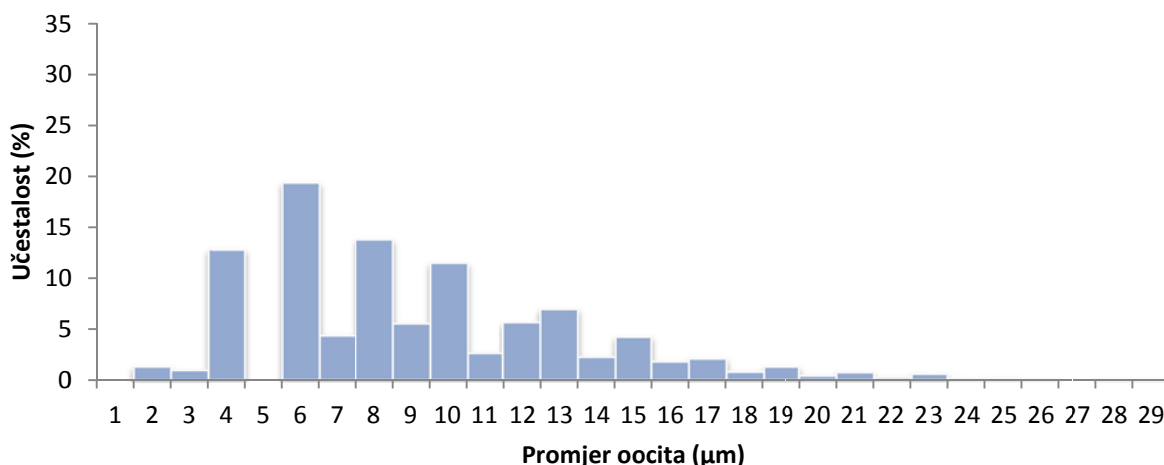
Slika 34. Histološki preparat gonada mužjaka prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovanih u rujnu 2003. godine

3.2.10. Listopad, 2003. godine

U listopadu 2003. godine ukupno je izmjereno 2391 oocita. Lumeni su uz stjenku ispunjeni oogonijama, te su vidljive prve previtelogene oocite koje ukazuju na početak gametogeneze, također je zabilježen razvoj oogonije s jezgrama koje su jače obojane od citoplazme što ukazuje na stadij rane aktivnosti gonada. Veći dio analiziranih gonada je bilo u početnom stadiju gametogeneze (Slika 35.). Mjereni promjeri oocita vidljivih na preparatima u lumenima tubula pokazali su raspon promjera od 2,14 do 29,13 μm , a njihova srednja mjesečna vrijednost iznosila je 9,75 μm . Najviše, 19,41% (464) oocita bilo je promjera između 6 i 7 μm (Slika 36.).

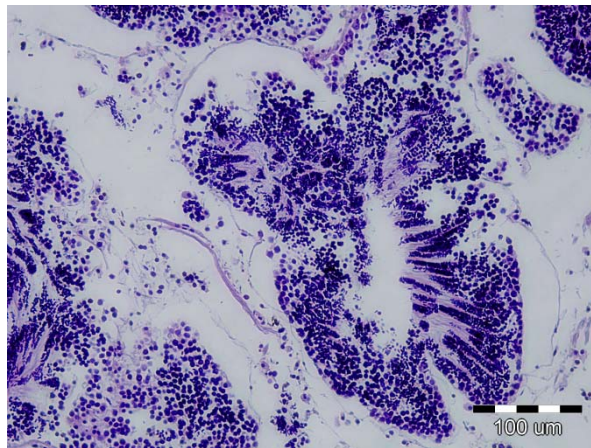


Slika 35. Histološki preparat gonada ženske prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovane u listopadu 2003. godine



Slika 36. Raspodjela učestalosti vrijednosti promjera oocita prugaste ladinke, *Chamelea gallina* u listopadu 2003. godine

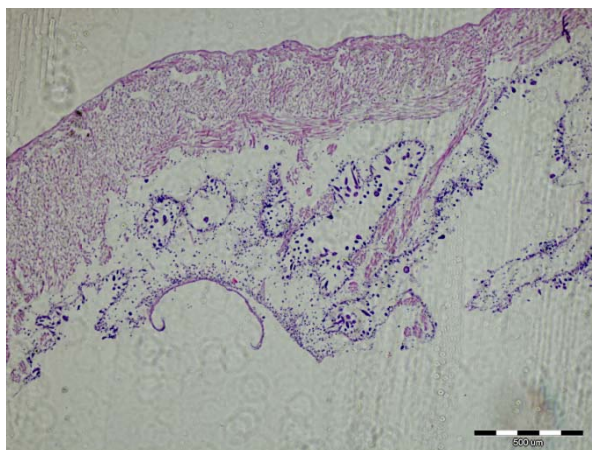
Na histološkim preparatima gonada jedinki iz listopada 2003. godine vidljivi su spermatogoniji i spermatociti mužjaka što ukazuje na početak gametogeneze. Među uzorcima su zabilježeni slabije i jače ispunjeni lumeni, pa se tako zabilježio i stadij rane aktivnosti. Također su uočeni kružno smješteni spermatozoidi kod nekih uzoraka što ukazuje na prisutnost jedinki u stadiju zrelih gonada, te prazni lumeni sa zaostalim zrelim spermijima što ukazuje na izmriješćene gonade. Najveći dio uzorka je bio u stadiju početka gametogeneze (Slika 37.).



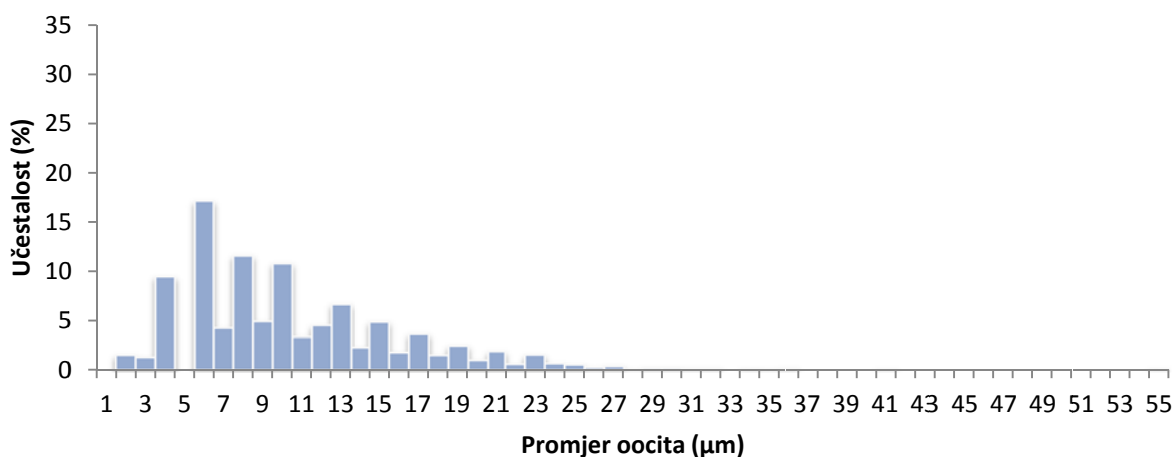
Slika 37. Histološki preparat gonada mužjaka prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovanih listopadu 2003. godine

3.2.11. Studeni, 2003. godine

U studenom 2003. godine ukupno je izmjereno 1800 oocita. Lumeni su uz stjenku ispunjeni ogonijama, te su vidljive prve previtelogene oocite koje ukazuju na početak gametogeneze. Zabilježen je razvoj ogonije s jezgrama koje su jače obojane od citoplazme što ukazuje na stadij rane aktivnosti gonada, te slobodne i vezane oocite s vidljivim jezgricama koje ukazuju na kasnu aktivnost gonada (Slika 38.). Mjereni promjeri oocita vidljivih na preparatima u lumenima tubula pokazali su raspon promjera od 2,14 do 55,67 μ m, a njihova srednja mjesečna vrijednost iznosila je 11,19 μ m. Najviše, 17,11% (308) oocita bilo je promjera između 6 i 7 μ m (Slika 39.).

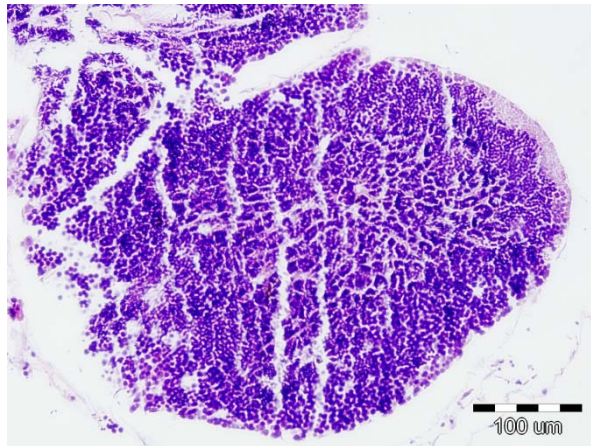


Slika 38. Histološki preparat gonada ženke prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovane u studenom 2003. godine



Slika 39. Raspodjela učestalosti vrijednosti promjera oocita prugaste ladinke, *Chamelea gallina* u studenom 2003. godine

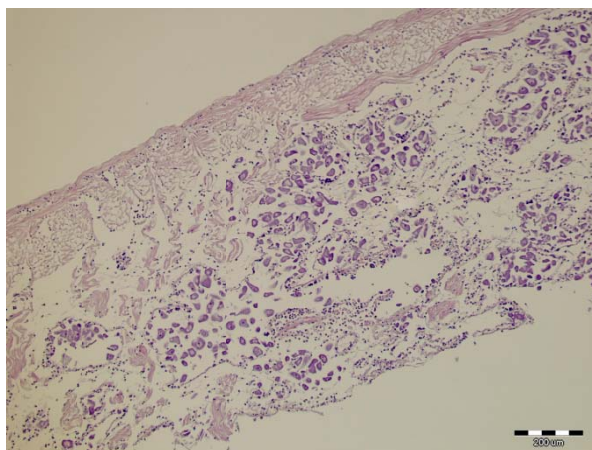
Na histološkim preparatima gonada jedinki iz studenog 2003. godine u lumenima mužjaka vidljivi su spermatogoniji i spermatociti mužjaka što ukazuje na početak gametogeneze. Među uzorcima su zabilježeni slabije i jače ispunjeni lumeni, pa se tako zabilježio i stadij rane aktivnosti. Također su uočeni lumeni u kojima dominiraju spermatide i spermatozoidi što ukazuje na kasnu aktivnost gonada. Najveći dio uzorka je bio u stadiju rane aktivnosti (Slika 40.).



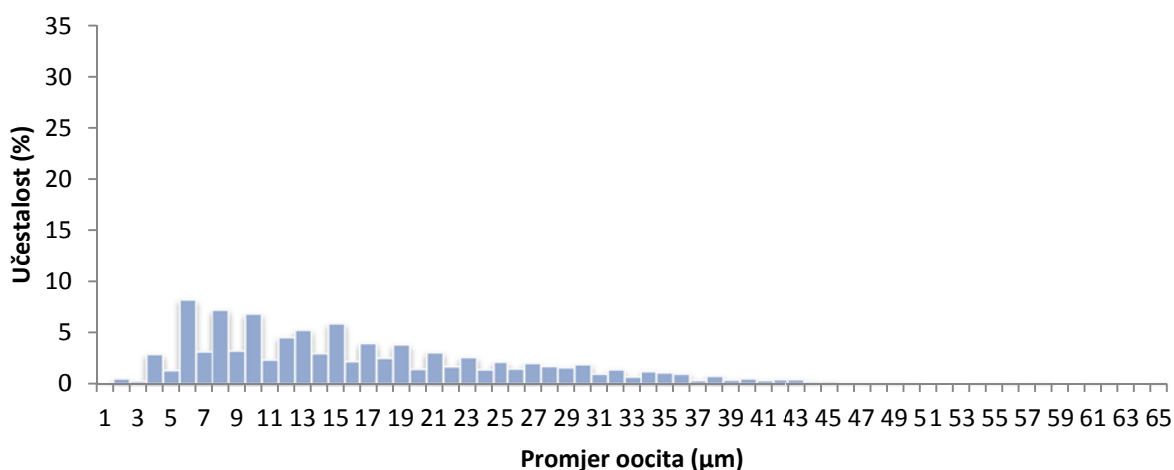
Slika 40. Histološki preparat gonada mužjaka prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovanih u studenom 2003. godine

3.2.12. Prosinac, 2003. godine

U prosincu 2003. godine ukupno je izmjereno 2397 oocita. Lumeni su uz stjenku ispunjeni oogonijama, te su vidljive prve previtelogene oocite koje ukazuju na početak gametogeneze. Zabilježen je razvoj oogonije s jezgrama koje su jače obojane od citoplazme što ukazuje na stadij rane aktivnosti gonada, te slobodne i vezane oocite s vidljivim jezgricama koje ukazuju na kasnu aktivnost gonada. U nekim uzorcima su zabilježene zaostale zrele oocite koje ukazuju na prisutnost mriješćenja, te prazni lumeni koji ukazuju na izmriješćene gonade (Slika 41.). Mjereni promjeri oocita vidljivih na preparatima u lumenima tubula pokazali su raspon promjera od 1,34 do 65,55 μ m, a njihova srednja mjesečna vrijednost iznosila je 17,59 μ m. Najviše, 8,18% (196) oocita bilo je promjera između 6 i 7 μ m (Slika 42.).

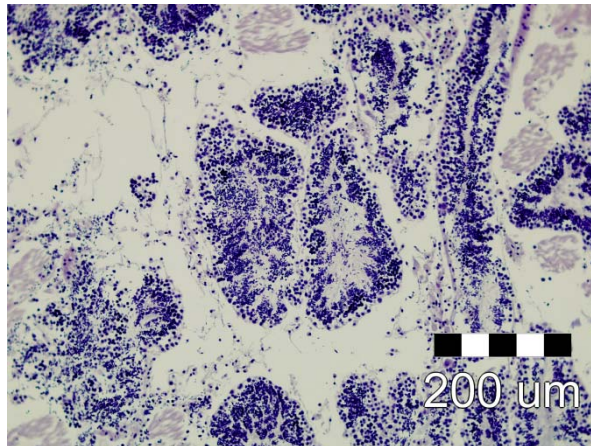


Slika 41. Histološki preparat gonada ženke prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovane u prosincu 2003. godine



Slika 42. Raspodjela učestalosti vrijednosti promjera oocita prugaste ladinke, *Chamelea gallina* u prosincu 2003. godine

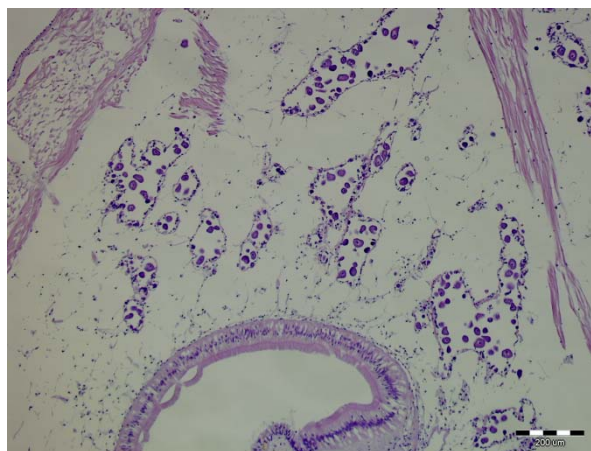
Na histološkim preparatima gonada jedinki iz siječnju 2003. godine u lumenima mužjaka vidljivi su spermatogoniji i spermatociti mužjaka što ukazuje na početak gametogeneze. Među uzorcima su zabilježeni kružno smješteni spermatozoidi kod nekih uzoraka što ukazuje na prisutnost jedinki u stadiju zrelih gonada, te prazni lumeni sa zaostalim zrelim spermijima što ukazuje na izmriješćene gonade. Najveći dio uzorka je bio u stadiju početka gametogeneze (Slika 43.).



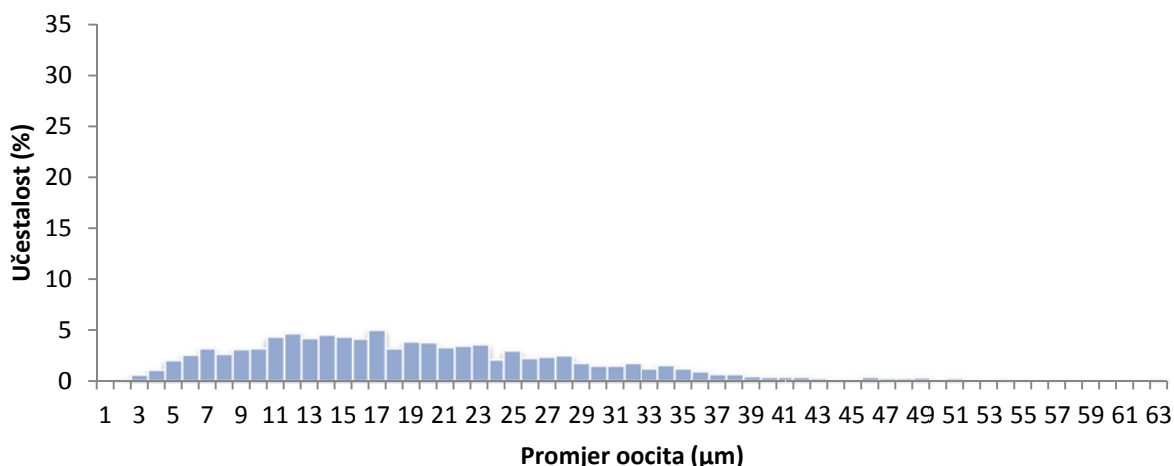
Slika 43. Histološki preparat gonada mužjaka prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovanih u prosincu 2003. godine

3.2.13. Siječanj, 2004. Godine

U siječnju 2004. godine ukupno je izmjereno 1485 oocita. Lumeni su uz stjenku ispunjeni oogonijama, te su vidljive prve previtelogene oocite koje ukazuju na početak gametogeneze. Zabilježene su slobodne i vezane oocite s vidljivim jezgicama koje ukazuju na kasnu aktivnost gonada. U nekim uzorcima su zabilježene zaostale zrele oocite koje ukazuju na mriješćenje. Najveći dio uzorka je bio u periodu mriješćenja (Slika 44.). Mjereni promjeri oocita vidljivih na preparatima u lumenima tubula pokazali su raspon promjera od 2,41 do 63,97 μ m, a njihova srednja mjesečna vrijednost iznosila je 19,94 μ m. Najviše, 4,98 (74) oocita bilo je promjera između 17 i 18 μ m (Slika 45.).

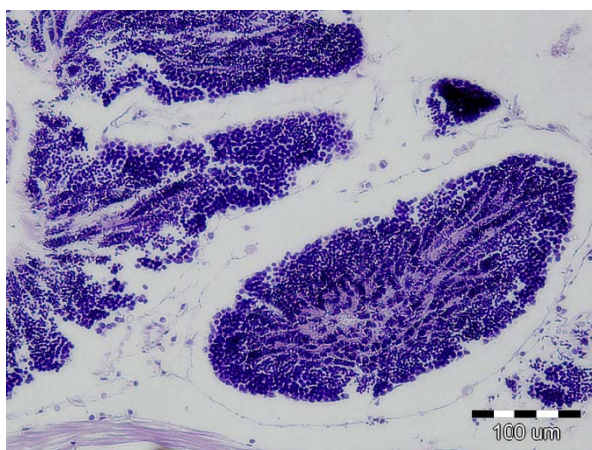


Slika 44. Histološki preparat gonada ženke prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovane u siječnju 2004. godine



Slika 45. Raspodjela učestalosti vrijednosti promjera oocita prugaste ladinke, *Chamelea gallina* u siječnju 2004. godine

Na histološkim preparatima gonada mužjaka iz kolovoza 2003. godine vidljivi su spermatogoniji i spermatociti mužjaka što ukazuje na početak gametogeneze. Među uzorcima su zabilježeni lumeni u kojima dominiraju spermatidi i spermatozoidi što ukazuje na stadij kasne aktivnosti. Također su uočeni lumeni nepravilnog oblika koji su uglavnom prazni ili u tijeku otpuštanja gameta što ukazuje na mriješćenje i izmriješćene gonade. Najveći dio uzorka je bio u stadiju kasne aktivnosti gonada (Slika 46.).



Slika 46. Histološki preparat gonada mužjaka prugaste ladinke, *Chamelea gallina* uzorkovanih u siječnju 2004. godine

Nakon promatranja histoloških preparata, formirana je skala sa sedam stadija razvoja gonada:

1. Početak gametogeneze
2. Stadij rane aktivnosti
3. Stadij kasne aktivnosti

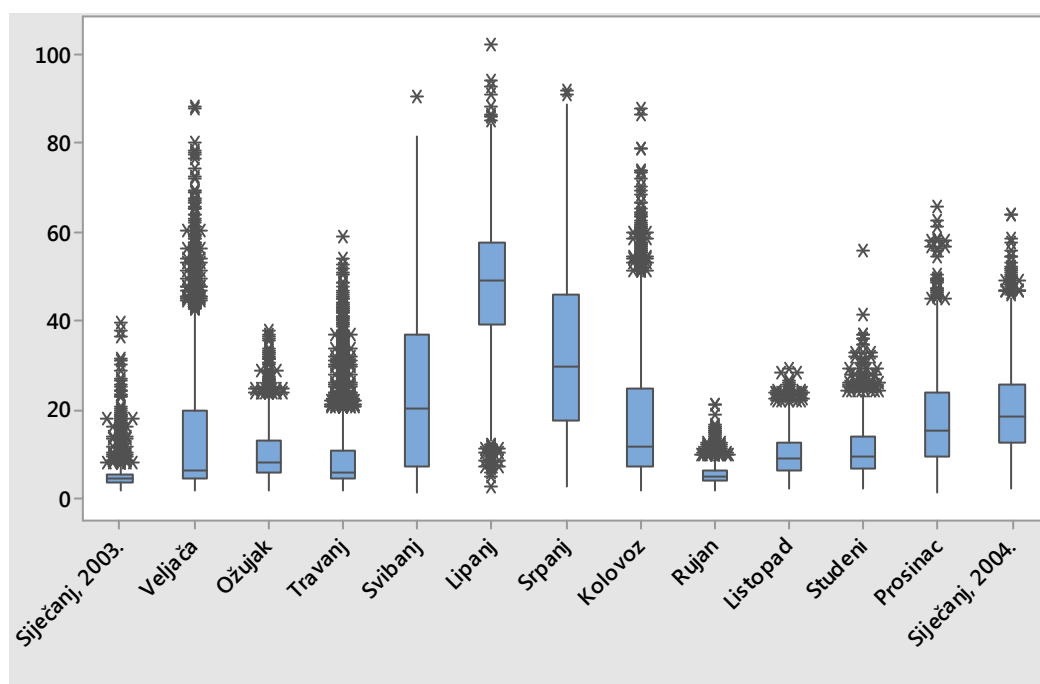
4. Stadij zrelih gonada
5. Mriješćenje
6. Izmriješćene gonade
7. Stadij neaktivnih gonada ili mirovanje

Tablica 6. Razvoj gonada prugaste ladinke, *Chamelea gallina* tijekom godine,
 O- ženke, O- mužjaci

STADIJ GONADA	Siječanj, 2003.	Veljača	Ožujak	Travanj	Svibanj	Lipanj	Srpanj	Kolovoz	Rujan	Listopad	Studeni	Prosinac	Siječanj, 2004.
Početak gametogeneze	♀ ♂	♀ ♂	♀ ♂					♀ ♂	♀ ♂	♀ ♂	♀ ♂	♀ ♂	♀ ♂
Rana aktivnost	♂			♂				♂	♂	♀ ♂	♀ ♂	♀	
Kasna aktivnost		♀		♀ ♂		♀					♀ ♂	♀	♀ ♂
Zrele gonade	♀ ♂	♀ ♂			♀	♀				♂		♂	
Mriješćenje	♀	♀		♀ ♂	♀ ♂	♀ ♂	♀ ♂	♀				♀	♀ ♂
Izmriješćene gonade	♀ ♂		♀ ♂	♀ ♂	♂	♂	♀ ♂	♀ ♂	♂	♂		♀ ♂	♂
Neaktivne gonade		♀	♂				♂						

Početak gametogeneze je zabilježen od siječnja do ožujka 2003. godine, te od kolovoza 2003. godine do siječnja 2004. godine i kod mužjaka i kod ženki. Stadij rane aktivnosti je kod mužjaka zabilježen u siječnju, travnju, te od kolovoza do studenog 2003. godine, a kod ženki od listopada do prosinca 2003. godine. Stadij kasne aktivnosti zabilježen je kod mužjaka u travnju i studenom 2003. godine, te u

siječnju 2004. godine, a kod ženki od veljače do lipnja 2003. godine, te od studenog 2003. godine, do siječnja 2004. godine. Stadij zrelih gonada zabilježen je za mužjake u siječnju, veljači, listopadu i prosincu 2003. godine, a kod ženki u siječnju, veljači, svibnju i lipnju 2003. godine. Mriješćenje je kod mužjaka zabilježeno od travnja do srpnja 2003. godine, te u siječnju 2004. godine, a kod ženki u siječnju, veljači, od travnja do srpnja 2003. godine, te od prosinca 2003. godine do siječnja 2004. godine. Izmriješćene gonade kod mužjaka su zabilježene u siječnju 2003. godine, od ožujka do listopada 2003. godine, te od prosinca 2003. godine do siječnja 2004. godine, a kod ženki u siječnju, od ožujka do travnja, od srpnja do kolovoza, te u prosincu 2003. godine. Neaktivne gonade su kod mužjaka zabilježene u ožujku i srpnju, a kod ženki u veljači 2003. godine (Tablica 4.).



Slika 47. Raspodjela promjera oocita tijekom godine

Oocite su bile najveće u lipnju, a najmanje u siječnju 2003. godine. Kvantitativnom analizom mjerenja oocita dobiveni rezultati pokazuju sukladnost s kvalitativnom analizom promatranja histoloških preparata. Samim promatranjem histoloških preparata donio se zaključak da su se u ovom periodu ženke mrijestile u siječnju, veljači, od travnja do srpnja 2003. godine, te od prosinca 2003. godine do siječnja 2004. godine. Slični podaci su dobiveni mjerenjem oocita, kada su u prethodno spomenutim mjesecima zabilježene najveće oocite što ukazuje da su se jedinke prikupile pred sami mrijest, malo nakon mrijesta ili u stadiju zrelih oocita.

4. RASPRAVA

Tijekom istraživanja temperatura mora na ušću rijeke Neretve nije odstupala od temperatura karakterističnih za pojedina godišnja doba, te je bila u skladu s temperaturom zraka. Najniža temperatura mora je izmjerena u veljači 2003. godine (8,9°C), kada je izmjerena i najniža prosječna temperatura zraka. Najviša temperatura mora je izmjerena u srpnju 2003. godine (28,8°C), a najviša prosječna temperatura zraka je izmjerena u kolovozu. Prosječne temperature zraka izmjerene u lipnju i srpnju su bile blizu prosječne temperature zraka izmjerene u kolovozu (Bratoš, 2012). Izmjerene oocite u siječnju 2003. godine su bile značajno manje nego one u siječnju 2004. godine, na što je vjerojatno utjecala temperatura mora, no ne treba isključiti i ostale čimbenike kao što su npr. dostupnost hrane, predacija i Mjesečev ciklus.

Promatranjem histoloških preparata, od 195 jedinki, 83 je bilo ženki (41,03%), a 112 mužjaka (58,97%), u omjerima je to 0,74:1 (ženki:mužjaka), te 1,35:1 (mužjaka:ženki). Histološki preparati mužjaka i ženki se nisu značano razlikovali prema obojenju preparata, što je inače uobičajena pojava prilikom bojanja preparata. Dobiveni omjeri su normalna pojava kod vrsta razdvojenog spola. Hermafroditi nisu nađeni među uzorkovanim jedinkama za ovo istraživanje, kao ni u istraživanjima Dalgic i sur. (2009.), Gaspar i Monteiro (1998.), Deval i Oray (1992.), Marano i sur. (1980.), Froglija (1975.), te Salvatorelli (1967.). S obzirom da su Corni i sur. (1985) zabilježili pojavu hermafroditizma u rujnu na zapadnoj obali Jadranskog mora, postoji prostor za daljnje istraživanje reproduktivnog ciklusa *C.gallina* na ovom, a i širem području. Tijekom ovog istraživanja, jedinkama prikupljenima u rujnu je najteže bilo odrediti spol jer je najveći dio uzorka iz ovog mjeseca bio u stadiju početka gametogeneze, kada je teško razlikovati oogonije od spermatogonija. Mjerenjem oocita dobiveni rezultati su potvrdili rezultate Bratoš Cetinić (2012.) te su veličine oocita sukladne s periodom mriješćenja koji je utvrđen na osnovi promatranja sastava gonada. Eventualne razlike treba pripisati ograničenju na 15 jedinki po mjesecu, koliko ih je bilo u najmanjim uzorcima. U području sjevernog Jadrana Salvatorelli (1967) je zabilježio da su gonade mužjaka prazne u rujnu, listopadu i studenome, te početak gametogeneza u prosincu. Vrhunac gametogeneze je zabilježen u travnju. Folikuli ispunjeni zrelim spermijima su zabilježeni u svibnju i

lipnju, a otpuštanje spermija u srpnju. Ciklus gametogeneze završava do kraja kolovoza. Otpuštanje jajnih stanica kod ženki je zabilježeno u srpnju i kolovozu, a prazni folikuli u prosincu. Za isto područje su Corni i sur. (1985) zabilježili početak oogeneze u listopadu, a početak spermatogeneze je zabilježen od listopada do prosinca. Otpuštanje spermija i jajnih stanica je zabilježeno od rujna do kraja listopada. U Tršćanskom zaljevu razdoblje razmnožavanja je zabilježeno od travnja do rujna, a vrhunac je zabilježen u srpnju i kolovozu (Rellini i sur., 1999). U području jugoistočnog Jadrana reproduktivni ciklus počinje u veljači, a folikuli su vidljivi u ožujku u velikom broju (Bratoš Cetinić, 2012). Otpuštanje jajnih stanica i spermija je zabilježeno od travnja do rujna ili listopada (Marano i sur., 1980). U području zapadne obale srednjeg Jadrana Froglija (1975) je zabilježio vrhunac otpuštanja jajnih stanica i spermija u svibnju, te dosezanje duljine ličinaka 4-5mm u lipnju. Dalgic i suradnici (2009.) utvrdili su da je period mriješćenja prugaste ladinke u Crnom moru od kraja svibnja do početka kolovoza, a najintenzivnije mriješćenje je zabilježeno u srpnju, dok je u ovom istraživanju vrijeme mriješćenja zabilježeno i u siječnju, veljači, zatim od travnja do srpnja 2003. godine, te od prosinca 2003. godine do siječnja 2004. godine. Treba uzeti u obzir geografske i temperaturne razlike, kao i razlike u dostupnosti potrebnih nutrijenata. Dobiveni rezultati su slični rezultatima dobivenim tijekom istraživanja u jugozapadnom Jadranu, području čiji su ekološki uvjeti sličniji našem području istraživanja (Marano i sur., 1980). Dalgic i sur. (1998) i Salvatorelli (1967) su zabilježili da gametogeneza započinje nakon duže faze mirovanja, a Marano i sur. (1980) nisu zabilježili pojavu faze mirovanja, već prisutnost gametogeneze tijekom cijele godine. Utvrđeno je da je gametogeneza tijekom ovog istraživanja prisutna tijekom cijele godine. Stadij rane aktivnosti je kod mužjaka zabilježen u siječnju, travnju, te od kolovoza do studenog 2003. godine, a kod ženki u zimskom razdoblju godine. Stadij kasne aktivnosti zabilježen je kod mužjaka u travnju i studenom 2003. godine, te u siječnju 2004. godine, a kod ženki u zimskom i proljetnom razdoblju. Stadij zrelih gonada zabilježen je u zimskom razdoblju, a kod ženki razdoblju kasne zime i ranog ljeta. Mriješćenje je kod mužjaka zabilježeno u proljetnom i zimskom periodu, kao i kod ženki. Izmrješćene gonade kod mužjaka su zabilježene u svim periodima godišnjeg doba, kao i kod ženki. Neaktivne gonade su kod mužjaka i ženki zabilježene u proljetnom razdoblju (Tablica 4.).

Dupčić Radić (2012.) je odredila udio lipida, ugljikohidrata i proteina u suhom mesu prugaste ladinke na istom području istraživanja. Maksimalna vrijednost udjela lipida

je na obje postaje zabilježena u lipnju 2003. godine, a minimalne krajem u zimskom periodu. U proljetnom razdoblju udio lipida raste i doseže maksimum u lipnju, nakon čega slijedi pad i ujednačeno gibanje u jesenskom i zimskom periodu. Udio ugljikohidrata je bio najmanji u ožujku, a najveći u prosincu 2003. godine na obje postaje. U proljetnom razdoblju iste godine je zabilježen porast udjela ugljikohidrata, kao i lipida, a pad nastupa u ljetnom razdoblju, te ponovni rast u jesenskom razdoblju. Povećane vrijednosti se zadržavaju u jesenskom i zimskom razdoblju. Maksimalni udio proteina je zabilježen u travnju, a minimalni u svibnju. Ovi podatci nam ukazuju na to da je prugasta ladinka nutritivno najbogatija pred vrhunac mrijesta u lipnju. Masnokiselinski sastav lipida prugaste ladinke upućuje na njenu prehranu mješovitom hranom, najviše fitoplanktonom kao primarnom hranom, a potom mikrozooplanktonom i detritusom. U sastavu masnih kiselina kućice prevladavaju PUFA, zatim slijede SFA i MUFA. Od višestruko nezasićenih masnih kiselina najbrojnije su 22:6n-3 i 20:5n-3 (Dupčić Radić, 2012.). Zbog visokog sadržaja n-3 PUFA i optimalnog omjera n-3/n-6 PUFA, prugasta ladinka je kvalitetna i zdrava namirnica koju je najbolje jesti tijekom proljeća i jeseni.

5. ZAKLJUČAK

Istraživano područje, u kojemu je prugasta ladinka, *Chamelea gallina* karakteristična, zbog svojih ekoloških značajki predstavlja područje povoljno za život biocenoze kojom ova vrsta dominira. Gametogeneza prugaste ladinke u području ušća rijeke Neretve započinje u kolovozu. Intenzivno mriješćenje zabilježeno je u periodu od travnja do srpnja, međutim u ostalim mjesecima također dolazi do otpuštanja gameta.

Mikroskopskim pregledom histoloških preparata 195 jedinki, utvrđeno je da je udio ženki 42,56% (83 jedinke), a mužjaka 57,44% (112 jedinki). U omjerima je to 0,74:1 (ženki:mužjaka), te 1,35:1 (mužjaka:ženki). Najviše ženki je nađeno u veljači kada su zauzimale 66,7% uzorka (10), dok su mužjaci zauzimali 33,3% uzorka (5). Najmanje ženki je nađeno u uzorku iz ožujka kada su zauzimale tek 20% (3), dok su mužjaci zauzimali 80% uzorka (12).

Početak gametogeneze je zabilježen od siječnja do ožujka 2003. godine, te od kolovoza 2003. godine do siječnja 2004. godine kod oba spola. Stadij rane aktivnosti mužjaka zabilježen je u siječnju, travnju, te od kolovoza do studenog 2003. godine, a ženki od listopada do prosinca 2003. godine. Stadij kasne aktivnosti zabilježen je kod mužjaka u travnju i studenom 2003. godine, te u siječnju 2004. godine, a kod ženki od veljače do lipnja 2003. godine, te od studenog 2003. godine, do siječnja 2004. godine.

Stadij zrelih gonada zabilježen je za mužjake u siječnju, veljači, listopadu i prosincu 2003. godine, a za ženki u siječnju, veljači, svibnju i lipnju 2003. godine.

Mriješćenje mužjaka zabilježeno je od travnja do srpnja 2003. godine, te u siječnju 2004. godine, a ženki u siječnju, veljači, od travnja do srpnja 2003. godine, te od prosinca 2003. godine do siječnja 2004. godine.

Izmriješćene gonade mužjaka su zabilježene u siječnju 2003. godine, od ožujka do listopada 2003. godine, te od prosinca 2003. godine do siječnja 2004. godine, a ženki u siječnju, od ožujka do travnja, od srpnja do kolovoza, te u prosincu 2003. godine.

Neaktivne gonade su kod mužjaka zabilježene u ožujku i srpnju, a kod ženki u veljači 2003. godine.

Oocite prugaste ladinke su bile najveće u lipnju, a najmanje u siječnju 2003. godine. Kvantitativnom analizom mjerenja oocita dobiveni rezultati pokazuju sukladnost s kvalitativnom analizom promatranja histoloških preparata.

6. LITERATURA

Bhattacharya, C. G. 1967. A simple method of resolution of a distribution into Gaussian components. U: *Biometrics*, 115-135.

Boltacheva, N. A., & Mazlumyan, S. A. 2003. The growth and longevity of *Chamelea gallina* (Mollusca, Veneridae) in the Black Sea. U: *Vestnik zoologii* 37(3), 71,74.

Carter, M.C. 2008. *Chamelea gallina* Striped Venus clam. U: Tyler-Walters H. and Hiscock K. (eds) *Marine Life Information Network: Biology and Sensitivity Key Information Reviews*, [on-line]. Plymouth: Marine Biological Association of the United Kingdom. Available from: <http://www.marlin.ac.uk/species/detail/2000>

Bratoš Cetinić, A. 2012. Population structure and dynamics of *Chamelea gallina* L. 1758 (Bivalvia, Mollusca) in the neretva river estuary (*Doktorska disertacija, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu*), 103 str.

Chung, E. Y. 2007. Oogenesis and sexual maturation in *Meretrix lusoria* (Röding 1798)(Bivalvia: Veneridae) in western Korea. *Journal of Shellfish Research*, 26(1), 71-80.

Corni, M. G. 1985. Histomorphological aspects of the gonads of *Chamelea gallina*. *Journal of Shellfish Research*, 5(2), 73-80.

Dalgic, G., Karayucel, S., & Okumua, I. 2009. Reproduction cycle of striped venus *Chamelea gallina* from the Black Sea coast of Turkey. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(10).

Delgado, M., & Camacho, A. P. 2005. Histological study of the gonadal development of *Ruditapes decussates* (L.)(Mollusca: Bivalvia) and its relationship with available food. *Scientia Marina*, 69(1), 87-97.

Dupčić Radić, I. 2012. Biokemijski sastav prirodne populacije kućice *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758) na ušću Neretve. Doktorski rad Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. 116 str.

Franco, A., Berthelin, C. H., Goux, D., Sourdain, P., & Mathieu, M. 2008. Fine structure of the early stages of spermatogenesis in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Mollusca, Bivalvia). *Tissue and Cell*, 40(4), 251-260.

Froggia, C. 1975. Aspetti biologici, tecnologici e statistici della pesca delle vongole (*Venus gallina*). *Consiglio Nazionale delle Ricerche, Laboratorio di Tecnologia della Pesca, Dagli Incontri Tecnici, Ancona*, 9, 7-22.

Gaspar, M. B., & Monteiro, C. C. 1998. Reproductive Cycles of the Razor Clam *Ensis Siliqua* and the Clam *Venus striatula* off Vilamoura, Southern Portugal. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 78(4), 1247-1258.

Gosling, E. 2015. *Marine bivalve molluscs (2nd edition)*. John Wiley & Sons. 523 str.

Jukić, S., Šimunović, A., Tonković, M., Šarčević, M. 1991. O biologiji i mogućnosti lova školjkaša skupine Veneridae- kućice (*Chamelea gallina*) u području ušća rijeke Neretve. *Morsko ribarstvo* 43(4); 131-135.

Habdija, I., Primc Habdija, B., Radanović, I., Vidaković, J., Kučinić, M., Špoljar, M., Matoničkin, R., Miliša, M. 2004. *Protista - Protozoa i Metazoa – Invertebrata. Funcionalna građa i praktikum*. Meridijani, Samobor. 399 str.

Jukić, S., Tonković, M., Vrgoč, N. 2002. Bioekološka obilježja i moućnost lova školjke kućice (*Chamelea gallina* L.) na ušću rijeke Nereve. U: Kerovec, M., Durbešić, P. (ed.) Prirodoslovna istraživanja biokovskog područja. *Zbornik radova s kongresa, Makarska 11-16. listopada 1993. Ekološke monografije* 4(1), 430p.

Mackie, G. L. (1984). Bivalves. *The mollusca*, 7, 351-418.

Mann, R. 1978. A comparison of morphometric, biochemical and physiological indexes of condition in marine bivalve molluscs. *Energy and environmental stress in aquatic systems*, 484-497.

Marano, G., Casavola, N., & Saracino, C. 1980. Indagine comparativa sulla riproduzione di *Chamelea gallina* (L.), *Venus verrucosa* (L.), *Rudicardium tuberculatum* (L.) nel basso Adriatico. *Mem. Biol. Mar. Oceanogr*, 10(Suppl 6), 229-234.

Moura, P., Gaspar, M. B., & Monteiro, C. C. 2008. Gametogenic cycle of the smooth clam *Callista chione* on the south-western coast of Portugal. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 88(1), 161-167

Peharda, M., Egzeta-Balić, D., Vrgoč, N., Isajlović, I., Bogner, D. 2012. Description of bivalve community structure in the Croatian part of the Adriatic sea-Hydraulic dredge survey. *Acta Adriat* 51:141-158.

Poggiani, L., Piccinetti, C., & Piccinetti Manfrin, G. 1973. Osservazioni sulla biologia dei molluschi bivalvi *Venus gallina* L. e *Tapes aureus* Gmelin nell'Alto Adriatico. *Note del Laboratorio di Biologia Marina di Fano, Bologna*, 4, 189-212

Polenta, R., Froglija, C., Arneri, E., & Antolini, B. 1998. Osservazioni sulle fluttuazioni del reclutamento di *Anadara inequivalvis* (Brughiere, 1789) e *Chamelea gallina* (L., 1758) nel medio Adriatico. *Biologia Marina Mediterranea*, 5, 290-298.

Powell, D. G. 1979. Estimation of mortality and growth parameters from the length frequency of a catch [model]. *Rapports et Proces-Verbaux des Reunions (Denmark)*.

Relini, G., Bertrand, J., & Zamboni, A. 1999. Synthesis of the knowledge on bottom fishery resources in central Mediterranean (Italy and Corsica). *Biologia Marina Mediterranea*, 6(suppl 1), 314-322.

Salvatorelli, G. 1967. Osservazioni sul ciclo riproduttivo annuo di *Venus gallina* (Molluschi Lamellibranchi). *Annali Università di Ferrara Anatomia Comparata*, NS, 2(2), 15-22.

Tunçer, S., & Erdemir, C. 2002. A preliminary study on some properties for *Chamelea gallina* (L.) (Bivalvia: Veneridae from Karabiga-Canakkale). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2(2), 117-120.

Von Bertalanffy, L. 1938. A quantitative theory of organic growth (inquiries on growth laws. II). *Human biology*, 10(2), 181-213.

Vrgoč, N., Jukić-Peladić, S., & Tonković, M. (1997, January). Preliminary data on translocation of the shellfish *Chamelea gallina* from the Neretva estuary to the Jadro river mouth. U: *Tisuću godina prvog spomena ribarstva u Hrvata*.

Finka, B., (urednik) *Tisuću godina prvog spomena ribarstva u Hrvata*. *Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti, Zagreb*, 677-682.

Wetherall, J. A. 1986. A new method for estimating growth and mortality parameters from length frequency data. *Fishbyte*, 4(1), 12-14.

Chamelea gallina (Linnaeus, 1758). U: MolluscaBase (2017). Pristup: World Register of Marine Species, 10.06.2017. na:

<http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=141907>

Computer generated distribution maps for Chamelea gallina (Striped venus clam), with modelled year 2100 native range map based on IPCC A2 emissions scenario., verzija: Kol. 2016. 20.07.2017. na www.aquamaps.org

Vanjski i unutarnji izgled ljušture *C.gallina*, 10.07.2017. na:

<http://www.marlin.ac.uk/species/detail/2000>

Spermatogeneza i oogeneza, 10.09.2017. na: <http://www.bionet-skola.com/w/Gametogeneza>

Ušće rijeke Neretve, 18.09.2017. na:

https://www.google.hr/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjw5a3paTWAhWF6RQKHfhVAssQjRwIBw&url=http%3A%2F%2Fwww.apartments-zivogosce.com%2Fs4-dolina-rijeke-neretve.php&psig=AFQjCNH5elo_BhwIzCl

Mala Neretva – Osinj, 18.09.2017. na:

<https://www.google.hr/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjcxYPrqgTWAhVJXBQKHZVtCdGQjRwIBw&url=https%3A%2F%2Fhr.wikipedia.org%2Fwiki%2FOsinj&psig=AFQjCNGyoCE5i9JL33Qa-3fflXXjRxeDgg&ust=150546>