



Institut Ruđer Bošković
Bijenička cesta 54
10000 Zagreb

Primjena molekularnih i kromatografskih metoda u ocjeni ekološkog stanja jezera u Republici Hrvatskoj



Zagreb, listopad 2019.

Naručitelj: Hrvatske vode d.d.
Ulica grada Vukovara 220,
10000 Zagreb

Izrađivač: INSTITUT RUĐER BOŠKOVIĆ
Bijenička 54,
10000 Zagreb

Naslov: Primjena molekularnih i kromatografskih metoda u
ocjeni ekološkog stanja jezera u Republici Hrvatskoj

Datum: listopad, 2019.

Voditelj: **dr. sc. Sandi Orlić**

Radni tim: dr.sc. Željka Pezer, IRB
Katarina Kajan, mag.bio., IRB
Lorena Selak, mag.oecol., IRB
Izv.prof.dr.sc. Marija Gligora Udovič, PMF

Voditelj: dr. sc. Sandi Orlić



Predstojnik
Zavod za kemiju materijala

dr. sc. Damir Kralj



Ravnatelj

Institut Ruđer Bošković
dr.sc. David Matthew Smith



Handwritten signature of David Matthew Smith

Temeljem Ugovora o uslugama od dana 18.9.2017., Klasa: 325.01/17-10/31, Ur.broj: 374-1-2-17-6, evidencijski broj ugovora 10-040/17 „Primjena molekularnih i kromatografskih metoda u ocjeni ekološkog stanja jezera u Republici Hrvatskoj”, sklopljenog između Hrvatskih voda i Instituta Ruđer Bošković započeta su prva istraživanja primjene molekularnih i kromatografskih istraživanja u ocjeni ekološkog stanja jezera u Republici Hrvatskoj.

Temeljni cilj ugovorenih istraživanja bio je utvrditi standardne genomske metode te metode analize pigmentata i definirati nove ekološke genomske indekse koji bi se primjenjivali u utvrđivanju bioraznolikosti u jezerima u RH, a sve u cilju boljeg upravlja vodama i točnijoj ocjeni ekološkog stanja.

Sadržaj elaborata ugovorom bila su predviđena slijedeća poglavlja (u italicu su navedena poglavlja gdje se nalaze u predanom izvješću)

Uvod

1. Pregled novih metoda u istraživanju i opisivanju fitoplanktona (*poglavlje 1.2*)
2. Pregled novih kemijskih parametra (pigmenti te karakterizacija organske tvari) koji se koriste u opisivanju stanja jezera (*poglavlje 1.1. i 1.3*)

Rezultati

3. Molekularne metode u karakterizaciji jezera (*poglavlje 5.6*)
 - a) Izbor najbolje metode za izolaciju DNA/RNA za dobivanje cjelovitog sastava fitoplanktone zajednice
 - b) Identifikacija najboljih početnica za što veću pokrivenost u istraživanju raznolikosti fitoplanktona
 - c) Identifikacija indikatorskih vrsta molekularnim metodama u prirodnim jezerima u Hrvatskoj u odnosu na spoznaje dobivene svjetlosnom, skenirajućom i/ili transmisijskom elektronskom mikroskopijom
 - d) Usporedba dobivenih rezultata s ostalim istraživanjima u EU
4. Kemijske metode u karakterizaciji jezera
 - a) Analiza pigmenta putem U-HPLC (Ultra High Performance Liquid Chromatography) (*poglavlje 5.2*)
 - b) Identifikacija markera fitoplanktona dobivenih analizom pigmentata putem U-HPLC (Ultra High Performance Liquid Chromatography) (*Poglavlje 5.3*)
 - c) Usporedba rezultata s referentnim laboratorijem u EU (*(Poglavlje 5.2 i 5.4)*)
 - d) Karakterizacija organske tvari putem masene spektrometrije (Qe FT – ICR-MS-Fourier-transform ion cyclotron resonance mass spectrometry) (*Poglavlje 5.7*)
5. Prijedlog monitoringa primjenom molekularnih i kromatografskih metoda u ocjeni ekološkog stanja jezera u Republici Hrvatskoj (*poglavlje 6*)

U predanom elaboratu sadržaj je djelomično drugačiji, ali svi elementi su navedeni i u novoj studiju kako je naznačenom u gore navedenom sadržaju.

Sadržaj

| | |
|---|----|
| 1. UVOD..... | 1 |
| 1.1. Pigmenti..... | 3 |
| 1.2. Okolišna DNK..... | 11 |
| 1.3. Organska tvar..... | 18 |
| 2. PODRUČJE ISTRAŽIVANJA I ZNAČAJKE ISTRAŽIVANIH JEZERA | 22 |
| 2.1. Jezero Kozjak..... | 22 |
| 2.2. Prošćansko jezero..... | 22 |
| 2.3. Vransko jezero na otoku Cresu..... | 22 |
| 2.4. Baćinska jezera | 23 |
| 2.4.1. Oćuša..... | 24 |
| 2.4.2. Crniševo..... | 24 |
| 2.5. Vransko jezero kod Biograda na moru | 24 |
| 2.6. Visovačko jezero | 25 |
| 3. CILJEVI PROJEKTA | 26 |
| 4. MATERIJALI I METODE..... | 28 |
| 4.1 Uzorkovanje..... | 28 |
| 4.2 Fizikalno kemijski parametri..... | 28 |
| 4.3 Analize pigmenata | 28 |
| 4.4. Analize okolišne DNK (oDNK) | 29 |
| 4.4.1. Obrada podataka sekvenciranja..... | 30 |
| 4.4.2. Statistička obrada podataka..... | 30 |
| 4.5. Analiza organske tvari..... | 30 |
| 5. REZULTATI | 31 |
| 5.1. Rezultati analize fizikalno – kemijskih parametara | 31 |
| 5.2. Rezultati analize pigmenata | 40 |
| 5.2.1. Visovačko jezero..... | 40 |
| 5.2.2. Jezero Kozjak | 43 |
| 5.2.3. Prošćansko jezero..... | 45 |
| 5.2.4. Vransko jezero na Cresu..... | 48 |
| 5.2.5. Vransko jezero kod Biograda na moru | 50 |
| 5.2.6. Baćinska jezera – Crniševo i Oćuša..... | 54 |

| | |
|--|-----|
| 5.3. Usporedba koncentracije klorofila <i>a</i> izmjerenih dvjema različitim metodama: spektrofotometar i HPLC..... | 58 |
| 5.4. Odnosi zajednice fitoplanktona na osnovi koncentracije pigmenta i fizikalno-kemijskih čimbenika u istraživanim jezerima | 60 |
| 5.5. Usporedba morfološke i molekularne analize istraživanih postaja | 74 |
| 5.6. Bioraznolikost istraživanih područja dobivenih molekularnom metodom | 79 |
| 5.6.1. Bioraznolikost jezera Kozjak | 86 |
| 5.6.2. Bioraznolikost Prošćanskog jezera | 87 |
| 5.6.3. Bioraznolikost Vranskog jezera na Cresu | 89 |
| 5.6.4. Bioraznolikost jezera Oćuša | 91 |
| 5.6.5. Bioraznolikost jezera Crniševo | 94 |
| 5.6.6. Bioraznolikost Visovačkog jezera | 95 |
| 5.6.7. Bioraznolikost Vranskog jezera kod Biograda na moru | 97 |
| 5.7. Organska tvar..... | 102 |
| 6. ZAKLJUČAK..... | 106 |
| 7. POPIS LITERATURE..... | 110 |

Popis slika

- Slika 1. Značaj različitih organizama u procjenama stanja okoliša (preuzeto iz: Lesse i sur., 2018).
- Slika 2. Shematski prikaz temeljnog mehanizma rada tekućinskog kromatografa (preuzeto iz: Airs i sur., 2001).
- Slika 3. Prikaz procjene trenutne brojnosti vrsta algi (plavo) i onih neopisanih (crveno), (preuzeto iz: Guiry, 2012).
- Slika 4. Prikaz tradicionalnog te molekularnog pristupa u određivanju procjene stanja okoliša (preuzeto iz: Pawlowski i sur., 2014).
- Slika 5. Detaljan hodogram aktivnosti kod primjene molekularnog pristupa u procjeni stanja okoliša, (preuzeto iz Leese i sur., 2018).
- Slika 6. Prikaz osnovnih principa unutar metabarkodiranja, (preuzeto iz Leese i sur., 2018).
- Slika 7. Frakcije organske tvari u vodenim ekosustavima: DOM – otopljena organska tvar; POM – partikulatna organska tvar; TOM – ukupna organska tvar; DOC – otopljeni organski ugljik; TOC – ukupni organski ugljik; POC – partikulatni organski ugljik; CDOM, (preuzeto iz: Wright, 2005).
- Slika 8. Shematska veličina OT (μm) i masa (Da) distribucije organizama i kemijskih vrsta u vodnom sustavu, (preuzeto iz: Wright, 2005).
- Slika 9. Monitoring organske tvari u različitim zemljama EU, (preuzeto iz: Baird, 2012).
- Slika 10. Prikaz pH vrijednosti svih jezera u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine.
- Slika 11. Prikaz temperaturnih vrijednosti svih jezera u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine, u $^{\circ}\text{C}$.

- Slika 12. Prikaz DOC vrijednosti na svim jezerima u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u mg/L.
- Slika 13. Prikaz TOC vrijednosti na svim jezerima u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u mg/L.
- Slika 14. Prikaz vrijednosti saliniteta u svim jezerima u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u g/kg.
- Slika 15. Prikaz vrijednosti konduktiviteta u svim jezerima u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u $\mu\text{S}/\text{cm}$.
- Slika 16. Prikaz vrijednosti koncentracije klorida u svim jezerima u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u mg/L.
- Slika 17. Prikaz prozirnosti (Secchi) u svim jezerima u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u m.
- Slika 18. Prikaz vrijednosti koncentracije klorofila a u svim jezerima u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u $\mu\text{g}/\text{L}$.
- Slika 19. Sastav pigmenata u Visovačkom jezeru u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u $\mu\text{g}/\text{L}$. a) prikaz s klorofilom a, b) prikaz bez klorofila a.
- Slika 20. Raspodjela koncentracije pigmenata u Visovačkom jezeru od travnja do rujna 2017. godine u $\mu\text{g}/\text{L}$ ili ng/L .
- Slika 21. Sastav pigmenata u jezeru Kozjak u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u $\mu\text{g}/\text{L}$. a) prikaz s klorofilom a, b) prikaz bez klorofila a.
- Slika 22. Raspodjela koncentracije pigmenata u jezeru Kozjak od travnja do rujna 2017. godine u $\mu\text{g}/\text{L}$ ili ng/L .
- Slika 23. Sastav pigmenata u Prošćanskom jezeru u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u $\mu\text{g}/\text{L}$. a) prikaz s klorofilom a, b) prikaz bez klorofila a.
- Slika 24. Raspodjela koncentracije pigmenata u Prošćanskom jezeru od travnja do rujna 2017. godine u $\mu\text{g}/\text{L}$ ili ng/L .

- Slika 25. Sastav pigmenata u Vranskom jezeru (Cres) u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u ug/L. a) prikaz s klorofilom a, b) prikaz bez klorofila a.
- Slika 26. Raspodjela koncentracije pigmenata u Vranskom jezeru (Cres) od travnja do rujna 2017. godine u ug/L.
- Slika 27. Sastav pigmenata u Vranskom jezeru (Biograd na moru) u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine, u ug/L. a) prikaz s klorofilom a, postaja Motel; b) prikaz bez klorofila a, postaja Motel; c) prikaz s klorofilom a, postaja Prosika; d) prikaz bez klorofila a, postaja Prosika.
- Slika 28. Raspodjela koncentracije pigmenata u Vranskom jezeru (Biograd); postaja Motel, od travnja do rujna 2017. godine u ug/L ili ng/L.
- Slika 29. Raspodjela koncentracije pigmenata u Vranskom jezeru (Biograd); postaja Prosika, od travnja do rujna 2017. godine u ug/L ili ng/L.
- Slika 30. Sastav pigmenata u Baćinskim jezerima, u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine, u ug/L a) prikaz s klorofilom a, Crniševo; b) prikaz bez klorofila a, Crniševo; c) prikaz s klorofilom a, Oćuša; d) prikaz bez klorofila a, Oćuša.
- Slika 31. Raspodjela koncentracije pigmenata u Baćinskim jezerima; Crniševo, od travnja do rujna 2017. godine u ug/L ili ng/L.
- Slika 32. Raspodjela koncentracije pigmenata u Baćinskim jezerima; Oćuša, od travnja do rujna 2017. godine u ug/L ili ng/L.
- Slika 33. Prikaz vrijednosti koncentracija klorofila a mjerenih in-situ i U-HPLC metodom.
- Slika 34. Dvodimenzionalni NMDS ordinacijski prikaz sastava zajednice fitoplanktona na temelju koncentracije i sastava pigmenata u razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u istraživanim jezerima.
- Slika 35. Ordinacijski dijagram PCA analize odnosa fizikalno-kemijskih čimbenika u istraživanim jezerima u razdoblju od travnja do rujna 2017 godine.

Slika 36. Ordinacijski dijagram PCA analize odnosa fizikalno-kemijskih čimbenika u jezerima Visovačko, Kozjak, Prošće i Vransko jezero na Cresu u razdoblju od travnja do rujna 2017 godine.

Slika 37. Kanonička analiza korespondencije (CCA) sastava fitoplanktona na osnovi koncentracije pigmenata i fizikalno-kemijskih čimbenika u istraživanim jezerima u razdoblju od travnja do rujna 2017.

Slika 38. NMDS analiza rezultata podataka biomase fitoplanktonske zajednice svih istraživanih područja prema Bray-Curtisovom i Sorensenovom koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.05$.

Slika 39. NMDS analiza rezultata podataka biomase fitoplanktonske zajednice svih istraživanih područja prema Bray-Curtisovom i Sorensenovom koeficijentu sličnosti s prikazom koncentracija pigmenata s korelacijom $p \leq 0.05$.

Slika 40. NMDS analiza rezultata podataka biomase fitoplanktonske zajednice istraživanih područja (isključene dvije postaje Vranskog jezera kod Biograda na moru) prema Bray-Curtisovom i Sorensenovom koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.05$.

Slika 41. NMDS analiza rezultata podataka biomase fitoplanktonske zajednice Vranskog jezera kod Biograda na moru prema Sorensenovom koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.05$.

Slika 42. NMDS analiza rezultata podataka biomase fitoplanktonske zajednice istraživanih q područja (isključene dvije postaje Vranskog jezera kod Biograda na moru) prema Bray-q Curtisovom i Sorensenovom koeficijentu sličnosti s prikazom koncentracije pigmenata s korelacijom $p \leq 0.05$.

Slika 43. NMDS analiza rezultata podataka biomase fitoplanktonske zajednice Vranskog jezera kod Biograda na moru prema Sorensenovom koeficijentu sličnosti s prikazom koncentracije pigmenata s korelacijom $p \leq 0.05$.

Slika 44. Usporedba rezultata bioraznolikosti dobivenih morfološkom i molekularnom analizom na razini koljena.

- Slika 45. Usporedba rezultata bioraznolikosti dobivenih morfološkom i molekularnom analizom na razini razreda.
- Slika 46. Usporedba rezultata bioraznolikosti dobivenih morfološkom i molekularnom analizom na razini porodice.
- Slika 47. Usporedba ukupnog broja utvrđenih rodova na temelju morfološke analize (plavo) i molekularne analize (narančasto)..
- Slika 48. Prikaz prosječne alfa biološke raznolikosti istraživanih područja na temelju oDNK (OTU-ova). Brojnost, Shannonov indeks, Simpsonov indeks, ACE indeks i CHAO1 indeks (brojnost).
- Slika 49. Sezonski prikaz alfa biološke raznolikosti istraživanih područja na temelju oDNK (OTU-ova). Brojnost, Shannonov indeks, Simpsonov indeks, ACE indeks i CHAO1 indeks (brojnost).
- Slika 50. Bioraznolikost istraživanih područja na razini koljena. Prikazan postotni udio svih OTU-ova (98% identiteta slijeda).
- Slika 51. NMDS analiza istraživanih područja prema Bray-Curtisovom i Sorensenovom koeficijentu sličnosti.
- Slika 52. NMDS analiza istraživanih područja prema Bray-Curtis i Sorensen koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.
- Slika 53. NMDS analiza istraživanih područja prema Bray-Curtis i Sorensen koeficijentu sličnosti (isključene dvije postaje Vranskog jezera kod Biograda na moru).
- Slika 54. NMDS analiza istraživanih područja prema Bray-Curtis i Sorensen koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$ (isključene dvije postaje Vranskog jezera kod Zadra).
- Slika 55. Sezonska bioraznolikost jezera Kozjak na razini koljena.
- Slika 56. NMDS analiza jezera Kozjak prema Bray-Curtis i Sorensen koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.

- Slika 57. Sezonska bioraznolikost Prošćanskog jezera na razini koljena.
- Slika 58. NMDS analiza Prošćanskog jezera prema Bray-Curtisovom i Sorensenovom koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.
- Slika 59. Sezonska bioraznolikost Vranskog jezera na Cresu na razini koljena.
- Slika 60. NMDS analiza jezera Vransko Cres prema Bray-Curtis i Sorensen koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.
- Slika 61. Sezonska bioraznolikost jezera Oćuša na razini koljena.
- Slika 62. NMDS analiza jezera Oćuša prema Bray-Curtis i Sorensen koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.
- Slika 63. Sezonska bioraznolikost jezera Crniševo na razini koljena.
- Slika 64. NMDS analiza jezera Crniševo prema Bray-Curtis i Sorensen koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.
- Slika 65. Sezonska bioraznolikost Visovačkog jezera na razini koljena.
- Slika 66. NMDS analiza Visovačkog jezera prema Bray-Curtisovom i Sorensenovom koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.
- Slika 67. Sezonska bioraznolikost jezera Vransko kod Biograda na moru (dvije postaje: Motel (VM), Prosika (VP)) na razini koljena.
- Slika 68. NMDS analiza jezera Vransko prema Bray-Curtis i Sorensen koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.
- Slika 69. Prikaz prosječne alfa biološke raznolikosti Vranskog jezera kod Biograda na moru (dvije postaje: Motel (MO), Prosika (PRS)) na temelju oDNK (OTU-ova). Brojnost, Shannonov indeks, Simpsonov indeks, ACE indeks i CHAO1 indeks (brojnost).
- Slika 70. Prikaz prosječne alfa biološke raznolikosti Vranskog jezera kod Biograda na moru (dvije postaje: Motel (MO), Prosika (PRS)) na temelju oDNK (OTU-ova). Brojnost, Shannonov indeks, Simpsonov indeks, ACE indeks i CHAO1 indeks (brojnost).

Slika 71. NMDS analiza postaje Motel Vranskog jezera kod Biograda na moru prema Bray-Curtis i Sorensen koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.

Slika 72. NMDS analiza postaje Prosika Vranskog jezera kod Biograda na moru prema Bray-Curtis i Sorensen koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.

Slika 73. Koncentracije otopljene organske tvari u istraživanim jezerima.

Slika 74. Mulivarijantna analiza glavnih koordinata (PCoA) molekularne mase DOM.

Slika 75. Boksplotovi aromatskog indeksa te odnos P/C (izračun na osnovi intenziteta molekulskih formula) po jezeru.

Popis tablica

Tablica 1. Karakteristični pigmenti u morskim ekosustavima.

Tablica 2. Detaljna klasifikacija pigmenata te njihov značaj za zajednicu fitoplanktona

Tablica 3. Popis istraživanja koji su bila usmjerena prema procjeni ekološkog stanja slatkovodnih ekosustava, klasificiran prema indikatorima, genetičkom markeru te postavljenim pitanjima. Korelacije su označene posebno gdje su bile utvrđene.

Tablica 4. Svojstvene vrijednosti prvih pet osi PCA analize s postocima ukupne varijance fizikalno-kemijskih čimbenika u istraživanim jezerima u razdoblju od travnja do rujna 2017 godine.

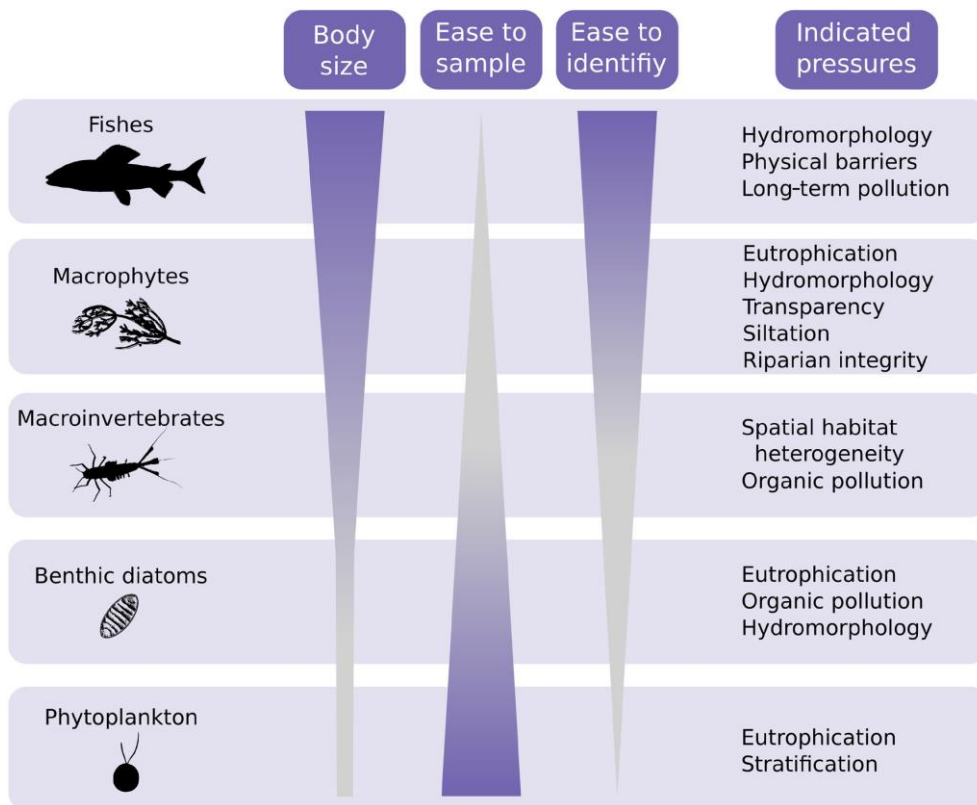
Tablica 5. Svojstvene vrijednosti prvih pet osi PCA analize s postocima ukupne varijance fizikalno-kemijskih čimbenika u jezerima Visovačko, Kozjak, Prošće i Vransko jezero na Cresu u razdoblju od travnja do rujna 2017 godine.

Tablica 6. Svojstvene vrijednosti tri osi CCA analize s postocima ukupne varijance za sastava fitoplanktona na osnovi koncentracije pigmenata i fizikalno-kemijskih čimbenika u istraživanim jezerima u razdoblju od travnja do rujna 2017.

Tablica 7. Korištene skraćenice u grafičkim prikazima

1. UVOD

Praćenje uvjeta vodenih ekosustava i njihovih karakteristika, u svijetu se provodi pomoću prisutnosti niza organizama, čija je pojava karakterizirana određenim okolišnim uvjetima (Foden i sur., 2008; Hallett i sur., 2016; Patrício i sur., 2016). U Europskoj uniji, većina monitoringa slatke vode provodi se pod zahtjevima Okvirne direktive o vodama EU (ODV) (WFD, 2000/60/EC), koja ima za cilj poboljšati status europskih resursa i ekosustava voda. ODV zahtijeva od država članica da u redovitim razmacima ocjenjuju ekološko stanje svih tijela površinskih voda (De Jonge i sur., 2006). Broj nadziranih riječnih, jezerskih, prijelaznih i priobalnih voda u Europi premašuje 100 000, a za većinu njih istražuje se nekoliko skupina organizama tzv. "Bioloških elemenata kvalitete", BQE). To su fitoplankton, fitobentos, makrofiti te bentički beskralješnjaci i ribe (EEA, 2012) (Slika 1).



Slika 1. Značaj različitih organizama u procjenama stanja okoliša (preuzeto iz: Lesse i sur., 2018).

Uz ODV postoji i Okvirna direktiva o morskoj strategiji (MSFD, 2008/56/EC), čija provedba trenutno nije toliko napredna, ali također zahtijeva korištenje nekoliko pokazatelja uključujući raznolikost vrsta, integritet morskog dna, strukturu hranidbene mreže i neautohtone i komercijalne vrste (Danovaro i sur., 2016).

Sve metode praćenja i ocjenjivanja koje se primjenjuju u skladu s ODV-om su u skladu s istim konceptualnim okvirom, a samo se detalji unutar njega razlikuju među zemljama i regijama (Birk i sur., 2012). Ukratko, organizmi se uzorkuju, laboratorijski obrađuju i identificiraju morfo-taksonomskim pristupima, prema nacionalnim ili europskim standardnim metodama kako bi se izradili popisi prisutnih svojti. Dobiveni podaci koriste se za izračunavanje mjernih podataka o procjeni, koji se uspoređuju s vrijednostima za svaku metriku očekivanu u "referentnim uvjetima" (tj. u više ili manje nepromijenjenom stanju izvedenom iz povijesnih pokazatelja ili najboljih dostupnih lokacija) specifičnih za svaku vrstu vodnog tijela. Udaljenost između izračunate vrijednosti i vrijednosti u referentnim uvjetima naziva se omjer ekološke kakvoće (EQR), koji se konačno prevodi u ekološko stanje (vrlo dobro, dobro, umjereno, loše i vrlo loše) na kojem se temelje odluke uprave. Cilj ODV-a je postići barem „dobar status“ za sva vodna tijela u Europi do 2027. godine: trenutno više od polovice svih vodnih tijela ne ispunjava ovaj cilj, dok preko 50 posto jezera ispunjava ovaj cilj (EEA, 2018).

Većina metoda procjene ekološkog stanja za europske slatke vode razvijeno je 2000. godine, nakon što su države članice EU usvojile ODV. U mnogim slučajevima, ove metode su se temeljile na pristupima razvijenim prije usvajanja ODV-a s prilagodbama za prevođenje rezultata ocjenjivanja u razrede ekološkog stanja. Dok su terenske i laboratorijske metode uglavnom ostale nepromijenjene, neke države članice razvile su nove metode procjene. Bez obzira na usvojenu strategiju, svaka pojedina biološka metoda bila je „interkalibrirana“ odgovarajućim metodama drugih država članica u istoj širokoj eko-regiji nazvanoj „Geografskom interkalibracijskom skupinom“ (Birk i sur., 2013). Iako formalna definicija ekološkog statusa obuhvaća i strukturu i funkciju (članak 2., definicija 21, ODV), sustavi procjene ekološkog stanja temelje se prvenstveno na strukturi zajednice. Neke procjene koriste obilježja vrsta, kao što je veličina i struktura ribljih plova ili sastav tipova hranjenja bentičkih beskralježnjaka (Mondy i sur., 2012; Pont i sur., 2006), ali većina metoda zanemaruje ovaj aspekt. Unatoč nedostacima mnogih metoda, proces razvoja istih, prilagodbe i interkalibracije pridonijele su boljem razumijevanju referentnih uvjeta, odgovora biote na stresore i nesigurnosti povezane s različitim koracima u procjeni ekološkog stanja (Poikane i sur., 2014).

Neki aspekti unutar postupka praćenja su dugotrajni i skupi, zahtijevajući timove kvalificiranih pojedinaca, npr. identifikacija i brojanje fitoplanktona, fitobentosa i bentičkih beskralježnjaka (Ferraro i sur., 1989; Haase i sur., 2004; Nygård i sur., 2016). Dostupne financije za navedene aktivnosti su pod sve većim pritiskom te se javlja potreba za pojednostavljenjem metoda, smanjenjem troškova i ubrzanjem procesa praćenja (Borja i Elliott, 2013), uz održavanje kvalitete, robusnosti i usporedivosti. Nedavni tehnološki napredak mogao bi na neki način ublažiti ta sve češća financijska ograničenja.

1.1. Pigmenti

U ODV-u, fitoplankton predstavlja jedan od pet bioloških elementa koji se upotrebljavaju u procjeni ekološkog stanja jezera, vrlo velikih rijeka, prijelaznih i priobalnih voda (ODV, 2000). Nova saznanja o ekološkim konceptima unutar odnosa bioraznolikosti i funkcija ekosustava dovela su do potrebe i za istraživanjem raznolikosti fitoplanktona (Hulost i dr., 2000, Weithoff i dr., 2003, Litchman i dr., 2007). Neka starija istraživanja čak su tvrdila da je sastav pigmenata bolji pokazatelj promjena u ekosustavu od popisa vrsta (Striebel i dr., 2009; Behl i dr., 2011, Stockenreiter i dr., 2013). Sastav i biomasa fitoplanktona tradicionalno se određivala i još uvijek se određuje invertnim mikroskopom. Taksonomska identifikacija vrsta fitoplanktona može biti izazovna zbog njegove veličine te morfologije. Također, sam rad na mikroskopu vremenski je vrlo zahtjevan, a rezultati često mogu biti subjektivni, tj. mogu ovisiti o analitičaru.

Shvaćanje promjena u zajednici fitoplanktona je temelj za opisivanje dinamike ekosustava, ali i za detaljnije opisivanje biogeokemijskih ciklusa (Jeffrey i sur., 1997, Li i sur., 2002, Reynolds, 2006). Iako promjene u veličini stanice i oblika mogu biti senzor u promjenama okoliša (svjetlost, hranjiva, hranidbeni lanac), u većini slučajeva to je i promjena u sastavu fitoplanktonske zajednice (npr. Berquist i Carpenter, 1986, Carpenter i Kitchell, 1993). Nažalost, monitoring sastava vrsta fitoplanktonske zajednice je vrlo složen. Iako postoje sve brojnije modifikacije tehnika brojanja stanica, osjetljivost je uvijek povezana s vještinama djelatnika (Sandgren i Robinson, 1984). Jedan od osnovnih pokazatelja promjena zajednice je i mjerenje koncentracije klorofila a pomoću kojeg se određuje biomasa, ali tako je nemoguće dobiti detaljniju sliku zajednice (Kruskopf i Flynn, 2005). Obično se zato mjerenje koncentracije klorofila a povezuje s identifikacijom i prebrojavanjem fitoplanktona u tim istim uzorcima (Havskum i sur., 2004, Li i sur., 2002). Jedna od alternativa je određivanje specifičnih pigmenata za određene grupe fitoplanktona upotrebom

HPLC-a (High-performance liquid chromatography - visoko protočna tekućinska kromatografija) (Jeffrey i sur., 1997) i kvantitativno povezivanje s rodovima putem regresijskih (Descy i sur., 2000) ili optimizacijskih tehnika kao npr. CHEMTAX (Mackey i sur., 1996). Analiza putem HPLC-a, za razliku od brojanja stanica, je relativno brza, a može potencijalno identificirati i grupe koje se teško utvrđuju (Jeffrey i sur., 1999). Metoda određivanja pigmenata na HPLC-u je do sada puno više bila upotrebljavana u morskim ekosustavima (Roy i sur., 2011), a vrlo malo se upotrebljavala u istraživanju slatkovodnih sustava (Descy i sur., 2009, Lauridsen i sur., 2011, Millie i sur., 2003).

Karakteristična distribucija fitoplanktona razlikuje se u morskim i slatkovodnim ekosustavima. Slatkovodni ekosustavi su obično obilježeni većim brojem vrsta te značajno većom brojnošću cijanobakterija i zelenih algi. No, analiza pigmenata je ipak složena, zbog povezanosti pigmenata za određene vrste/grupe fitoplanktona, ali također zbog ovisnosti o različitim okolišnim čimbenicima (Descy i sur., 2009). Dva su izričito bitna trenutka prije korištenja HPLC-a: 1) odgovarajući dijagnostički pigment koji se mora identificirati za ekosustav koji se istražuje (Lauridsen i sur., 2011, Schlüter i sur., 2006) i 2) uzorke od interesa je potrebno obrađivati s uzrocima iz sličnih ekoloških uvjeta. Ovo posljednje je vrlo bitno jer CHEMTAX predstavlja optimizacijsku metodu koja se zasniva na dodavanju podataka u matricu različitih odnosa pigmenta i klorofila a. Vrlo je važno za napomenuti da CHEMTAX postupak mijenja te odnose putem serije interakcija. To znači da se odnosi pigmenta normaliziraju sa svakim pokretanjem programa prilikom analize uzoraka. Odnosno, analizirajući iste uzorke u različitim grupama uzoraka, dolazi do različitih rezultata.

Ranija istraživanja, upotrebom tankoslojne kromatografije (TLC), nedvosmisleno su pokazala povezanost određenih razreda mikroalgi u fitoplanktonu i pigmenta (npr. Jeffrey, 1974). Navedeni pristup zasnivao se na prije utvrđenim značajkama pigmenta u taksonomiji algi. Makro - kromatografske metode korištene za odvajanje pigmenata u ekstraktima algi (Strain i sur., 1944; Smith i Benitez, 1955; Strain, 1958) pokazale su vrijednosti pigmenata u identifikaciji crvenih, zelenih i smeđih algi (Jeffrey, 1997). Također, određeni broj razreda algi je stvoren na osnovi filogenije pigmenata makrofita. Kao primjer, poznati je kolokvijalni naziv "kromofita" (Chadefaud, 1950; Bourrelly, 1957) koji je prvotno uveden za opis algi koje nisu bile zelene, ali kasnije je promijenjen i sada se samo odnosi na zlatno smeđe alge koje sadrže klorofil a i c (Christensen, 1989). U posljednjih desetak godina, upotreba metoda koje se zasnivaju na pigmentima kao markerima u identifikaciji fitoplanktonskih grupa značajno se proširila, naročito zbog poboljšanja analitičkih metoda koji se zasnivaju na HPLC-u, a koje nam pokazuju podatke za lipofilne (klorofil i karotenoid) pigmente i pigmente topive u vodi (fikobiloproteini) (Wright i sur., 1991, Jeffrey 1997, Descy i sur., 2000, Teubner i sur., 2003). Navedeni pristup putem HPLC-a predstavlja brzu i

relativno povoljnu kemotaksonomsku metodu za određivanje sastava i biomase fitoplanktona. Zbog tih pozitivnih karakteristika čak je i analiza pigmenata predložena kao idealna zamjena u Okvirnoj direktivi o vodama (OVD) za definiranje ekološkog stanja jezera (Saramneto i Descy, 2008; Laurdisen, Schlutter i Johanson, 2011). Prednost identifikacije putem pigmenata leži u slučaju pojedinih skupina algi koje su u maloj brojnosti te se čak ne mogu determinirati mikroskopski (Gieskes i Kraay, 1983; Schluter i Mohlenberg, 2003). Nakon identifikacije i kvantifikacije pojedinih koncentracija pigmenata i klorofila a, biomasa i sastav fitoplanktona može se odrediti pomoću različitih programa od koji se CHEMOTAX pokazao kao najpouzdaniji. Zelene alge i cijanobakterije se vrlo jednostavno identificiraju na osnovi njihovih specifičnih pigmenata: klorofila b i ehinenona. Kriptofite i dinoflagelate određuje se putem koncentracije aloksantina i peridinina.

Zlatnožute alge igraju vrlo važnu ulogu u oligotrofnim jezerima gdje su obično jedna od najbrojnijih skupina te ponekad mogu prevladavati u zajednici fitoplanktona. Slatkovodne zlatnožute alge imaju profil pigmenata koji je vrlo sličan algama kremenjašicama: obje skupine imaju fukoksantinkao glavni karotenoid, što dovodi do vrlo slabe korelacije s rezultatima mikroskopije. Alge kremenjašice vrlo često prevladavaju u oligotrofnim i eutrofnim jezerima te ih je vrlo bitno razlikovati od zlatnožutih algi za što pouzdaniju kemotaksonomiju. Navedeni problem (razlikovanje algi kremenjašica i zlatnožutih algi) predstavlja najvažniju manu korištenja tekućinske kromatografije kao zamjene u procjeni populacija fitoplanktona u jezerskim sustavima. Kromatografske analize pigmenata algi zasigurno predstavljaju moćan alat u karakterizaciji zajednice fitoplanktona u ekosustavu. Klorofili, karotenoidi i fikobiliproteini imaju brojne pozitivne karakteristike kao kemotaksonomski markeri. Oni su prisutni u svim fotosintetskim algama, ali ne i u većini bakterija ili protista, što omogućuje da se fitoplankton može razlikovati od ostalih organizama mikrobne zajednice. Mnogi pigmenti su karakteristični za određene razrede ili čak rodove, što omogućuje vrlo detaljnu klasifikaciju. Oni su snažno obojeni, a u slučaju klorofila i fikobiliproteina, fluorescencija na vidljivim valnim duljinama daje mogućnost detekcije. Naposljetku, oni su vrlo osjetljivi i vrlo brzo se razgrađuju nakon smrti stanice ili prijelaza stanice u dormantni stadij. Kod pigmenata se može identificirati i poneki nedostatak markera. Budući da su vrlo osjetljivi, izrazito je bitno kako postupamo s uzorcima jer lako reagiraju sa svjetlosti, toplinom, kisikom, kiselinama, lužinama, ali i spontano stvaraju izomere u otopinama. Njihova rasprostranjenost je vrlo složena i tek poneki marker ima pravu vrijednost jedinstvenog markera. Također, njihova ekspresija je varijabilna, ovisno o okolišnim čimbenicima i sadržaju/količini u svakoj pojedinoj stanici. Mnogi pigmenti su zajednički za mnoge razrede algi, a interpretacija

podataka pigmentata je vrlo složena. Stoga je vrlo značajno mikroskopski i genetički utvrditi svu bioraznolikost fitoplanktona prije nego se može utvrditi pravilni kemotaksonomski sastav.

Analiza pigmentata i dalje predstavlja jednu od boljih metoda za brzo mapiranje populacije fitoplanktona te praćenje njihove brojnosti i sastava, posebice u morskom okolišu (Tablica 1).

Tablica 4. Karakteristični pigmenti u morskim ekosustavima.

| Pigment | Značaj |
|--|---|
| Klorofil a | Indikator za ukupnu biomasu algi, osim proklorofite |
| Divinil klorofil a | Indikator za biomasu proklorofita |
| Divinil klorofil b | Marker za proklorofite |
| Esteri sifonaksantina | Markeri za prazinofite tipa 2 |
| Prazinoksantin | Marker za prazinofite tipa 3 |
| Peridinin | Marker za dinoflagelate tipa 1 |
| Aloksantin | Marker za kriptofite |
| Diester giroksantina | Marker za dinoflagelate tipa 2 |
| Chl c ₂ MGDG (14:0/14:0) | Chrysochromulina spp. (haptofiti tipa 7) |
| | Razlikuje "zelene alge" (klorofite, prazinofite, euglenofite i zelene dinoflagellate) od ostalih tipova algi. Relativni odnos navedenih grupa se može ekstrapolirati pomoću odnosa s karotenoidima. Prazinofiti tipa 2 i 3 se mogu razlikovati na odnosu prisustva estera sifonaksantina ili prazinoksantina. Klorifiti i prazinofiti tipa i se mogu identificirati u relativnom odnosu luteina i klorofila b (Lut : Chl b = 0.30–1.77, 0–0.18). Euglenofite je vrlo teško razlikovati jer njihovi glavni karotenoid, diadinoksantin, je glavni sastojak kromofita. Zelene dinoflagelate nemaju za sada pigmenta koji ih karakterizira i moraju se determinirati prije fiksacije. |
| Klorofil c | Indeks za razlikovanje kromofita od ostalih algi |
| Klorofil c ₁ | Široko rasprostranjen. Koristan marker za populacije algi kremenjašica kojima dominira haplotip 6 i 8. |
| Klorofil c ₂ | Glavni klorofil c u kromofitnim algama |
| Klorofil c ₃ | Značajni sastojak haptofita tipa 4-8 uključujući i kokolitoforite (tip 6), Chrysochromulina sp. (tip 7), i Phaeocystis sp. (tip 8). Chl c ₃ je prisutan i kod krizofita tipa 3 (pelagofiti), bolidofiti, i kod nekih algi kremenjašica, većinom kod štetnog roda <i>Pseudonitzschia</i> . |
| Chl c ₂ MGDG | Haptofiti tipa 3–8 sadrže Chl c ₂ MGDG [18 : 4/14 : 0] |

| Pigment | Značaj |
|-------------------------------|--|
| MgDVP | Marker za prazinofite tipa 2 i 3, ali se pojavljuje kod većine ostalih algi u manji koncentracijama |
| Chl c2 P. gyrans type | (manje značajan pigment) krizofite tipa 1 i haptofite tipa 2 |
| Np-Chl c1 like | (manje značajan pigment) haptofiti tipa 4 |
| MV-Chl c3 | (manje značajan pigment) haptofiti tipa 6 (kokolitofordi) |
| Fuksosantin i derivati | |
| Fukoksantin | Mislio se da je samo marker za dijatomeje, međutim prisutan je i kod haptofita, krizofita, rafidofita, bolidofita i nekih dinoflagelata. |
| Heks-fuko | Marker za haptofita tipa 6-8 i dinoflagelata tipa 2 |
| But -fuko | Haptofite tipa 8 (vrlo male koncentracije u haptofita tipa 6 i 7). Pelagofita sadrže but – fuko ali ne i heks – fuko |
| Ostali pigmenti | |
| Zeaksantin | Koristan marker za cijanobakterije gdje one predstavljaju glavni dio populacije; prisutan u nižim koncentracijama u proklorofitima, klorofitima, prazinofitima, rafidofitima, euglenofitima, krizofitima i eustigmatofitima. |
| Esteri vaukeriaksantina | Markeri za eustigmatofite i krizofite tipa 1 |
| Loroksantin | Povremeni sastojak klorofita; koristan marker za klorofite u antartičkim vodama |
| Bakterioklorofil a | Marker za fotosintetske proteobakterije |
| Diadionksantin i Diatoksantin | Glavni pigment kromofita iz oceana |

Fitoplankton sadrži tri tipa pigmenta koji su uključeni u korištenju svjetla kao energije te u zaštiti od istog: klorofile, karotenoide i biliproteine (Tablica 2). Svaki fitoplankton sadrži jedan ili više tipova klorofila u kloroplastima koji su zaduženi za vezivanje energije iz sunca. Struktura molekule klorofila je porfirinski sustav građen od četiri pirolna prstena. U središtu molekule nalazi se atom magnezija. Karotenoidi su različiti iz porodica žutih, narančastih ili crvenih izoprenoida, polien pigmenta – karoteni (ugljikovodici) i ksantofili (oksidirani derivati karotenoida). Mnogi su također zaduženi za vezivanje sunčeve energije i to u spektru od 420-550 nm tako popunjavajući prostor apsorpcije između klorofila *a* i *b*. Neki karotenoidi su zaduženi i za zaštitu od svjetla (dijadionksantin, dijatoksantin, violaksantin, anteraksantin i zeaksantin). Do danas je opisano preko 600 karotenoida.

Fikobiliproteini predstavljaju treći tip pigmenata koji su zastupljeni u cijanobakterijama, crvenim algama i kriptofitama. Slične su strukture kao klorofili, samo se u središtu ne nalazi metal, nego apoprotein. Fikobiliproteini se ne upotrebljavaju u kemotaksonomiji.

Tablica 5. Detaljna klasifikacija pigmenata te njihov značaj za zajednicu fitoplanktona.

| Cijanofita (npr. <i>Synechococcus</i> sp.) | Chl a, zeaksantin |
|--|--|
| Proklorofiti (npr. <i>Prochlorococcus marinus</i>) | DV Chl a*, DV Chl b*, β,ε-karoten, DV Chl a*, DV Chl b*, β,ε-karoten, |
| Klorofita (npr. <i>Chlorella</i> sp.) Prazinofita tipa 1 violaxantin, zeaxantin (npr. <i>Tetraselmis</i> sp.) | Chl a, Chl b, lutein, neoxantin, violaxantin, zeaxantin |
| Prazinofita tipa 2 (npr. <i>Pyramimonas amyliifera</i>) | Chl a, Chl b, MgDVP, sifonaxantin, ester*, neoxantin, violaxantin |
| Prazinofita tipa 3 (npr. <i>Micromonas pusilla</i>) Dinofita type 5 (npr. <i>Gymnodinium chlorophorum</i>) | Chl a, Chl b, MgDVP, prasinoxantin, uriolide, micromonal |
| Kriptofita (npr. <i>Rhodomonas</i>) Dinofita tipa 4 (npr. <i>Dinophysis norvegica</i>) | Chl a, Chl c2, aloxantin, crocoxantin, monadoxantin |
| Bacilarofita tip 1 (npr. <i>Phaeodactylum tricornutum</i>) Haptofita tipa 1 (npr. <i>Pavlova lutheri</i>) Dinofita tipa 3 (npr. <i>Kryptoperidinium foliaceum</i>) | Chl a, Chl c1, Chl c2, Fucoxantin, diadinoxantin |
| Haptofita tipa 6 (npr. <i>Emiliana huxleyi</i>) | Chl a, Chl c2, Chl c3, MV-Chl c3 (tr)*, Hex-fuco, fucoxantin, diadinoxantin, 4-keto-Hex-fuco |
| Haptofita tipa 7 (npr. <i>Chrysochromulina polylepis</i>) | Chl a, Chl c2, Chl c3, Chl c2-MGDG[14 : 0/14 : 0]*, Hex-fuco, fucoxantin, diadinoxantin, 4-keto-Hex-fuco |
| Haptofita tipa 8 (npr. <i>Phaeocystis antarctica</i>) | Chl a, Chl c2, Chl c3, Chl c2-MGDG[18 : 4/14 : 0], Hex-fuco, But-fuco, fucoxantin, diadinoxantin |
| Krizofita tipa (Pelagophytes) (npr. <i>Pelagococcus subviridis</i>) | Chl a, Chl c2, Chl c3, But-fuco, fucoxantin, diadinoxantin |
| Dinofita tipa 1 (npr. <i>Amphidinium carterae</i>) | Chl a, Chl c2, peridinin, diadinoxantin |

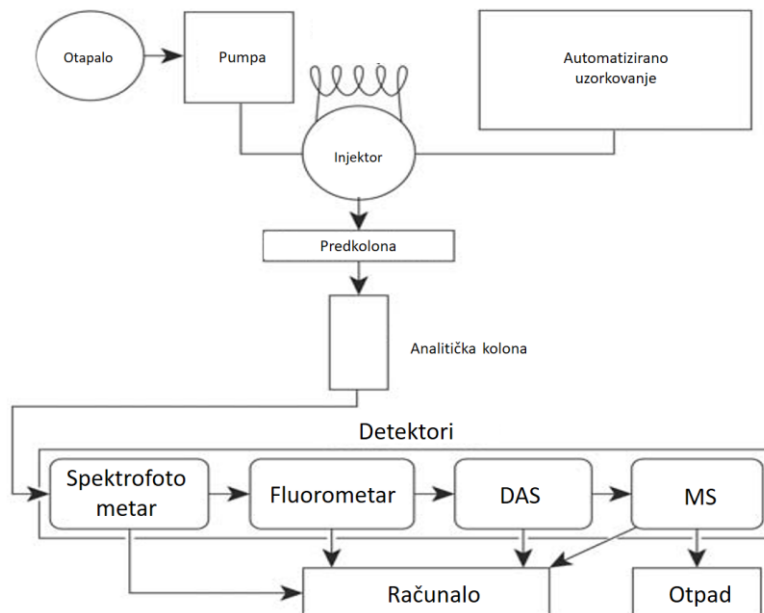
| Cijanofita (npr. <i>Synechococcus</i> sp.) | Chl a, zeaksantin |
|---|--|
| Dinofita tipa 2 (npr. <i>Gymnodinium galatheanum</i>) | Chl a, Chl c2, Chl c3, Hex-fuco, gyroxantin diester, fucoxantin, Diadinoxantin |

Fitoplankton upotrebljava klorofil *a* kao glavni akceptor svjetla za fotosintezu. Ostali pigmenti (npr. klorofil *b* i *c*, karotenoidi i fikobiloproteini) igraju također značajnu ulogu u fotosintezi, proširujući optički spektar za organizme, ili u fotozaštiti tako što sprječavaju oštećenja stanice pri velikoj radijaciji.

Važni produkti razgradnje klorofila pronađeni su u vodenim ekosustavima, uključujući klorofilide, feoforbie, feofitine i sterilklorin estere. Jedinstvena optička svojstva klorofila *a* upotrebljavana su za razvoj spektrofotometrijskih (Jeffrey i Humphrey 1975) i fluorometrijskih (Holm-Hansen i sur., 1965) metoda mjerenja. S pojavom komercijalnih fluorometara za rutinsko mjerenje koncentracije klorofila *a*, taj je pigment postao univerzalni parametar za procjenu biomase i produkcije fitoplanktona. Navedena optička metoda može podcijeniti ili precijeniti koncentraciju klorofila *a* u uzorcima jer postoji preklapanje apsorpcije i fluorescencije s drugim pigmentima kao što su klorofil *b* i *c*, produktima razgradnje klorofila te ostalim pigmentima (Trees i sur., 1985, Smith i sur., 1987, Hoepffner i Sathyendranath 1992, Bianchi i sur., 1995, Tester i sur., 1995). Bez obzira na navedeno, spektrofotometrijske i fluorimetrijske metode svakodnevno se upotrebljavaju u brojnim aplikacijama jer su jeftine, jednostavne i brze.

Visokoprotočna tekućinska kromatografija (HPLC) je omogućila simultano određivanje koncentracije različitog spektra karotenoida i klorofila te njihovih produkata razgradnje. Shematski prikaz rada prikazan je na Slici 2. HPLC je omogućio istraživačima novi moćan alat u istraživanju procesa koji se događaju s pigmentima fitoplanktona. Analiza pigmenta putem HPLC metode omogućuje determinaciju brzine rasta fitoplanktona, determinaciju hranjenja zooplanktona te određivanje fizioloških procesa fitoplanktona. Odsustvo i prisustvo pigmenta pomaže u diferencijaciji glavnih grupa algi u prirodnim vodama. Pigmenti koji su jedinstveni za određeni razred algi ili prisutni u dva ili tri razreda (Jeffrey i Vesk 1997), mogu se upotrebljavati za kvantitativnu procjenu sastava zajednice fitoplanktona. Brojne varijacije HPLC tehnike su do sada objavljenje i vrlo je teško odabrati najpouzdaniju metodu/varijaciju HPLC-a. Niti jedna HPLC metoda nije za sve moguće primjene jer svaka ima svoje prednosti i mane. Od 1983. godine do sada je opisano preko 20-tak metoda (Jeffrey i sur., 1999, Zapata i sur., 2000, Van Heukelem i Thomas 2001). Prije nego se odluči za određenu metodu nužno je identificirati željene pigmente i

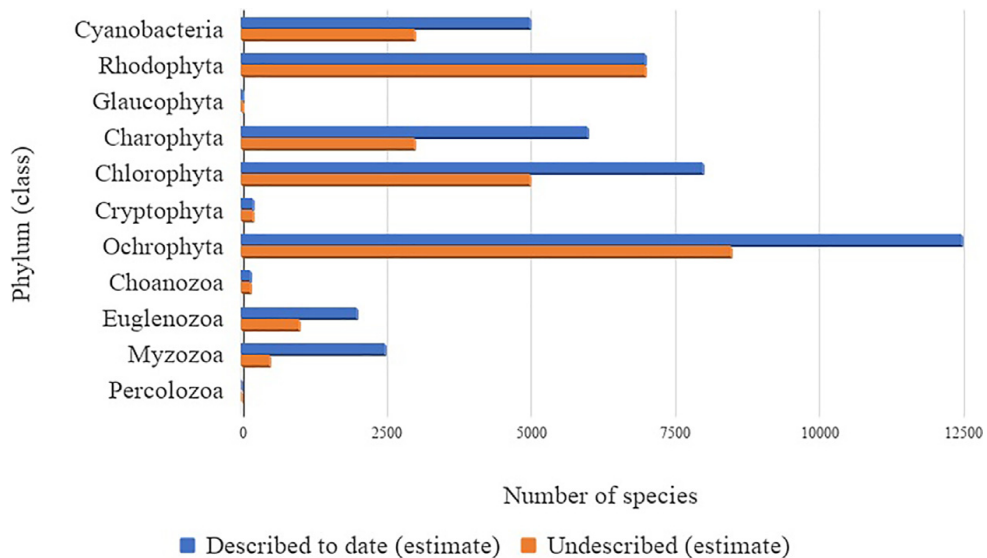
odrediti metodu kojom ih je najbolje moguće razdvojiti. Vrlo je bitno posvetiti pažnju osjetljivosti metode, uzorkovanju, ekstrakciji i analizi putem HPLC-a.



Slika 2. Shematski prikaz temeljnog mehanizma rada tekućinskog kromatografa, (preuzeto iz: *Airs i sur., 2001*).

1.2. Okolišna DNK

Novе metode, kao što su strojno učenje (Kiranyaz i sur., 2011; Ārje i sur., 2017) i genetske metode, kao što je metabarkodiranje DNA dobivene iz organizama ili jednostavno uzorkovanjem DNK okoliša (oDNK) iz vode (npr. Taberlet i sur., 2012a; Ji i sur., 2013), pružaju alternativne alate za otkrivanje i identifikaciju više vrsta (Slika 3).

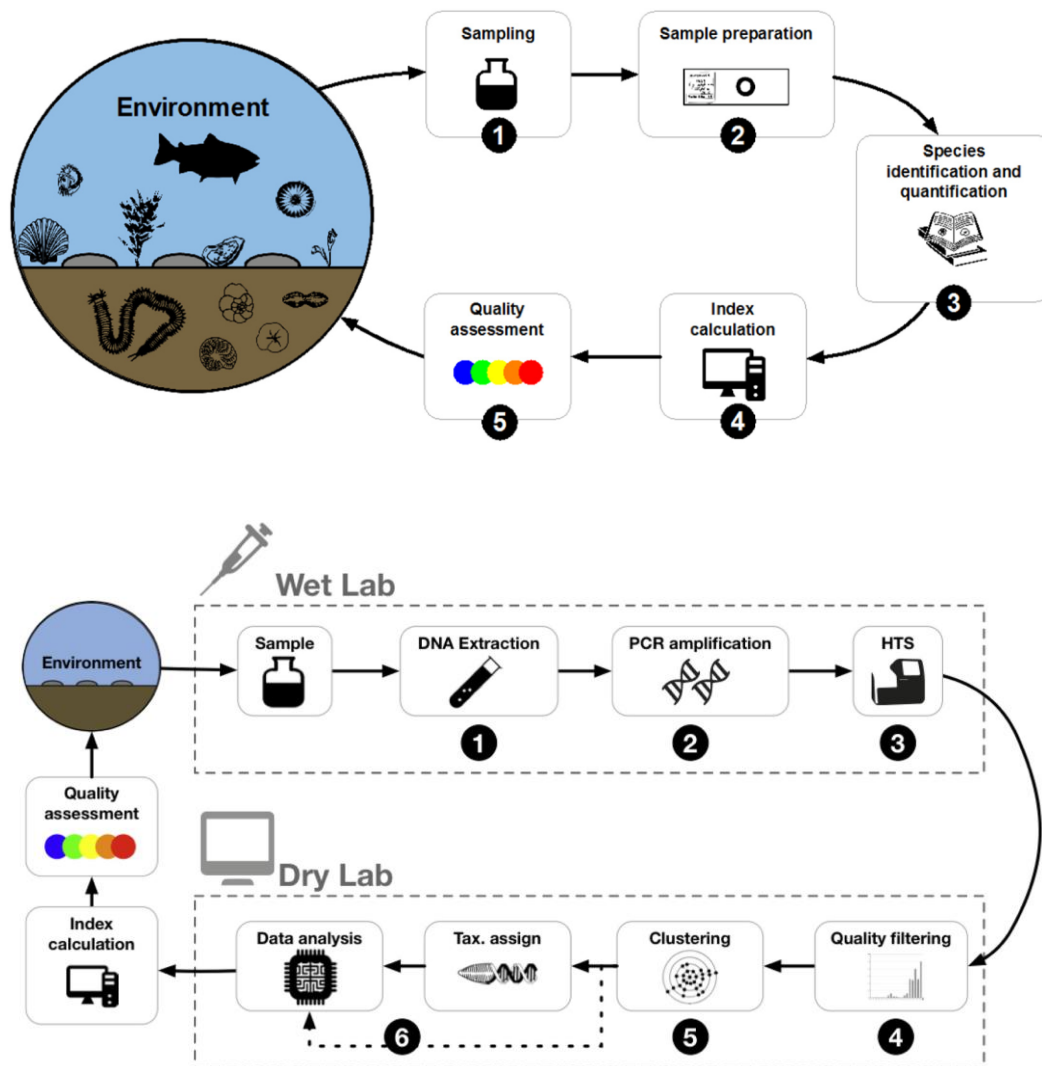


Slika 3. Prikaz procjene trenutne brojnosti vrsta algi (plavo) i onih neopisanih (crveno),

(preuzeto iz: Guiry, 2012).

U razdoblju od idućih 5 godina, ove metode imaju potencijal za temeljnu promjenu procjene ekološkog stanja. Iako su još uvijek u fazi razvoja, genetske metode već su dovoljno dobro napredovale za procjenu biološke raznolikosti (npr. Elbrecht i sur., 2017). Dakle, sada je moguće nadopuniti ili čak zamijeniti tradicionalne metode obrade uzoraka i identifikacije metodama temeljenim na DNA koje su jednake ili niže cijene te koje su u stanju otkriti pojave vrsta sa sličnom ili višom razinom preciznosti (Stein i sur., 2014; Smart i sur., 2016; Aylagas, 2017; Elbrecht i sur., 2017; Vasselon i sur., 2017). Metode temeljene na DNK imaju neke očite prednosti u usporedbi s tradicionalnim identifikacijskim shemama temeljenim na uzorkovanju i opisu.

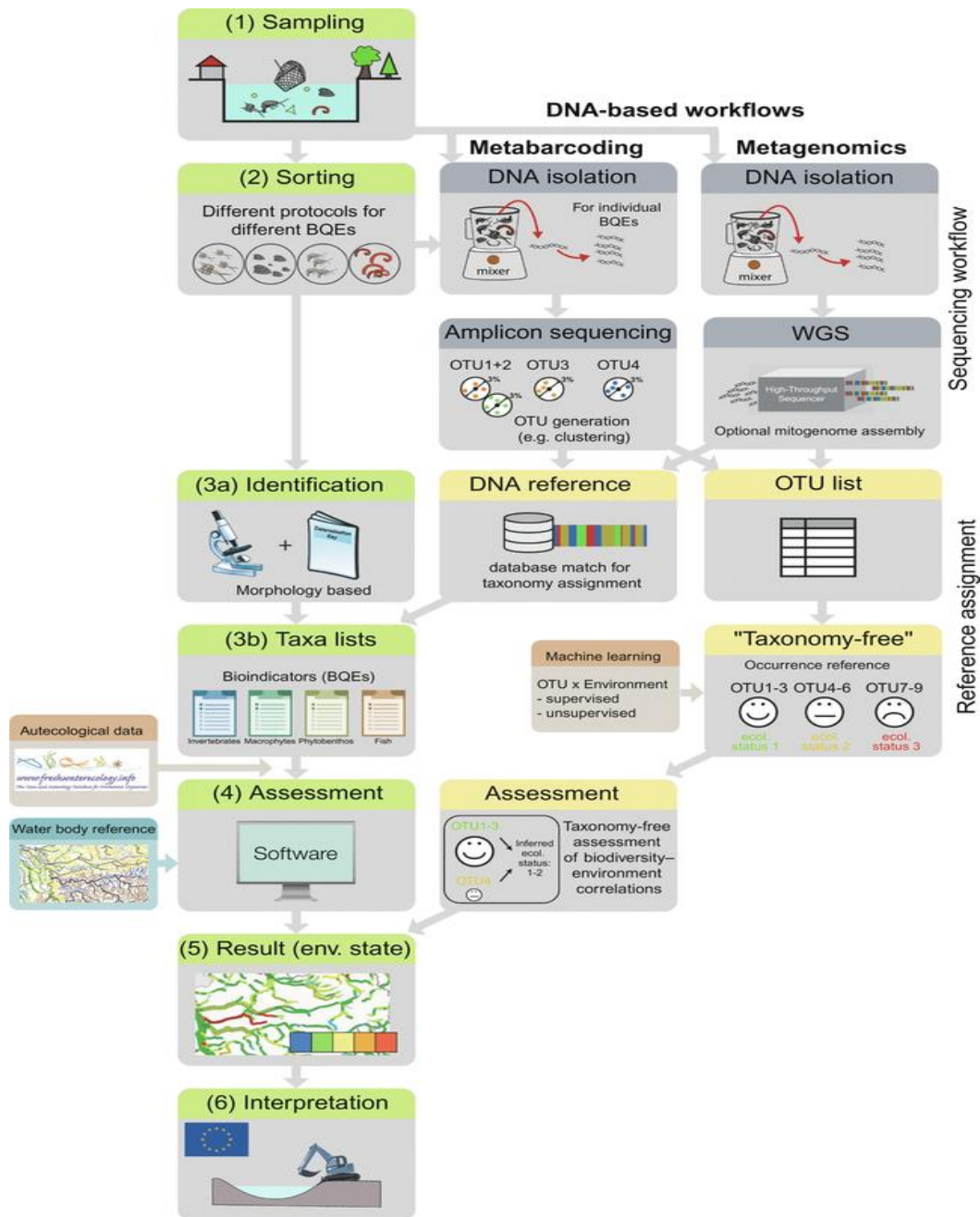
Identifikacija na razini vrsta preciznija je i objektivnija s metodama temeljenim na DNK, posebno za kriptične svojte, mikroorganizme i zahtjevne životne faze kod organizama (primjerice ranije faze razvoja). Nadalje, obrada uzoraka može biti brža i jeftinija od ručnih postupaka (Hajibabaei i sur., 2011, Kermarrec i sur., 2014; Dafforn i sur., 2014; Stein i sur., 2014; Avó i sur., 2017) (Slika 4).



Slika 7. Prikaz tradicionalnog te molekularnog pristupa u određivanju procjene stanja okoliša (preuzeto iz Pawlowski i sur., 2014).

Dodatna prednost molekularnih tehnika je mogućnost procjene funkcionalne raznolikosti na temelju ekspresije gena, ispunjavajući cilj ODV-a (Bourlat i sur., 2013). Osim toga u usporedbi s mikroskopijom, DNK sekvenciranje ima prednost u uzorkovanju i pripremi uzoraka koje može biti automatizirano. Samim time smanjeni su troškovi te je povećana brzina analize. To omogućuje povećanje frekvencije uzorkovanja kroz vrijeme i prostor te time olakšavajući usporedbe velikog broja rezultata iz različitih vodenih ekosustava. Upotrebom istog protokola moguća je standardizacija u svima laboratorijima. Također, valja naglasiti da je primjenom DNK metoda moguće identificirati nano i piko frakciju koju je jako teško identificirati mikroskopski. Osim toga, jednom sekvencirani podaci mogu se čuvati vječno te u budućnosti uspoređivati s novim bazama podataka. S druge strane, molekularne tehnike se još uvijek razvijaju i zahtijevaju standardizaciju i usklađivanje (Cristescu, 2014.) prije nego što se mogu koristiti u nacionalnim programima praćenja kakvoće vode. Primjenom DNK metoda postoji i ograničena sposobnost za određivanje brojnosti vrsta, što je preduvjet za ocjenu ekološkog stanja na temelju bioloških elemenata kakvoće (BEK). Referentni barkodovi još nisu dostupni za značajan, udio vrsta, iako se taj broj iz dana u dan smanjuje.

Današnja istraživanja oDNK se mogu kategorizirati u dvije grupe: ciljana istraživanja (koja se tiču pojedinih vrsta) i istraživanja zajednica. Ciljana istraživanja imaju za cilj identifikaciju i praćenje pojedine vrste u okolišu ili praćenje jednog okoliša s više markera. Najčešće se koriste metode koje se zasnivaju na PCR-u ili sve više i na PCR-u u realnom vremenu te digitalnom PCR-u (Slika 5). Navedeni pristup, ako je vrlo dobro dizajniran i validiran, može dovesti do vrlo dobrih rezultata (Goldenberg i sur., 2016) te se vrlo često može korelirati s biomasom i brojnošću istraživanog organizma (Doi i sur., 2015).



Slika 5. Detaljan hodogram aktivnosti kod primjene molekularnog pristupa u procjeni stanja okoliša, (preuzeto iz Leese i sur., 2018).

Istraživanje ciljane oDNA bila je primijenjena u detekciji invazivne žabe (*Lithobates catesbeianus*) u Francuskoj (Ficetola i sur., 2008). Već danas postoji veliki broj literaturnih zapisa koji dokazuju potencijal okolišne DNA i metabarkodiranja u biološkom monitoringu (Bohmann i

sur., 2014; Cristescu, 2014; Valentini i sur., 2016; Keck i sur., 2017; Leese i sur., 2018; Deiner i sur., 2017; Darling i sur., 2017) te upravljanju okolišem (Kelly i sur., 2014; Jackson i sur., 2016; Hering i sur., 2018). U svim navedenim istraživanjima se naglašava kako DNK metabarkodiranje predstavlja brži, jeftiniji te jednostavniji pristup u odnosu na konvencionalni monitoring. Valja naglasiti da ipak u nijednom od navedenih istraživanja nisu predstavljeni novi indeksi koji se zasnivaju na DNK.

Prvi pokušaji upotrebe metabarkodiranja u procjeni stanja okoliša imali su za cilj testiranje podatka dobivenih metabarkodiranjem u procjeni stanja okoliša koji je bio pod različitim antropogenim utjecajima (Chariton i sur., 2010; Bik i sur., 2012; Pawlowski i sur., 2014; Pascault i sur., 2014). Od tada postoji sve veći i veći broj studija kako je i prikazano u tablici 3.

Tablica 6. Popis istraživanja koji su bila usmjerena prema procjeni ekološkog stanja slatkovodnih ekosustava, klasificiran prema indikatorima, genetičkom markeru te postavljenim pitanjima. Korelacije su označene posebno gdje su bile utvrđene.

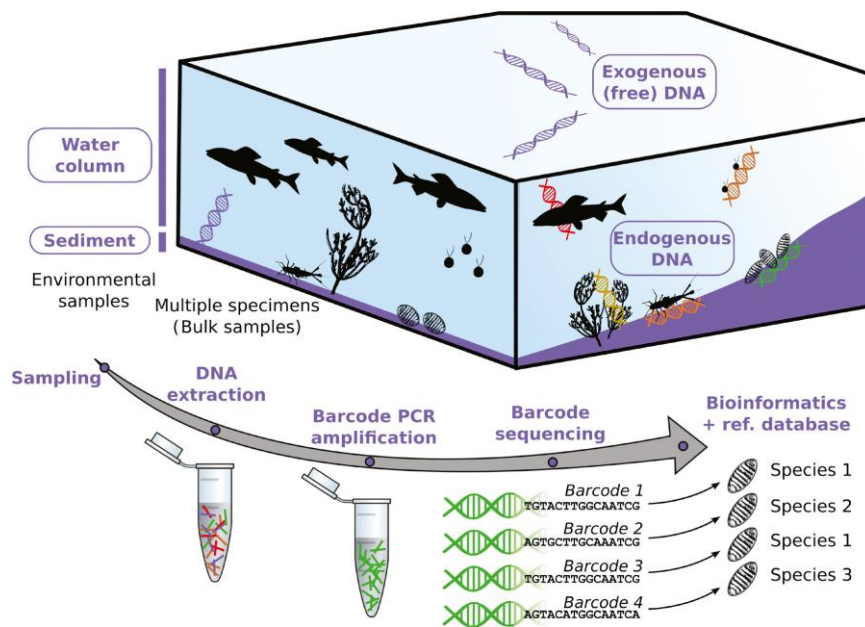
| Grupa | Marker | Postavljeno pitanje | Referenca |
|------------------|----------------|---|--------------------------|
| Bakterije | 16S | Taksonomsko razlučivanje | Salis i sur. (2017) |
| Bakterije | 16S | Procjena | Binh i sur. (2014) |
| Bakterije | 16S | Raznolikost u jezeru, ekotoksikologija | Pascault i sur. (2014) |
| Bakterije | 16S | Jezero | Chen i sur. (2016) |
| Bakterije | 16S | Fekalno zagađenje | Vierheilig i sur. (2015) |
| Bakterije/gljive | 16S/ITS2 | Sloj vode i tla | Veach i sur. (2015) |
| Fitoplankton | 16S cpDNA | Raznolikost u jezerima | Eiler i sur. (2013) |
| Fitobentos | 18S V4 | Metabarkodnig vs morfologija | Groendahl i sur. (2017) |
| Dijatomeje | rbcL | Metabarkodnig vs morfologija, TDI5 indeks (Perason $r = 0,9$) | Kelly i sur. (2018) |
| Dijatomeje | 18S, rbcL, COI | Mješovite populacije, taksonomija | Kermarrec i sur. (2013) |
| Dijatomeje | 18S, rbcL, | SPI indeks, referentna baza, Spearman $P < 0,05$ | Kermarrec i sur. (2014) |
| Dijatomeje | rbcL | SPI indeks, ekstrakcija | Vasselon i sur. (2017) |
| Dijatomeje | rbcL | SPI indeks, dubina sekvenciranja, referentne baze, pearson korelacije $r = 0,77$; p vrijednost $< 0,05$ ($R^2 = 0,59$) | Vasselon i sur. (2017) |
| Dijatomeje | 18S, V4 | Referentna baza podataka | Vasselon i sur. (2018) |
| Dijatomeje | 18S, V4 | Metabarkodnig vs morfologija | Zimmermann i sur. (2014) |
| Dijatomeje | rbcL, 18S | Referentna baza podataka | Zimmermann i sur. (2015) |

| Grupa | Marker | Postavljeno pitanje | Referenca |
|-------------------|---------------|---|---------------------------------------|
| Dijatomeje | 18S, V4 | Di-CH indeks ($R^2 = 0,58$ DNA, $R^2 = 0,85$ RNA) | Rimet i sur. (2016) |
| Dijatomeje | 18S V4 | DI-CH index, $R^2 = 0,67$ | Visco i sur. (2015) |
| Dijatomeje | rbcl | IPS indeks ($R^2 = 0,0042$), EPI-L indeks ($R^2 = 0,0278$), Sgro Index ($R^2 = 0,1342$) | Apothéloz-Perret-Gentil i sur. (2017) |
| Hiromide | COI, CyB | Mješoviti uzorak, dobra rezolucija | Carew i sur. (2013) |
| Makroinvertebrati | COI | Usmjerenost sekvenciranja | Zhou i sur. (2013) |
| Makroinvertebrati | COI | Mješoviti uzorak | Hajibabaei i sur. (2011) |
| Makroinvertebrati | COI | Mješoviti uzorak etanol | Hajibabaei i sur. (2012) |
| Makroinvertebrati | COI | Obogaćivanje gena | Dowle i sur. (2015) |
| Makroinvertebrati | COI | Kontrola primera | Elbrecht i Leese (2015) |
| Makroinvertebrati | COI | Dizajniranje primera | Elbrecht i sur. (2016) |
| Makroinvertebrati | COI, 16S, 18S | Indeksi raznolikosti | Gibson i sur. (2015) |
| Oligohete | COI | IOBS indeks, abundancija | Vivien i sur. (2016) |
| Oligohete | COI | Čuvanje u formalinu | Vivien i sur. (2016) |
| Ribe/vodozemci | 12S | Sekvenciranje vs klasični monitoring | Valentini i sur. (2016) |
| Ribe/vodozemci | 12S/16S | Kvantifikacija | Evans i sur. (2016) |
| Ribe | 16S/CytB | Sekvenciranje vs klasični monitoring | Hänfing i sur. (2016) |
| Ribe | 12S/16S | Dobivanje markera; uzorci iz sedimenta te vode | Shaw i sur. (2016) |

Do sada, najznačajniji pomaci u istraživanjima usporedbe biotičkih indeksa koji proizlaze iz morfoloških i molekularnih podataka, su dobiveni kod dijatomeja (Kermarrec i sur., 2014; Visco i sur., 2015; Apothéloz-Perret-Gentil i sur., 2017; Vasselon i sur., 2017, 2017) te morskih bentičkih beskralješnjaka (Lejzerowicz i sur., 2015; Aylagas i sur., 2014, 2016). Bilo je i pokušaja usporedbe procjene ekološkog stanja koji se zasnivaju na zajednicama slatkovodnih bentičkih beskralješnjaka dobivenih iz morfoloških i molekularnih podataka (Gibson i sur., 2015; Elbrecht i sur., 2017). Zaključci navedenih studija pokazuju dobru korelaciju indeksa dobivenih iz morfoloških i molekularnih metoda (u prosjeku 70-80%).

Okolišna DNK ili oDNK predstavlja genetski materijal koji je prisutan u uzorcima iz okoliša, kao npr. sediment, voda, zrak, uključujući i cijele stanice, izvanstanični DNK i potencijalno cijele organizme. oDNK se može izdvojiti, ekstrahirati, amplificirati, sekvencirati i kategorizirati na osnovi sekvenci. Iz tih informacija moguće je detektirati i klasificirati organizme. oDNK može biti s kože,

mukoznog dijela, pljuvačke, sperme, jaja, izmeta, krvi, korijena, lišća, plodva, polena, trulog tijela, cijelog mikroorganizma itd. Iako je relativno nova metoda, već je dokazano da ima veliki potencijal za biološki monitoring. Konvencionalne metode za određivanje raznolikosti i brojnosti su limitirane na taksonomsku identifikaciju te može biti problema s detekcijom sitnih ili kriptičnih vrsta, čineći procjenu za cijelu zajednicu nemogućom. oDNK može nadopuniti klasične metode usmjeravajući se prema određenim vrstama te povećavajući taksonomsku rezoluciju (Deiner i sur., 2017). Osim toga, oDNK pristupom se mogu detektirati vrlo rijetke i invazivne vrste. Metode oDNK se danas masovno koriste jer se samo iz jednog uzorka mogu dobiti saznanja o čitavim zajednicama. Ovaj proces uključuje metabarkodiranje, koji se može definirati kao uporaba lančane reakcije polimerazom (PCR) na mješovitim uzorcima DNK iz bilo koje sredine nakon koje vršimo visokoprotočno sekvenciranje sljedeće generacije (NGS) da bi se utvrdio sastav vrsta u uzorcima odnosno zajednicama (Slika 6). Ova se metoda do sada vrlo često upotrebljavala u mikrobnjoj ekologiji, ali se i sve više upotrebljava u istraživanju viših taksonomskih jedinica (Coissac i sur., 2012; Creer i sur., 2016; Deiner i sur., 2017). Velika je prednost navedenog pristupa u tome, što se osim opisa zajednice i bioraznolikosti, mogu odrediti interakcije i funkcionalna ekologija mnogih vrsta u izabranim zajednicama (Bohmann i sur., 2014; Ficetola i sur., 2016; Creer i sur., 2016; Hering i sur., 2018).

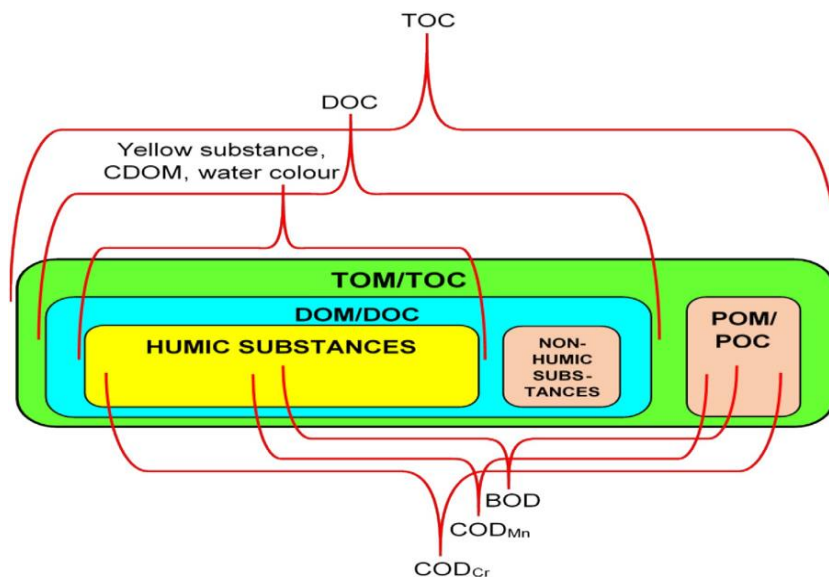


Slika6. Prikaz osnovnih principa unutar metabarkodiranja, (preuzeto iz Leese i sur., 2018).

1.3. Organska tvar

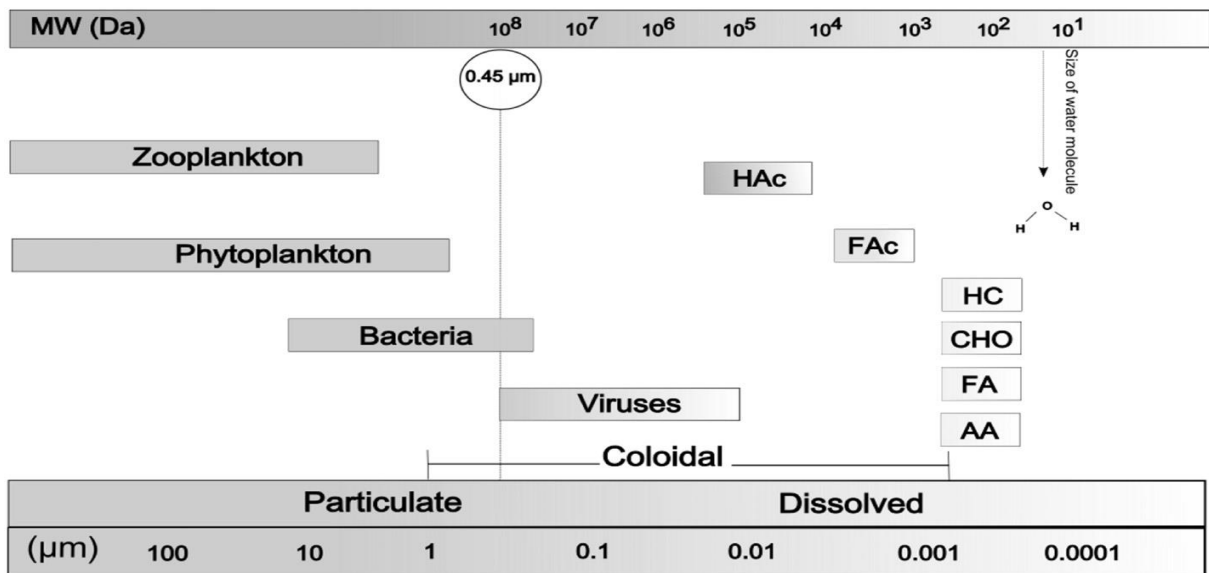
Organsku tvar u vodi pretežno tvore ugljikovi atomi povezani s kisikom, vodikom, dušikom, sumporom i drugim atomima (Stevenson, 1982). Ovi kombinirani elementi mogu također nastati iz višestrukih alohtonih i autohtonih prirodnih ili antropogenih izvora (Rocha i sur., 2009; Mostofa i sur., 2012). Organska tvar (OT) prirodnog podrijetla nastaje prije svega biogeokemijskim procesima, kao što su fotosinteza, izvanstanično izlučivanje iz organizama te razgradnjom organizama i posljedičnim nastankom biomase (Bianchi, 2007). Alohtoni izvori organske tvari u vodi su ispiranje organske tvari iz prirodnih vodenih sustava putem vjetra, rijeka ili otjecanjem podzemnih voda (Jurado i sur., 2008; Libes, 2009). Prostorna raspodjela organske tvari duž riječnog toka od izvora do ušća izaziva niz promjena unutar strukturnih i funkcionalnih karakteristika biološke zajednice. Rezultat toga je kontinuitet biotičkih prilagodbi na teritogene unose, poznat pod nazivom koncept kontinuiteta rijeke (Vannote i sur., 1980). Osim toga, riječni kanali koji su karakterizirani okolnim poplavnim ravnicama, rukavcima, vegetacijom i barama, također mogu značajno doprinijeti alohtonom unosu OT tijekom poplava (Junk i sur., 1989). Autohtona prirodna OT nastaje *in situ* (npr. bakterijama, fitoplanktonom i biljkama) (Otero i sur., 2000; Chester i Jickells, 2012). U oceanu primjerice, većinu OT proizvodi fitoplankton, dok su drugi izvori manje zastupljeni (Mostofa i sur., 2013). Osim toga, antropogene aktivnosti mogu izravno doprinijeti ulazu OT putem kućanskih i industrijskih otpadnih voda, otjecanja iz naselja, poljoprivredne i šumarske djelatnosti te industrije i to one naročito koja je vezana uz proizvodnju organskih spojeva (Mostofa i sur., 2012; Dsikowitzky i sur., 2015; Watanabe i Kuwae, 2015; Arruda-Santos i sur., 2018). Osim izravnog antropogenog utjecaja, ljudske aktivnosti, također, mogu neizravno unositi promjene u prirodne cikluse OT, kao npr. šumskim požarima (Thomas i sur., 2017), gradnjom riječnih brana (Johnson i sur., 1995) itd.

Fizički, vodena organska tvar može se klasificirati u: partikulatna organska tvar (POM), kojom se smatraju one tvari koje zaostaju na filteru veličine pora od 0,45 μm , otopljena organska tvar (DOM), frakcija koja prolazi kroz filter s porama veličine 0,45 μm i organska koloidna tvar, s veličinama čestica između 1 nm i 1 μm (Mostofa i sur., 2012) (Slika 7).



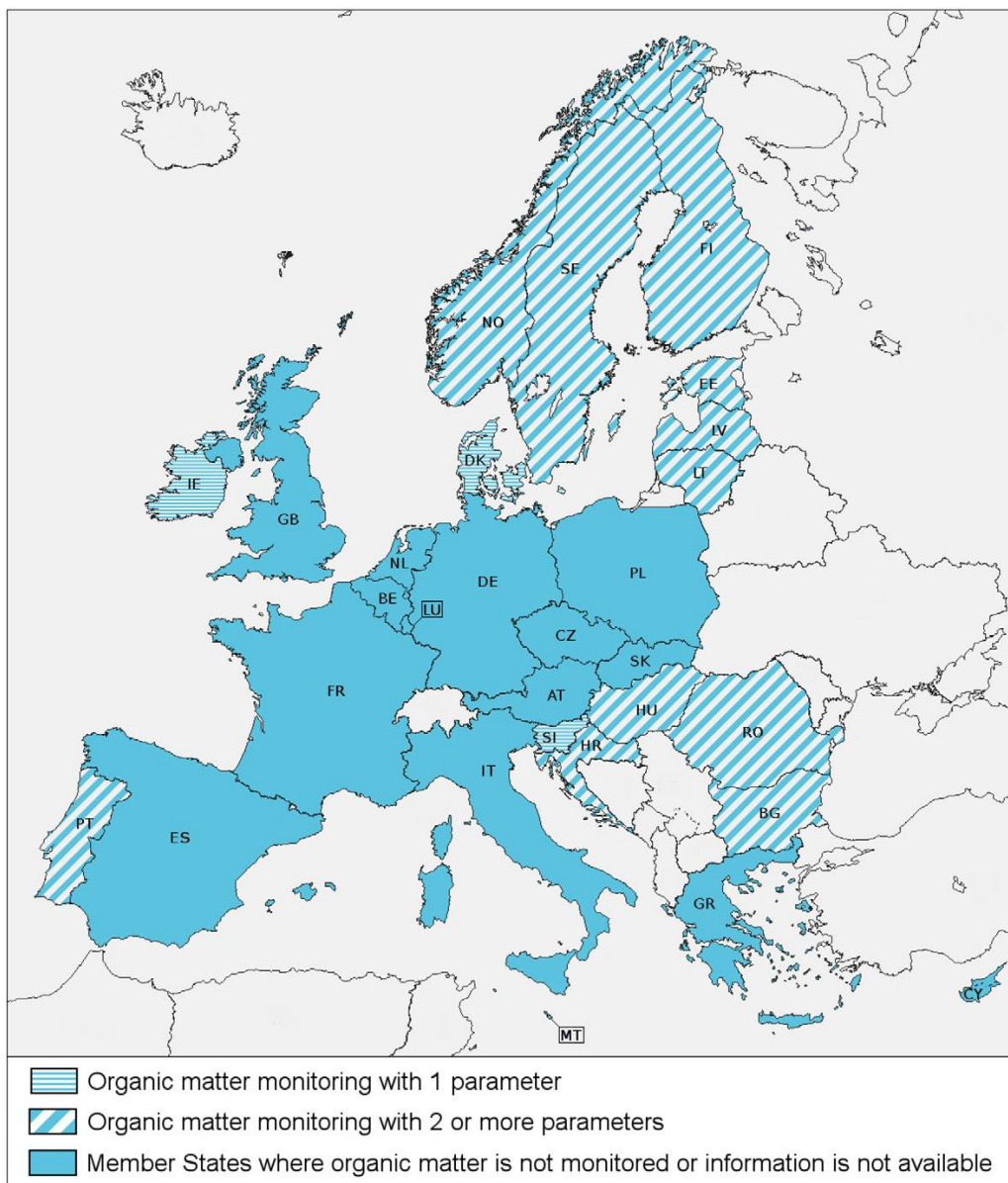
Slika 7. Frakcije organske tvari u vodenim ekosustavima: DOM – otopljena organska tvar; POM – partikulatna organska tvar; TOM – ukupna organska tvar; DOC – otopljeni organski ugljik; TOC – ukupni organski ugljik; POC – partikulatni organski ugljik; CDOM, (preuzeto iz: Wright, 2005).

Zbroj DOM-a i POM-a čini ukupnu organsku tvar (Bianchi, 2007; Mostofa i sur., 2012). Shematska veličina OT (μm) i masa (Da) distribucije organizama i kemijskih vrsta u vodnom sustavu prikazani su na Slici 8.



Slika 8. Shematska veličina OT (μm) i masa (Da) distribucije organizama i kemijskih vrsta u vodnom sustavu, (preuzeto iz: Wright, 2005).

Redoviti monitoring organske tvari vrši se u nekoliko zemalja Europske unije, a Hrvatska spada u države članice u kojima se monitoring organske tvari mjeri pomoću dva ili više parametara (Slika 9).



Slika 9. Monitoring organske tvari u različitim zemljama EU, (preuzeto iz: Baird, 2012).

2. PODRUČJE ISTRAŽIVANJA I ZNAČAJKE ISTRAŽIVANIH JEZERA

2.1. Jezero Kozjak

Prema tipologiji jezero Kozjak pripada tipu HR-J_1A - planinska, duboka, mala jezera na karbonatnoj podlozi u Dinaridskoj ekoregiji, kontinentalnoj subekoregiji Hrvatske. Jezero se nalazi u sastavu Plitvičkih jezera na 535 m.n.v., najveća dubina mu je 48 m, a površine je 0,815 km². Prema genezi Plitvička jezera pripadaju baražnim stajaćicama nastalim u holocenskoj morfogenezi krša koju obilježava proces travertinizacije i razvoj sedrotvornih zajednica. Po zemljopisnom položaju i termici, jezera pripadaju dimiktičkim jezerima umjerenog pojasa. Stepeničasto formirana jezera povezana su sedrenim slapištima krenuvši od prvog, Proščanskog jezera, koje se nalazi na 636 m.n.v. do posljednjeg jezera, Novakovića Brod (503 m.n.v.).

2.2. Proščansko jezero

Prema tipologiji Proščansko jezero pripada tipu HR-J_1B – planinska, duboka, mala jezera na karbonatnoj podlozi u Dinaridskoj ekoregiji, Kontinentalnoj subregiji Hrvatske. Ono je smješteno na 636 m.n.v. i prvo je u nizu Plitvičkih jezera. Zauzima površinu od 0,698 km². Vertikalni profil istraživanja bio je lociran u području kote 145 prema Petriku (1958), gdje je izmjerena najveća dubina od 37,4 m. Glavnina vode Proščanskog jezera pripada slivovima Bijele i Crne rijeke koji se nizvodno od naselja Plitvički Ljeskovac spajaju u rijeku Maticu, koja naposljetku utječe u jezero. Na zapadnom dijelu Proščanskog jezera utječe i Sužanjski potok.

2.3. Vransko jezero na otoku Cresu

Prema obaveznim deskriptorima sustava B u tipologiji jezera, Vransko jezero na otoku Cresu pripada tipu HR-J_2 - nizinska, duboka, srednje velika jezera; kriptodepresije na

karbonatnoj podlozi. Ova golema prirodna akumulacija od 220 milijuna m³ slatke vode je vodom najbogatije slatkovodno jezero u Hrvatskoj. Jezero je nastalo postglacijalnim otapanjem i precipitacijom. Dno jezera je zaravnjeno, što upućuje da se radi o potopljenom krškom polju. Jezero je smješteno u depresiji formiranoj unutar karbonatnih stijena donje i gornje krede, a danas u neposrednom slivu jezera dominiraju dolomiti nad vapnencima. Dužina jezera iznosi 5 km, dok njegova širina ide i do 1,5 km. Površina jezera iznosi 5,75 km², međutim, zbog niskih priobalnih zona uz sjeverni i južni kraj jezera, dimenzije jezera pa tako i njegova površina, mogu od godine do godine znatno varirati. Dosadašnjim istraživanjima dokazano je da je Vransko jezero kriptodepresija sa srednjim vodostajem od oko 13 m iznad razine mora. Pri navedenom vodostaju, njegova apsolutna dubina iznosi 74,5 m, što znači da najdublji dio jezerskog dna leži oko 61,5 m ispod morske razine.

2.4. Baćinska jezera

U doba pleistocena, cijelo područje današnjeg ušća Neretve izgledalo je bitno drugačije. Tada se korito Neretve protezalo uz današnji Pelješac, a Neretva se ulijevala u more negdje kod Vela Luke na otoku Korčuli. Tek nakon holocena, tj. u posljednjih 18.000 - 10.000 godina, zbog podizanja razine mora za oko 100 m, došlo je do skraćivanja riječnog toka Neretve i potapanja dijela riječne doline. Tijekom istog razdoblja nastalo je i 7 slatkovodnih Baćinskih jezera, koja predstavljaju niz potopljenih vrtača u neposrednoj blizini mora. Taj jedinstveni krški fenomen, smješten samo dva kilometra sjeverozapadno od grada Ploča čini šest potopljenih ponikvi, od kojih je pet međusobno povezano, a šesta je odvojena (Vrbnik). Najveći dio tog krškog područja izgrađen je od krednih naslaga vapnenaca i dolomita. Jezera su umjetno spojena dovodnim tunelom s Vrgoračkim poljem u svrhu odvoda poplavnih voda te odvodnim tunelom s morem, izvorno izgrađenim 1913., a kasnije proširivanim. Voda potonjim tunelom otječe iz jezera te se spojenim kanalom ulijeva u Pločanski zaljev gdje je sagrađena betonska pregrada kako bi se spriječila intruzija morske vode. Ukupna površina svih jezera pri vodostaju od 1,5 m.n.v., iznosi 1,38 km². Prema obaveznim deskriptorima sustava B u tipologiji jezera, jezera Oćuša i Crniševo pripadaju tipu HR-J_3- nizinska, srednje duboka, mala jezera; kriptodepresije na karbonatnoj podlozi.

2.4.1. Oćuša

U sustavu Baćinskih jezera, najveće jezero je Oćuša (Voćuša) s površinom od 0.55 km² i dubinom od 19,6 m. Smješteno je između dovodnog i odvodnog kanala, a na njemu se nalaze tri mala otoka čija prisutnost ukazuje na dobro razvedeni reljef. Na sjevero-istočnom dijelu Oćuše nalazi se istoimeni izvor, koji zajedno s još dva sezonska i dva trajna izvora sudjeluje u prinosu vode. Jezero je monomiktičko, mezotrofno, s klinogradnim profilom kisika (Habdija, 2008).

2.4.2. Crniševo

Jezero je monomiktičko, mezotrofno, s klinogradnim profilom kisika (Habdija, 2008). Crniševo je najdublje jezero s maksimalnom dubinom od oko 34 m. Karakterizira ga reljefna heterogenost tla i glavni trajni podvodni brakični izvor Mindel. Površina jezera je 0,43 km².

2.5. Vransko jezero kod Biograda na moru

Prema obaveznim deskriptorima sustava B u tipologiji jezera, Vransko jezero kod Biograda na moru pripada tipu HR-J_4 – nizinska, plitka, velika jezera na karbonatnoj podlozi u Dinaridskoj ekoregiji, mediteranskoj subekoregiji Hrvatske. Jezero se nalazi na 1 do 1,5 m.n.v., a najveća dubina mu je 6 m (prosječna dubina oko 2 m). Jezero je smješteno nedaleko od Biograda na moru, a pruža se paralelno s morskom obalom, odnosno u smjeru od sjeverozapada prema jugoistoku. Smješteno je u neposrednoj blizini mora, od kojeg je odijeljeno 800 – 2500 m širokim vapnenačkim grebenom, čija je najveća nadmorska visina 113 m. Vransko jezero je najveće prirodno jezero u Hrvatskoj. Njegova prosječna širina iznosi oko 2,2 km, dužina oko 13,6 km, a površina između 29,8 i 30,2 km². Razina vode Vranskog jezera ovisi o dotjecanju vode u jezero površinskim i podzemnim putem, izdašnosti izvora u samom jezeru, otjecanju vode iz jezera podzemnim procjepima i kanalom Prosika te o isparavanju vode. Strujanje vode je kondukcijsko, a izraženo je valovima koji za vjetrovita vremena mogu biti veliki i do 1 m.

2.6. Visovačko jezero

Visovačko jezero je dio hidrosustava rijeke Krke te se po postanku svrstava u krška baražna jezera. Visovačko jezero pripada nizinskim, srednje velikim i srednje dubokim jezerima na karbonatnoj podlozi u Dinaridskoj ekoregiji, primorskoj subregiji Hrvatske (tip HR-J_5). Ovaj ujezereni dio rijeke Krke nastao je nakon formiranja sedrene barijere na Skradinskom buku u postglacijalnom razdoblju, kada je došlo i do potapanja donjeg dijela ušća rijeke Krke. Površina mu je 5,72 km², a najveća dubina oko 30 m. Mjerni profil je smješten u središnjem dijelu jezera, južno od otoka Visovca, na dubini od 22 - 24 m.

3. CILJEVI PROJEKTA

Velika ekspanzija parametara koje je nužno pratiti, a koju zahtijeva ODV, dovela je do stvaranja pritiska vlada na njihove regulatorne agencije u vidu smanjenja troškova praćenja stanja voda, zadržavajući pokrivenost i učinkovitost (Borja i Elliott, 2013). Mnogi istraživači i regulatori na razini EU slažu se da je potrebna promjena u praćenju Okvirne direktive o vodama kako bi se osigurala dovoljna prostorna i vremenska rezolucija te veća isplativost. "Nadzorni monitoring" ima dva glavna cilja: prvo, ocijeniti ukupni status površinskih voda unutar svakog sliva ili podsliva, a drugo, otkriti dugoročne trendove statusa. Ovi ciljevi zahtijevaju različite učestalosti praćenja, pri čemu potonji zahtijevaju mnogo češće praćenje tijekom mnogih godina kako bi se utvrdili trendovi (Carvalho i sur., 2012; Borja i sur., 2016). Za razliku od drugog cilja, prvi zahtijeva samo praćenje u jednoj ili dvije godine tijekom šestogodišnjeg ciklusa upravljanja (Carvalho i sur., 2013). Moguće rješenje može biti odabir manjeg broja reprezentativnih vodnih tijela za otkrivanje trendova koji imaju češće praćenje (npr. svake godine) od onih uključenih u mreže nadzornog praćenja. "Operativni monitoring" za mjerenje utjecaja pritisaka i naknadnih mjera upravljanja treba biti osmišljen počevši od procjene pritisaka, odabira samo onih elemenata kakvoće koji su osjetljivi na svaki od značajnih stresora i koji imaju dovoljnu učestalost praćenja (tipično svake treće godine), u cilju otkrivanja trenda prije i nakon provedbe mjerenja. "Istraživački monitoring" ima za cilj dijagnosticiranje uzroka degradacije. Kako bi se oformio efikasni način istraživačkog monitoringa, valja mu pristupiti tako da se uvažavaju kontrolna i intervencijska mjesta za procjenu učinkovitosti mjera upravljanja (Conner i sur., 2016).

Zbog tog što analiza pigmenata i dalje predstavlja jednu od boljih metoda za brzo mapiranje populacije fitoplanktona, cilj predloženog istraživanja bio je pokušati odrediti vrijednost određivanja pigmenata u definiranju bioraznolikosti fitoplanktona putem tekućinske kromatografije.

Novi alati za praćenje kakvoće vodenih ekosustava su postali dostupni u posljednjih nekoliko godina, uključujući satelitska praćenja, genomiku i uključivanje građana (Danovaro i sur., 2016; Tyler i sur., 2016). Korištenje satelitskih podataka za nadzor i operativno praćenje ima veliki potencijal za bolju standardizaciju mjera diljem Europe i povećanje povjerenja u klasifikaciju ODV-a kroz poboljšanje prostorne pokrivenosti i učestalosti praćenja varijabli kao što su boja vode, koncentracija klorofila *a*, biomasa cijanobakterija i pokrivenost makrofitima (Tyler i sur., 2016). Postoji nekoliko aktivnih projekata koji razvijaju satelitske proizvode u svrhu potpore praćenja ODV-a iz programa ESA Copernicus (EOMORES www.eomores-h2020.eu; CYMONS

<https://business.esa.int/projects/cymons>; CHLO4MSFD <https://chlo4msfd.azti.es>; EUNOSAT: Joint Monitoring Programme of the EUthophication of the NOOrth-Sea with SATellite data). Daljinski osjetljiva opažanja kvalitete vode i promjena namjene zemljišta u stvarnom vremenu, u kombinaciji sa strojnim učenjem, mogla bi poduprijeti upravljačka tijela ka pravilnom usmjeravanju troškovno intenzivnog praćenja na licu mjesta. Postoji i sve veća podrška za korištenje aplikacija za građane putem pametnih telefona (npr.: bloomin-algae-app; Riu-net), u svrhu unaprijeđenja praćenja ekološkog stanja, jer to ne samo da može pružiti veću pokrivenost i potencijalno smanjene troškova, već također može i pridonijeti većem razumijevanju javnosti i angažmanu u upravljanju vodama (Hadj-Hammou i sur., 2017; Pocock i sur., 2017; EU Project groundtruth2., <http://gt20.eu/>). Potrebno je pažljivo razmotriti podatke koje dobivamo od građana kako bi se osigurala dovoljna kvaliteta pridonijelih dokaza (Kosmala i sur., 2016). Kombiniranjem i iskorištavanjem velikih setova podataka iz ova dva nova područja inovacija, mogu se postići velike sinergijske koristi. Značajan napredak postignut je i upotrebom komplementarnih sredstava za praćenje kao što su metabarkodiranje i DNK okoliša (oDNK) (Hering i sur., 2018; Pawlowski i sur., 2018). Uz molekularne metode značajno je i korištenje automatizirane tehnologije senzora i letećih, plutajućih i potopljenih bespilotnih letjelica opremljenih multisenzorima (Duffy i sur., 2018).

Primjena oDNK, pigmenata te karakterizacija organske tvari sve su učestalije metode koje se koriste u novim pristupima koji bi mogli značajno olakšati karakterizaciju vodnih tijela te omogućiti bolje određivanje ekološkog stanja. Navedeni pristupi primjenjuju se u posljednjih nekoliko godina u kojima su pridonijeli nekim novim saznanjima. U RH do sada nikad nije korišten ovakav multimetodni pristup u karakterizaciji jezera ili pri određivanju sastava zajednice fitoplanktona. Stoga, jedan od glavnih ciljeva jest pokušati uvesti standardne genomske metode kojima bi se definirali novi ekološki genomske indeksi te određivanje pigmenata tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC) u svrhu boljeg upoznavanja postojećih fitoplanktonskih zajednica istraživanih biotopa s ciljem poboljšanja ekoloških uvjeta koji u njima vladaju. Također, ovakav način istraživanja pridonosi boljem upravljanju vodama i točnijoj ocjeni ekološkog stanja.

4. MATERIJALI I METODE

4.1 Uzorkovanje

Uzorci su prikupljeni u periodu od travnja do rujna 2017. godine u sklopu redovnog monitoringa Hrvatskih voda. Istraživani vertikalni profili jezera uzorkovani su iznad najdubljeg dijela svakog pojedinog jezera. Kompozitni uzroci prikupljeni su prema Metodologiji uzorkovanja, laboratorijskih analiza i određivanja omjera ekološke kakvoće bioloških elemenata kakvoće (NN 73/13, 151/14, 78/15, 61/16 i 80/18). Usporedno s uzorcima za analize DNK, pigmentata te organske tvari, prikupljeni su i direktni uzorci fitoplanktona koji su analizirani Utermöhl metodom u Glavnom vodnogospodarskom laboratoriju Hrvatskih voda.

4.2 Fizikalno kemijski parametri

Mjereni fizikalno-kemijski parametri su: pH vrijednost, konduktivitet ($\mu\text{S}/\text{cm}$), ukupna sušena suspendirana krutina (mg/L), alkalinitet m-vrijednost (mgCaCO_3/L), ukupna tvrdoća (mgCaCO_3/L), mutnoća (NTU), koncentracija otopljenog kisika (mg/L), zasićenje kisikom (%), KPK-Mn (mgO_2/L), BPK5 (mgO_2/L), amonij (mgN/L), nitriti (mgN/L), nitrati (mgN/L), ukupni dušik (mgN/L), otopljeni o-fosfati (mgP/L), ukupni fosfor (mgP/L), DOC (mg/L), TOC (mg/L), kalcij (mg/L), magnezij (mg/L), sulfati (mg/L), kloridi (mg/L), silikati (mg/L), natrij (mg/L), kalij (mg/L), fluoridi (mg/L), prozirnost (Secchi) (m), klorofil a ($\mu\text{g}/\text{L}$), temperatura vode ($^{\circ}\text{C}$), salinitet (g/kg), otopljeni bakar ($\mu\text{g}/\text{L}$), otopljeni cink ($\mu\text{g}/\text{L}$), otopljeni arsen ($\mu\text{g}/\text{L}$), otopljeni krom ($\mu\text{g}/\text{L}$). Fizikalno-kemijski parametri su rađeni u Glavnom vodnogospodarskom laboratoriju Hrvatskih voda te su preuzeti iz baze podataka Hrvatskih voda.

4.3 Analize pigmentata

Pigmenti su analizirani pomoću visokoprotočne tekućinske kromatografije (U-HPLC). Filtrirani su različiti volumeni vode ovisno o jezeru na GF/F (Whatamn), filterima koji su odmah stavljeni na suhi led te su čuvani na -80 °C. Ekstrakcija je izvršena pomoću mješavine acetona i metanola (7:2). Potom su uzorci sonificirani u hladnoj vodenoj kupelji 3 min. Ekstrakt je potom centrifugiran 3 min na 12000 rpm. Supernatant je potom stavljen u tamne kivete (1 mL) te analiziran na Shimadzu Prominence LC – 2030C 3D I series plus koji sadrži UV-VIS detektor. Pigmenti su odvojeni pomoću modificirane metode predložene od Van Heukelem i dr. (2001) na ugrijanoj (40°C) Phenomenex Luna 3 μ C8(2) 100Å koloni s binarnim otapalom 0 min 100% A, 20 min 100% B, 25 min 100% B, 27 min 100% A, 30 min 100% A; A: 80% metanol + 28 mM amonij acetat, B: metanol). Brzina otapala bila je 0.8 mL/min. Identifikacija i kvantifikacija pikova se zasnivala na apsorpcijskom spektru. Klorofil a i bakterioklorofil su detektirani i na 665 nm i 770nm. U-HPLC sustav je bio kalibriran (Roy et al., 2011) upotrebom standarda pigmenta DHI Lab Products (Danska).

4.4. Analize okolišne DNK (oDNK)

Uzorci vode za DNK analizu filtrirani su kroz Nucleopore polikarbonatni filter (Whatman, UK) veličine pore 0,2 μ m koristeći peristaltičku crpku. Filtri su pohranjeni u tubice i spremljeni na suhi led ili na -80°C. Ekstrakcija DNA provedena je prema Necessian i sur. (2005). Za izolaciju DNA je korišten Qiagen Water Kit prema protokolu. PCR (eng. Polymerase Chain Reaction) ili metoda lančane reakcije polimerazom primijenjena je za gen 18S rDNA. Poznata je sklonost PCR-a neravnomjernom umnažanju određenog nukleotidnog slijeda u slučajevima kada kalup predstavlja populacija različitih molekula DNA. Kako bi se to umanjilo, svaki je uzorak umnožen u tri zasebne reakcije od 50 μ L. Za umnažanje hipervarijabilne V9 regije gena koja kodira za 18S rDNA korištene su početnice 1391F-EukB (Stoeck i sur., 2010). Program umnažanja započinjao je preddenaturacijom od 30 s na 98 °C, nastavljao se s 30 ciklusa koji su se sastojali od: denaturacije 30 s na 94 °C, sparivanja početnica 45 s na 57 °C i produljenja lanca 30 s na 72 °C te je završavao konačnim produljenjem lanca od 5 min na 72 °C. Nakon umnažanja fragmenta gena, PCR produkti su provjereni na 1%-om agaroznom gelu. Sekvenciranje DNK izvršeno je kao vanjska usluga SeqIT GmbH & Co. KG (Kaiserslautern, Njemačka). Korištena je metoda sekvenciranja sparenih krajeva (pair-end sequencing) na Illumina MiSeq uređaju. Pročišćeni PCR produkti korišteni su za izradu DNA knjižnica te sekvencirani Illumina MiSeq platformom.

4.4.1. Obrada podataka sekvenciranja

Podaci sekvenciranja fragmenta gena dolaze u dva dokumenta u FASTQ formatu koji sadrže podatke o očitanom slijedu nukleotida. Kvaliteta sljedova sekvenciranja pojedinog uzorka provjerena je FastQC programom. Spojeni sljedovi služili su kao ulazni podaci za programski paket QIIME v.1.8.0. Svaki je slijed dodijeljen odgovarajućem uzorku na osnovu očitanoog barkoda koji se nalazi na početku svakog slijeda. Sljedovi svakog uzorka su klasterirani u operacijske taksonomske jedinice (OTU). Dobivene FASTA datoteke koje su sadržavale sve sekvencirane nukleotidne sljedove specifične za pojedini uzorak procesirane JAGUC softverom (18S rRNA: Eukarioti). Nukleotidni sljedovi 18S rRNA sravnjeni su s bazom GenBank (National Center for Biotechnology Information, NCBI) sa minimalnom pokrivenošću od 98% i minimalnim odstupanjem od 2%.

4.4.2. Statistička obrada podataka

Za statističku obradu podataka korišten je programski jezik R 3.6.1. Unutar programa korišteni su paketi vegan, ggplot2, plyr, tidyr, dplyr, tibble i ape. Pomoću navedenih paketa podatci su prikazani PCA, CCA i NMDS analizom.

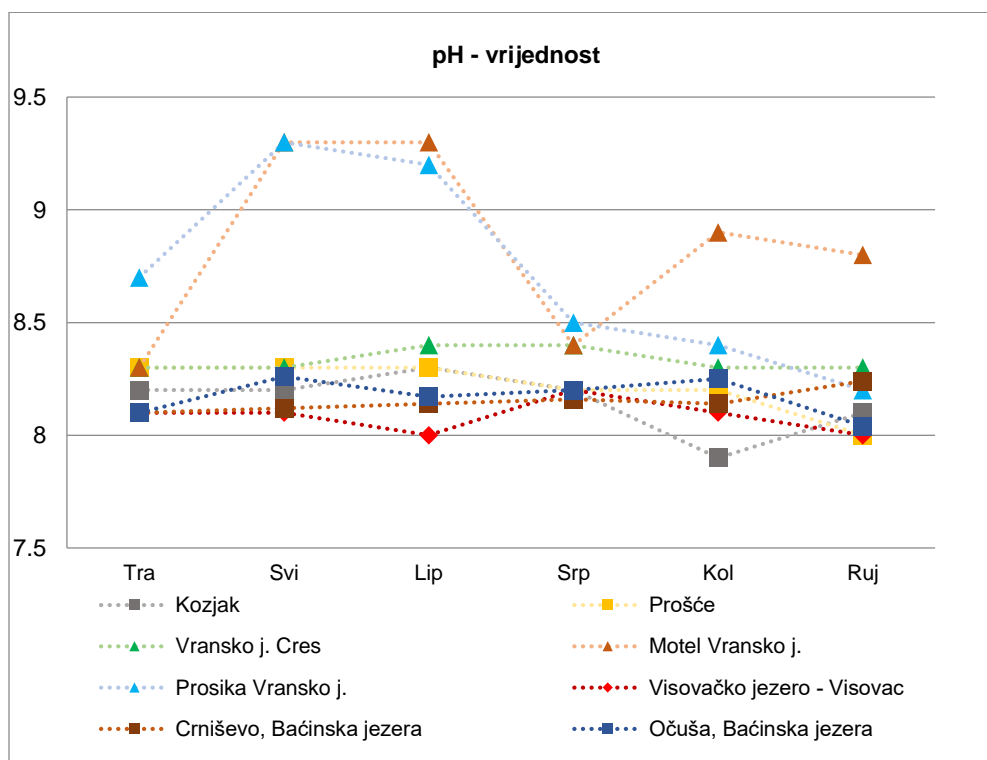
4.5. Analiza organske tvari

Uzorci vode za analizu organske tvari filtrirani su na GF/F filterima (spaljeni na 400 °C, 4 h, Whatman, Maidstone, UK) te zakiseljeni s 25% HCl. 2L DOM je bilo ekstrahirano putem styrene divinyl benzene copolymer kolonice (PPL, Agilent, Santa Clara, CA, USA). Efikasnost ekstrakcije bila je 52±5% ugljika. Analize masene spektrometrije izvršene su na 15 Tesla Solarix FT-ICR-MS (Bruker Daltonics, Billerica, MA, USA) kako je opisano u Seidel i sur. (2014). Određene mase bila su uspoređene s molekularnim formulama putem Matlab.

5. REZULTATI

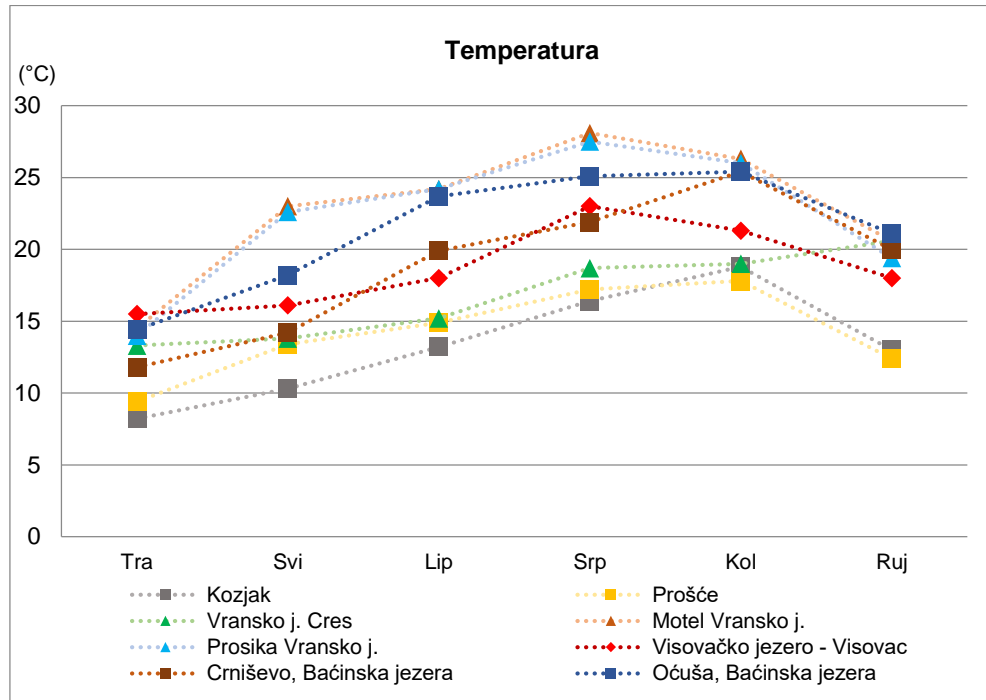
5.1. Rezultati analize fizikalno – kemijskih parametara

Mjerenjem pH vrijednosti u pojedinim jezerima utvrđena je sezonska dinamika (Slika 10). Najveće vrijednosti i oscilacije zabilježene su tijekom proljetnih mjeseci na postajama Motel i Prosika u Vranskom jezeru kod Biograda na moru. U srpnju obje vrijednosti padaju, a potom je, na postaji Motel zabilježeno povišenje pH vrijednosti u odnosu na postaju Prosika. U Visovačkom jezeru je najniži pH izmjerenu lipnju. Najniži pH od svih jezera izmjereno je u kolovozu na jezeru Kozjak.



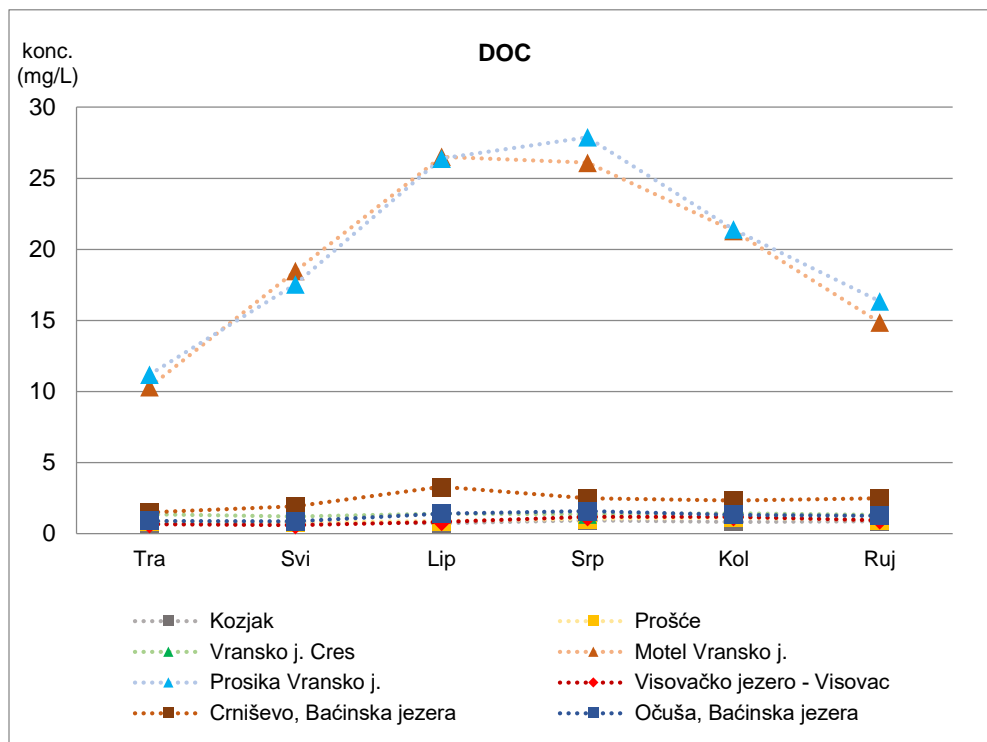
Slika 10. Prikaz pH vrijednosti na svim jezerima u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine.

Temperaturne vrijednosti jezera variraju kroz mjerene mjeseci s maksimumom u ljetnim mjesecima i minimumom u travnju (Slika 11). Najvišu temperature ima Vransko jezero kod Biograda na moru, potom Baćinska jezera te Visovačko jezero. Za razliku od ostalih jezera koja imaju zabilježen pad temperaturnih vrijednosti u rujnu, temperatura Kozjaka tada zabilježeva svoj maksimum.



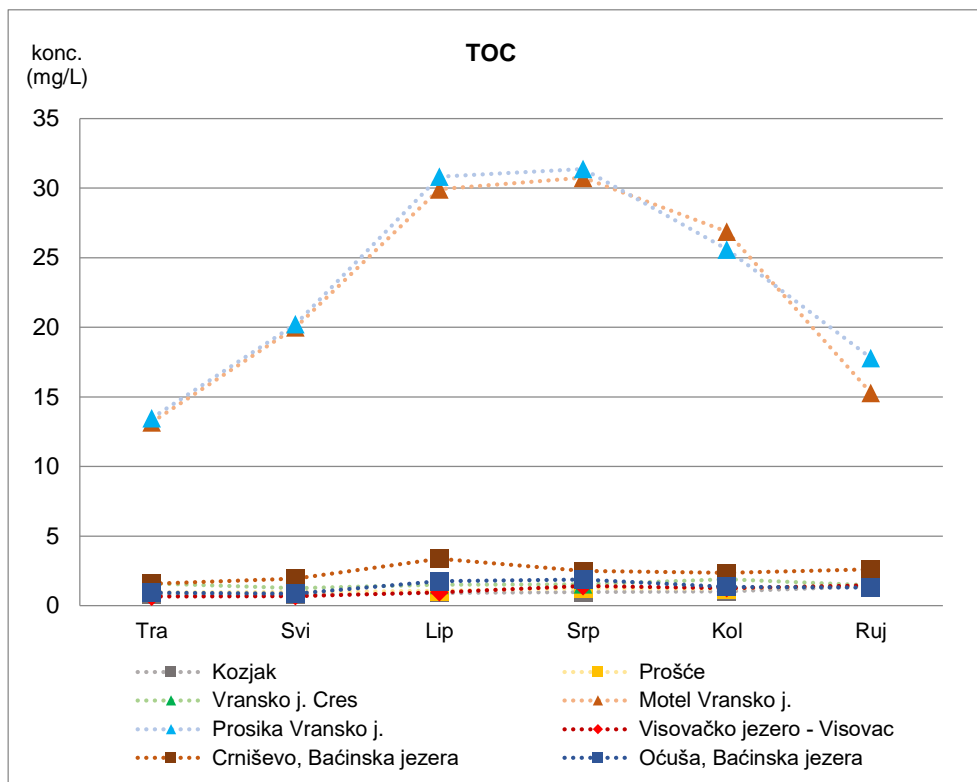
Slika 11. Prikaz temperaturnih vrijednosti svih jezera u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine, u °C.

Vrijednosti otopljenog organskog ugljika najviše su na postajama u Vranskom jezeru kod Biograda na moru (Slika 12). Svoj maksimum bilježe u lipnju na postaji Motel te u srpnju na postaji Prosika. U ostalim jezerima vrijednosti DOC-a svoj maksimum također bilježe u lipnju, od čega je najviša vrijednost utvrđena u jezeru Crniševo.



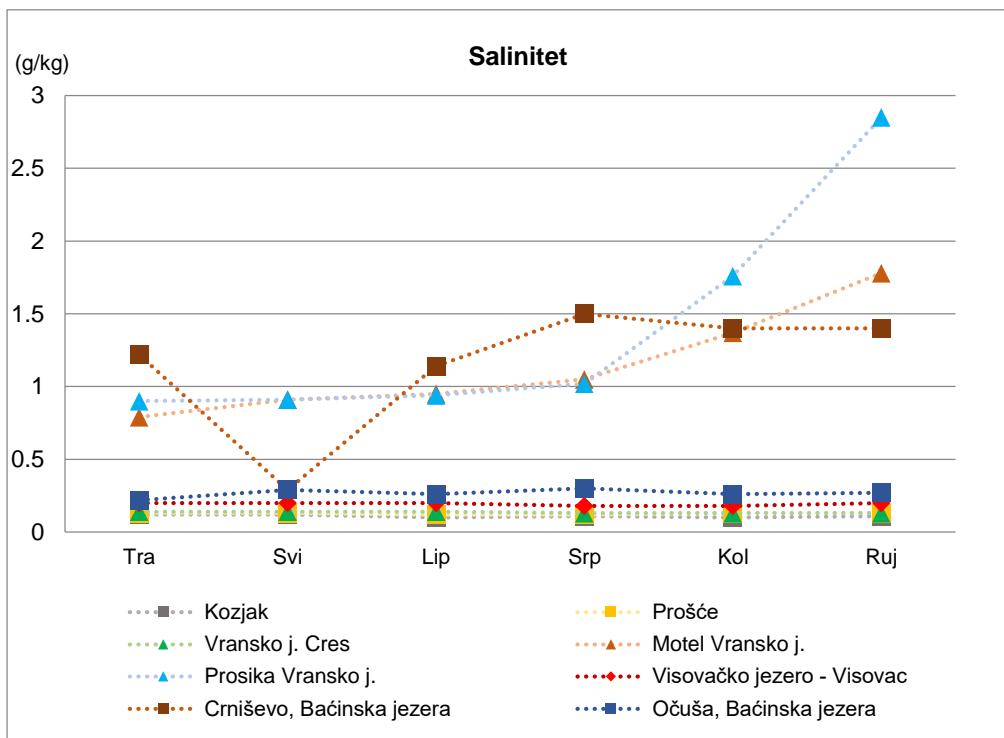
Slika 12. Prikaz DOC vrijednosti na svim jezerima u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u mg/L.

Kretanje vrijednosti ukupnog organskog ugljika tijekom mjerenih mjeseci, vrlo je slično kretanju vrijednosti DOC-a. Najviše koncentracije izmjerene su u lipnju i srpnju na Vranskom jezeru kod Biograda na moru. U ostalim jezerima maksimalne vrijednosti TOC-a su, također zabilježene u ljetnim mjesecima (Slika 13).



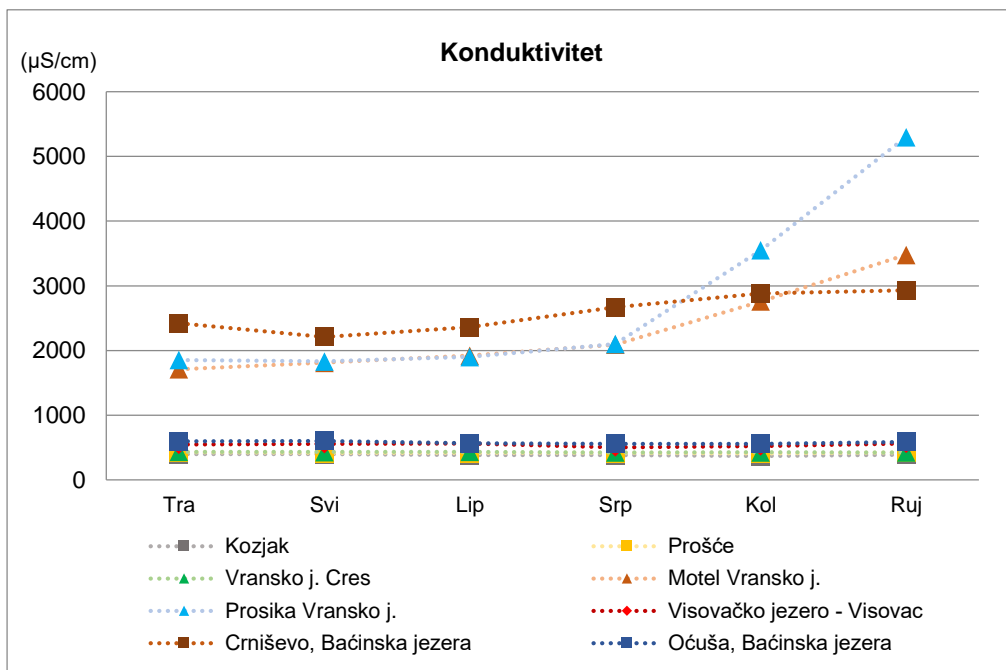
Slika 13. Prikaz TOC vrijednosti na svim jezerima u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u mg/L.

Izmjereni salinitet najviši je u Vranskom jezeru kod Biograda na moru u rujnu na postaji Prosika, kada se njegove vrijednosti podosta odvajaju od onih izmjerenih na postaji Motel. (Slika 14). Također, više vrijednosti saliniteta utvrđene su i u jezeru Crniševo, s minimumom u svibnju, a maksimumom u srpnju. Ostala jezera imaju niske vrijednosti saliniteta.



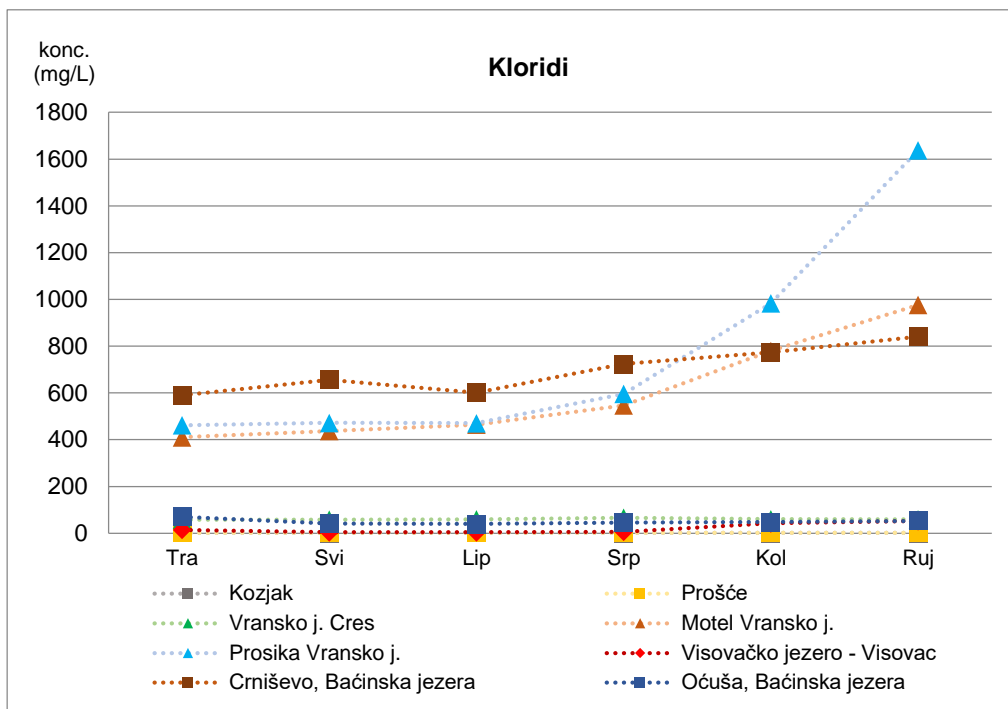
Slika 14. Prikaz vrijednosti saliniteta u svim jezerima u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u g/kg.

Vrijednosti konduktiviteta najviše su na postajama u Vranskom jezeru kod Biograda na moru. Konduktivitet na postaji Prosika naglo raste u ljetnim mjesecima, dok na postaji Motel također rastu, ali s manjim intenzitetom. Osim Vranskog jezera, konduktivitet je viši i u Crniševu (Slika 15).



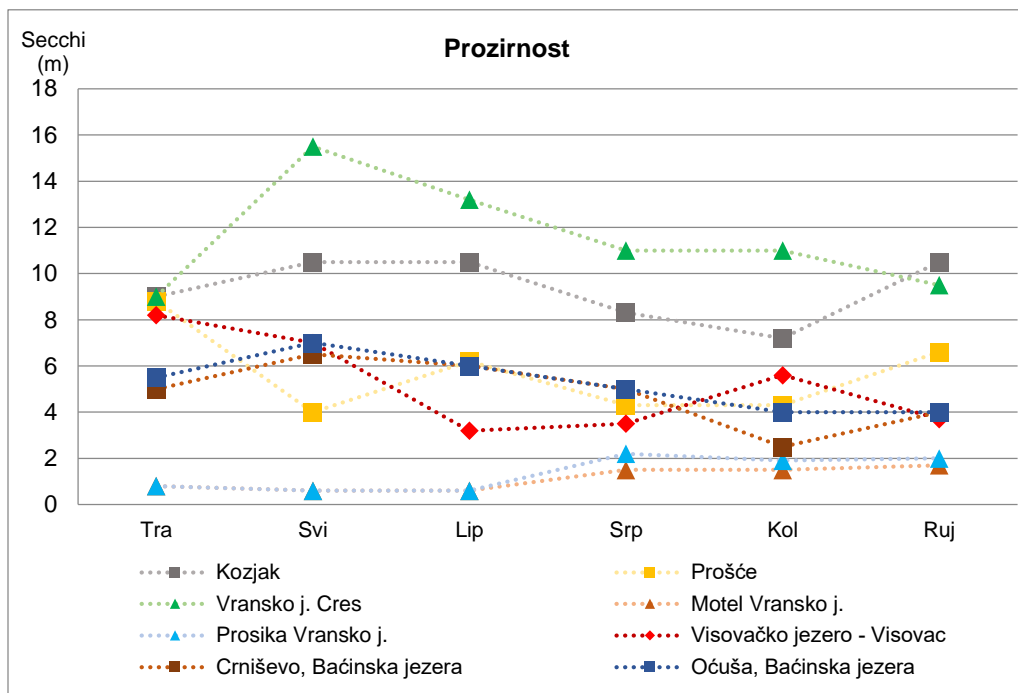
Slika 15. Prikaz vrijednosti konduktiviteta u svim jezerima u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u $\mu\text{S/cm}$.

Vrijednosti klorida kreću se vrlo slično kao vrijednosti konduktiviteta (Slika 16). Najviše vrijednosti zabilježene su u Vranskom jezeru kod Biograda na moru i u Crniševu. Niske vrijednosti klorida zabilježene su u ostalim jezerima od kojih najviše vrijednosti ima Oćuša.



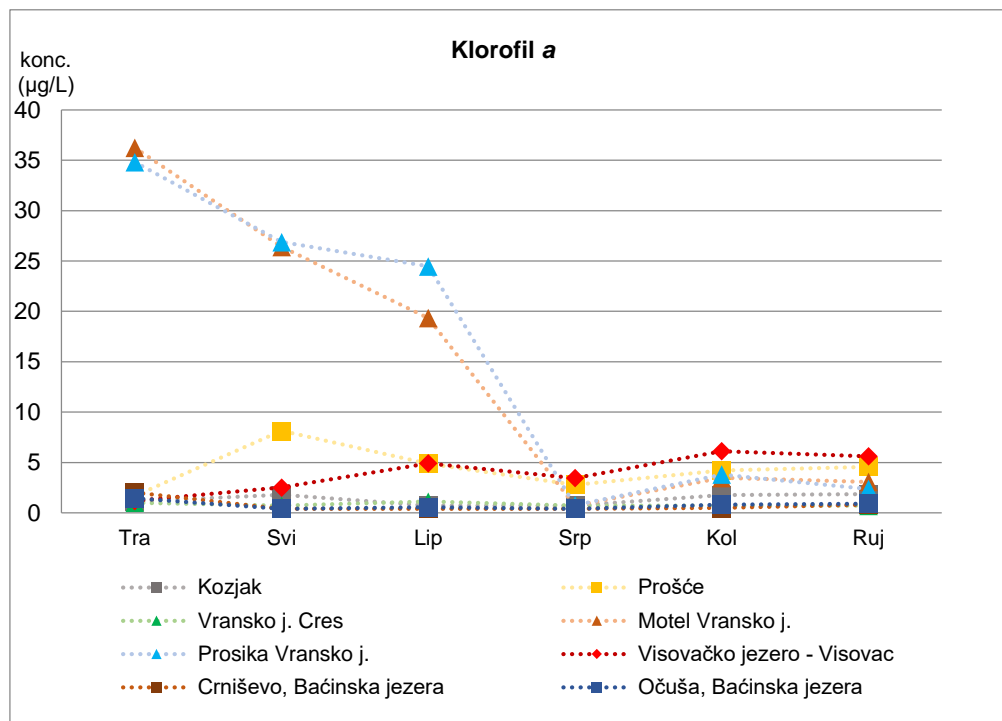
Slika 16. Prikaz vrijednosti koncentracije klorida u svim jezerima u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u mg/L.

Najveća prozirnost zabilježena je u Vranskom jezeru na Cresu s maksimumom u svibnju, a najmanja u Vranskom jezeru kod Biograda na moru (Slika 17). Kozjak ima veću prozirnost od Proščanskog jezera u svim mjerenim mjesecima. Prozirnost Baćinskih jezera prati međusobno sličan tok. Visovačko jezero ima najveću prozirnost u travnju, a najmanju u lipnju.



Slika 17. Prikaz prozirnosti (Secchi) u svim jezerima u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u m.

Vrijednosti koncentracije klorofila *a* u mjerenom razdoblju najviše su na postajama Vranskog jezera kod Biograda na moru u travnju, od kada se bilježi postepen pad (Slika 18). Izuzev Vranskog jezera, maksimum ovog parametra izmjeren je u jezeru Prošće u svibnju, dok je u jezeru Kozjak u tom i drugim mjesecima vrijednost niska i otprilike konstantna.



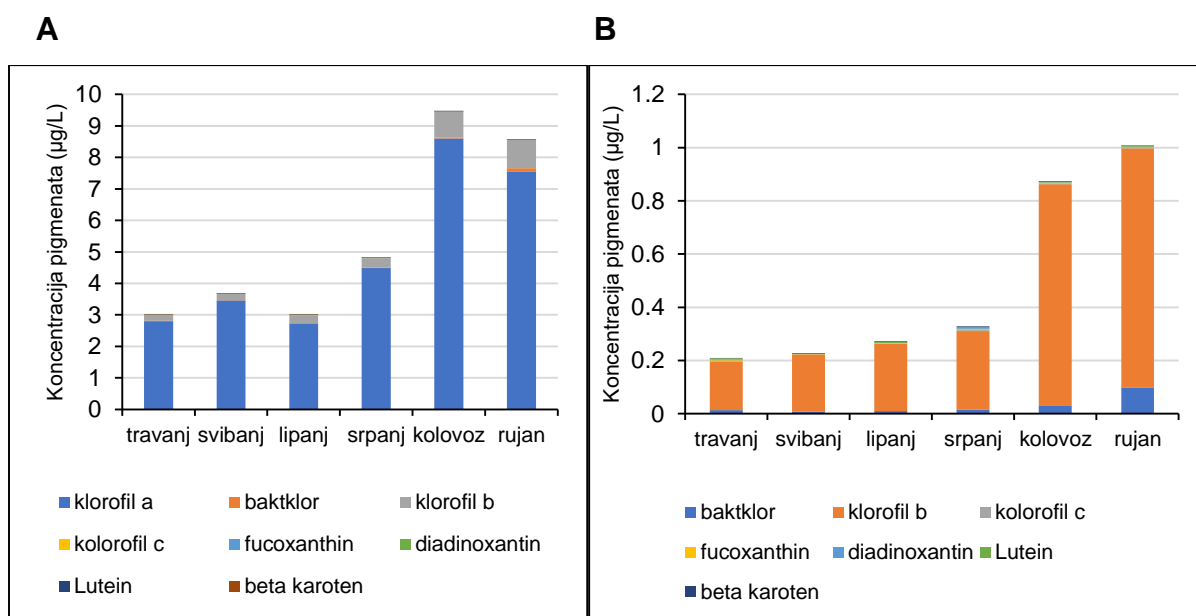
Slika 18. Prikaz vrijednosti koncentracije klorofila a u svim jezerima u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u µg/L.

Vrijednosti ostalih parametara nalaze se u suplementarnom materijalu (SM).

5.2. Rezultati analize pigmenata

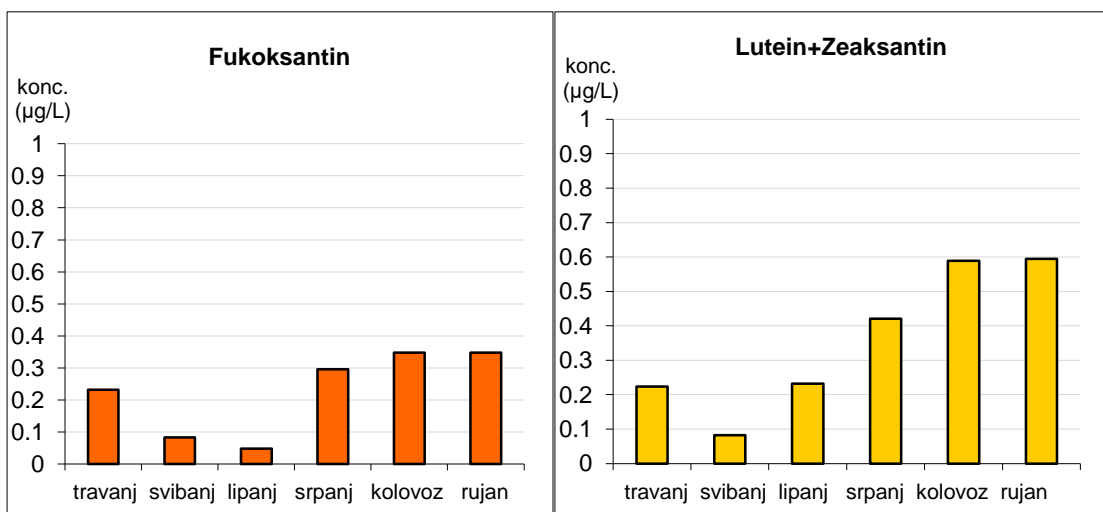
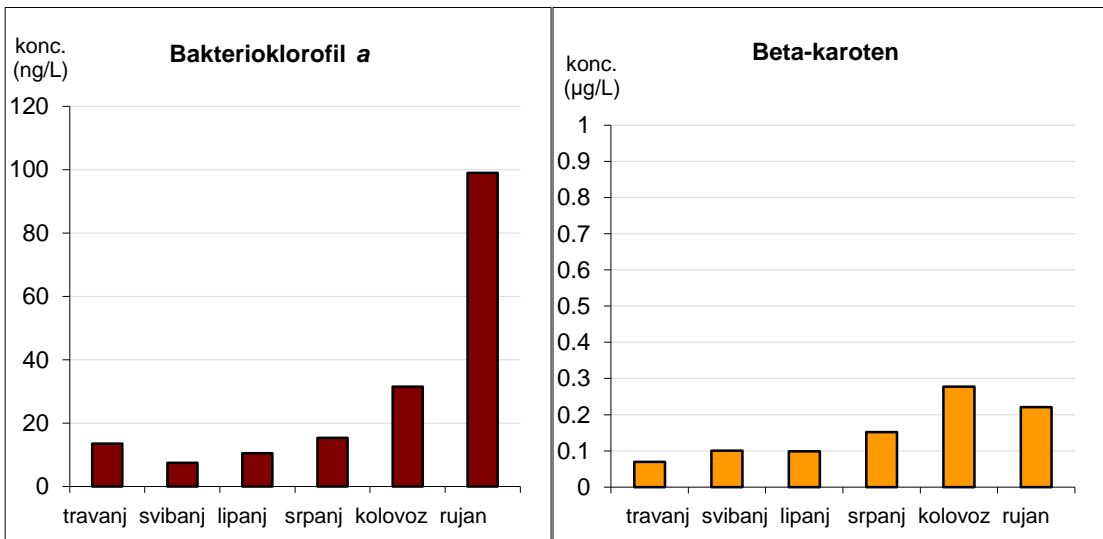
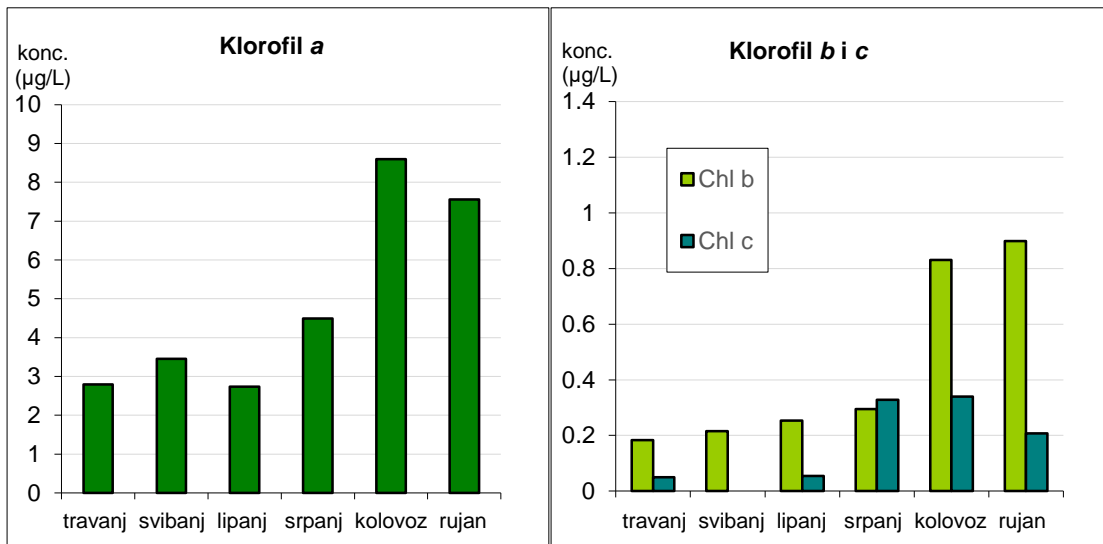
5.2.1. Visovačko jezero

Uz dominantan klorofil *a*, klorofil *b* se pokazao najzastupljenijim pigmentom (Slika 19). U kolovozu i rujnu po prvi put je identificiran i bakterioklorofil.



Slika 19. Sastav pigmenata u Visovačkom jezeru u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u µg/L. a) prikaz s klorofilom a, b) prikaz bez klorofila a.

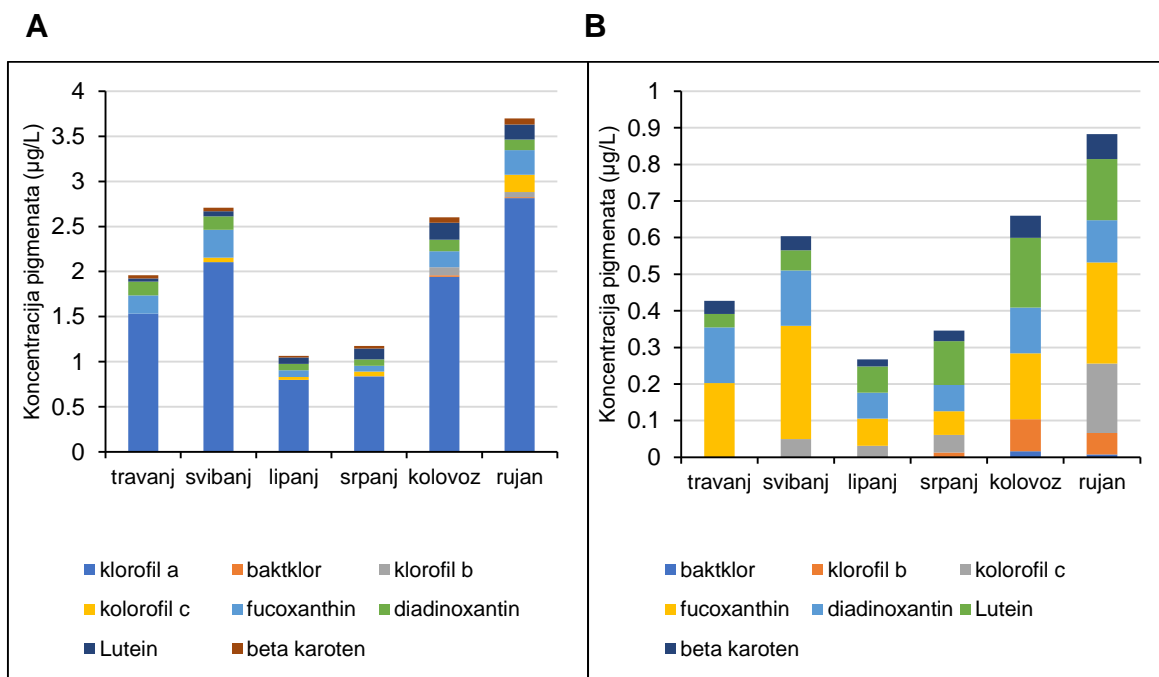
Najviše koncentracije klorofila *a* zabilježene su u kolovozu (8,6 µg/L), a najniže u lipnju (2,7 µg/L) (Slika 20). Koncentracije klorofila *b* varirale su od 0,18 µg/L (travanj) do 0,89 µg/L (rujan), a klorofila *c* od 0 µg/L (svibanj) do 0,34 µg/L (kolovoz). Vrijednosti bakterioklorofila *a* varirale su od 7,45 (rujan) ng/L do 98,9 ng/L (svibanj). Najviše vrijednosti beta-karotena zabilježene su u kolovozu (0,27 µg/L), a najniže u travnju (0,07 µg/L). Vrijednosti luteina i zeaksantina varirale su od 0,08 µg/L (svibanj) do 0,59 µg/L (rujan). Najniža vrijednost fukoksantina je zabilježena u lipnju (0,05 µg/L), a najviša u kolovozu (0,35 µg/L).



Slika 20. *Raspodjela koncentracije pigmenata u Visovačkom jezeru od travnja do rujna 2017. godine u $\mu\text{g/L}$ ili ng/L*

5.2.2. Jezero Kozjak

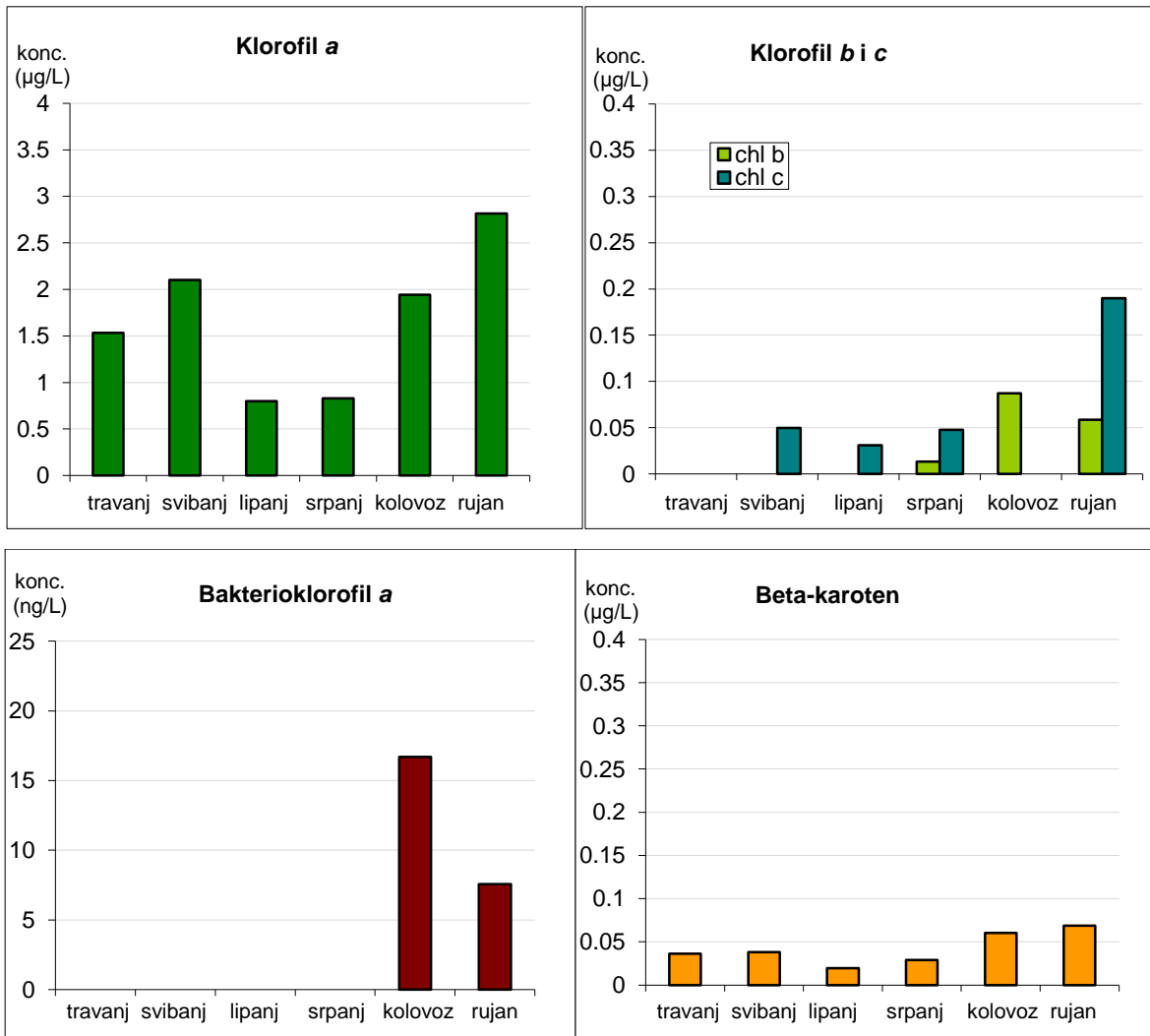
U jezeru Kozjak je vrlo šarolika distribucija pigmenata u kojoj dominiraju, uz klorofil *a*: fuksoksantin (dijatomeje), diadioksantin (dijatomeje), lutein (zelene alge) te u kolovozu i rujnu klorofil *b* (zelene alge) i *c* (dijatomeje, dinoflagelati) (Slika 21).

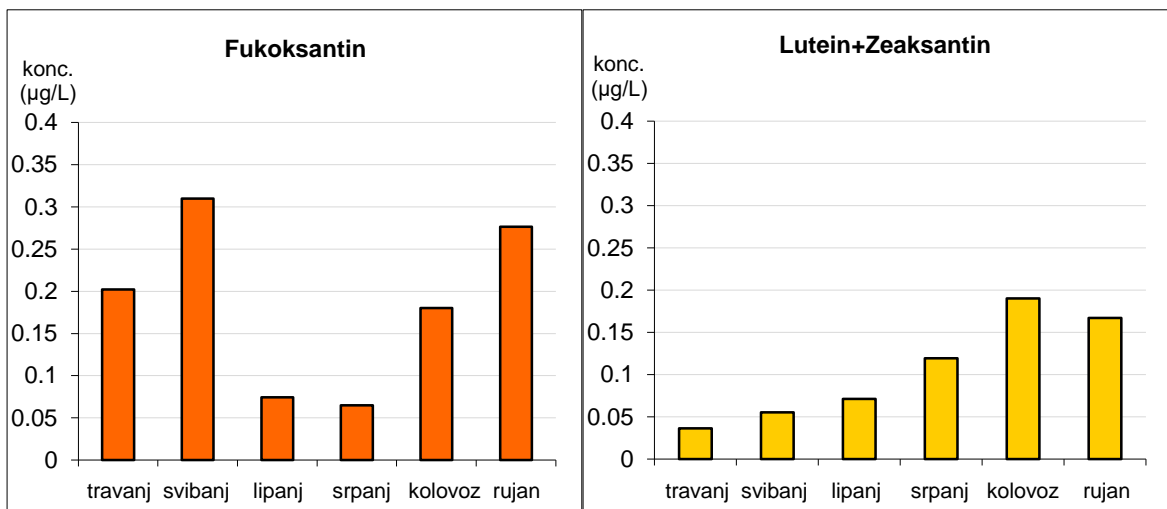


Slika 21. Sastav pigmenata u jezeru Kozjak u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u µg/L. a) prikaz s klorofilom a, b) prikaz bez klorofila a.

Koncentracije klorofila *a* varirale su od 0,79 µg/L (lipanj) do 2,8 µg/L (rujan) (Slika 22). Vrijednosti klorofila *b* i *c* bile su ili vrlo niske ili nemoguće za detektirati: klorofil *b* nije očitao u travnju, svibnju i lipnju, dok klorofila *c* nije bilo u travnju i kolovozu. Najviše vrijednosti klorofila *c* utvrđene su u kolovozu (0,08 µg/L), a klorofila *b* u rujnu (0,19 µg/L). Bakterioklorofil *a* je bilo moguće detektirati samo u dva mjeseca s vrijednostima od 7,57 ng/L (rujan) i 16,7 ng/L (kolovoz). Vrijednosti beta karotena su izrazito niske: od 0,02 µg/L (lipanj) do 0,07 µg/L (rujan). Najviše

vrijednosti fukoksantina zabilježene su u svibnju (0,31 µg/L), a najniže u srpnju (0,06 µg/L). Vrijednosti luteina i zeaksantina varirale su od 0,03 µg/L (travanj) do 0,19 µg/L (kolovoz).





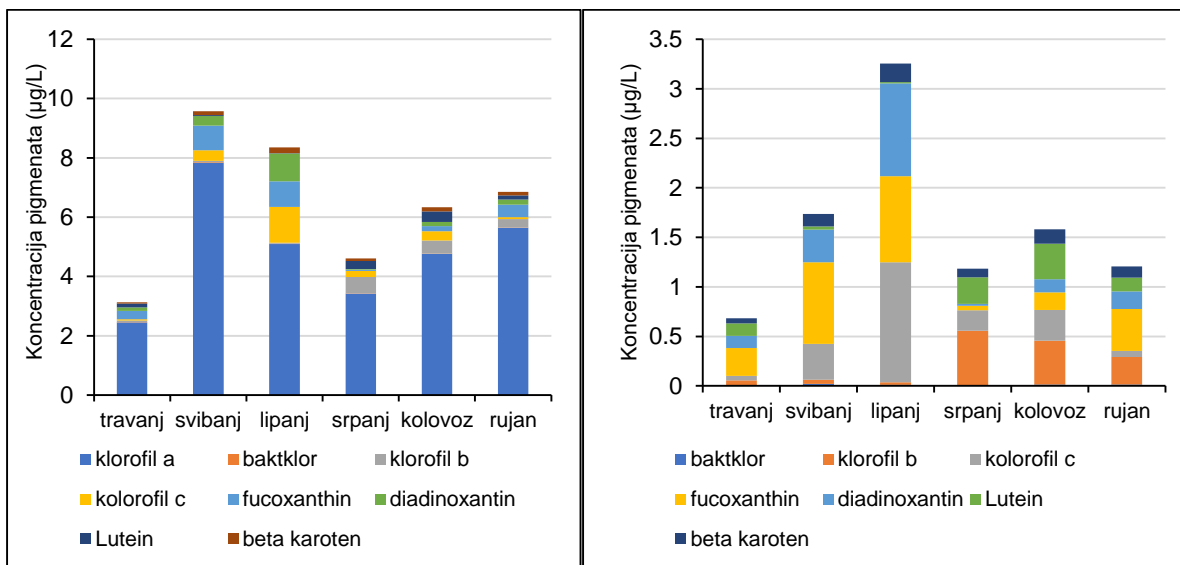
Slika 22. Raspodjela koncentracije pigmenata u jezeru Kozjak od travnja do rujna 2017. godine u µg/L ili ng/L

5.2.3. Prošćansko jezero

U Prošćanskom jezeru tijekom cjelokupnog uzorkovanja najzastupljeniji je, uz klorofil *a*, fukoksantin (Slika 23). Situacija se mijenja od srpnja. U prvom dijelu istraživanog razdoblja (travanj, svibanj i lipanj) prevladavaju još i klorofil *c* (dijatomeje i dinoflagelati) te diadinoksantin (dijatomeje), dok u drugom dijelu istraživanog razdoblja (srpanj, kolovoz, rujna) zastupljeniji postaju klorofil *b* (zelene alge), lutein (zelene alge) te beta-karoten (većina algi i cijanobakterije).

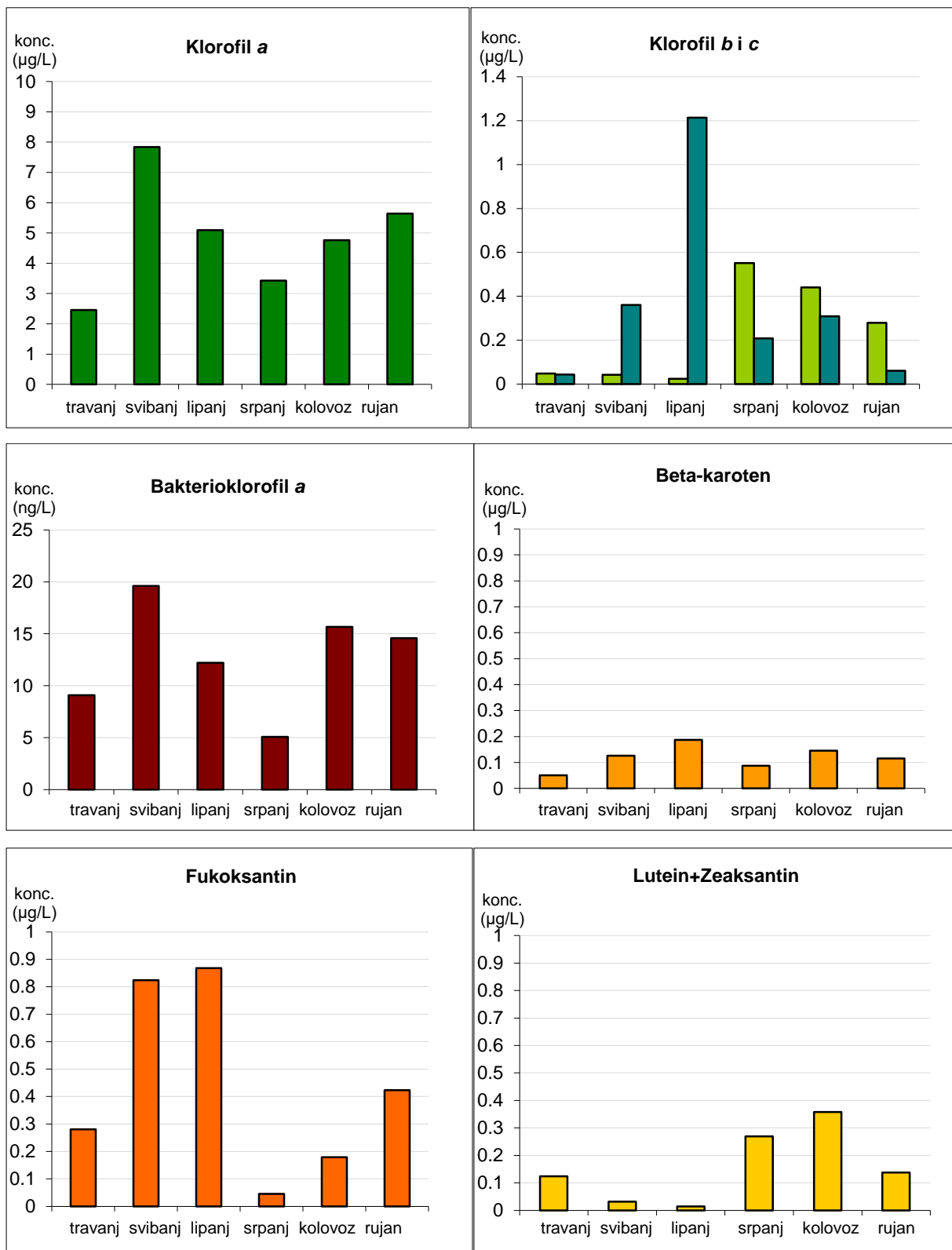
A

B



Slika 23. Sastav pigmenata u Prošćanskom jezeru u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u µg/L. a) prikaz s klorofilom a, b) prikaz bez klorofila a.

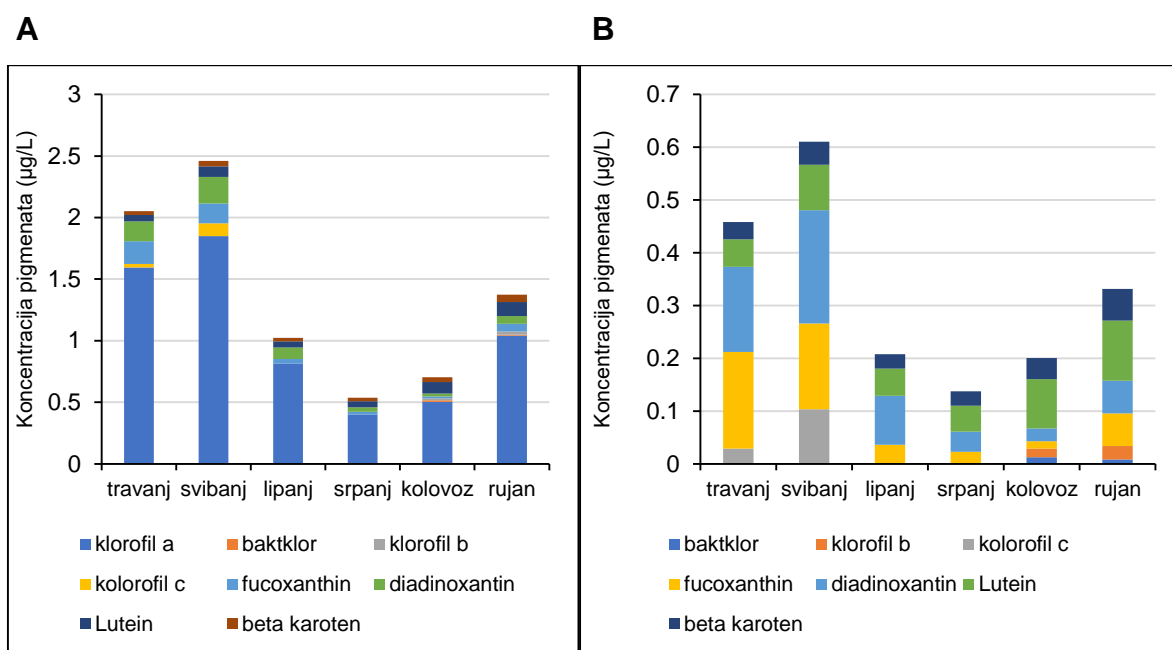
Vrijednosti klorofila a, određene U-HPLC-om, varirale su od 2,45 µg/L (travanj) do 7,83 µg/L (svibanj) (Slika 24). Najviše vrijednosti klorofila b zabilježene su u lipnju (1,2 µg/L), kad je bila i najniža vrijednost klorofila c (0,02 µg/L). Najviša vrijednost klorofila c zabilježena je u srpnju (0,21 µg/L), a najniža klorofila b u travnju (0,04 µg/L). Vrijednosti bakterioklorofila a varirale su od 5,1 ng/L (srpanj) do 19,6 ng/L (travanj). Vrijednosti beta-karotena bile su od 0,05 µg/L (travanj) do 0,18 µg/L (lipanj). Vrijednosti luteina i zeaksantina iznosile su od 0,01 µg/L (lipanj) do 0,36 µg/L (kolovoz). U lipnju je detektirana najveća koncentracija fukoksantina (0,87 µg/L), a u srpnju najniža (0,04 µg/L).



Slika 24. Raspodjela koncentracije pigmenata u Prošćanskom jezeru od travnja do rujna 2017. godine u µg/L ili ng/L

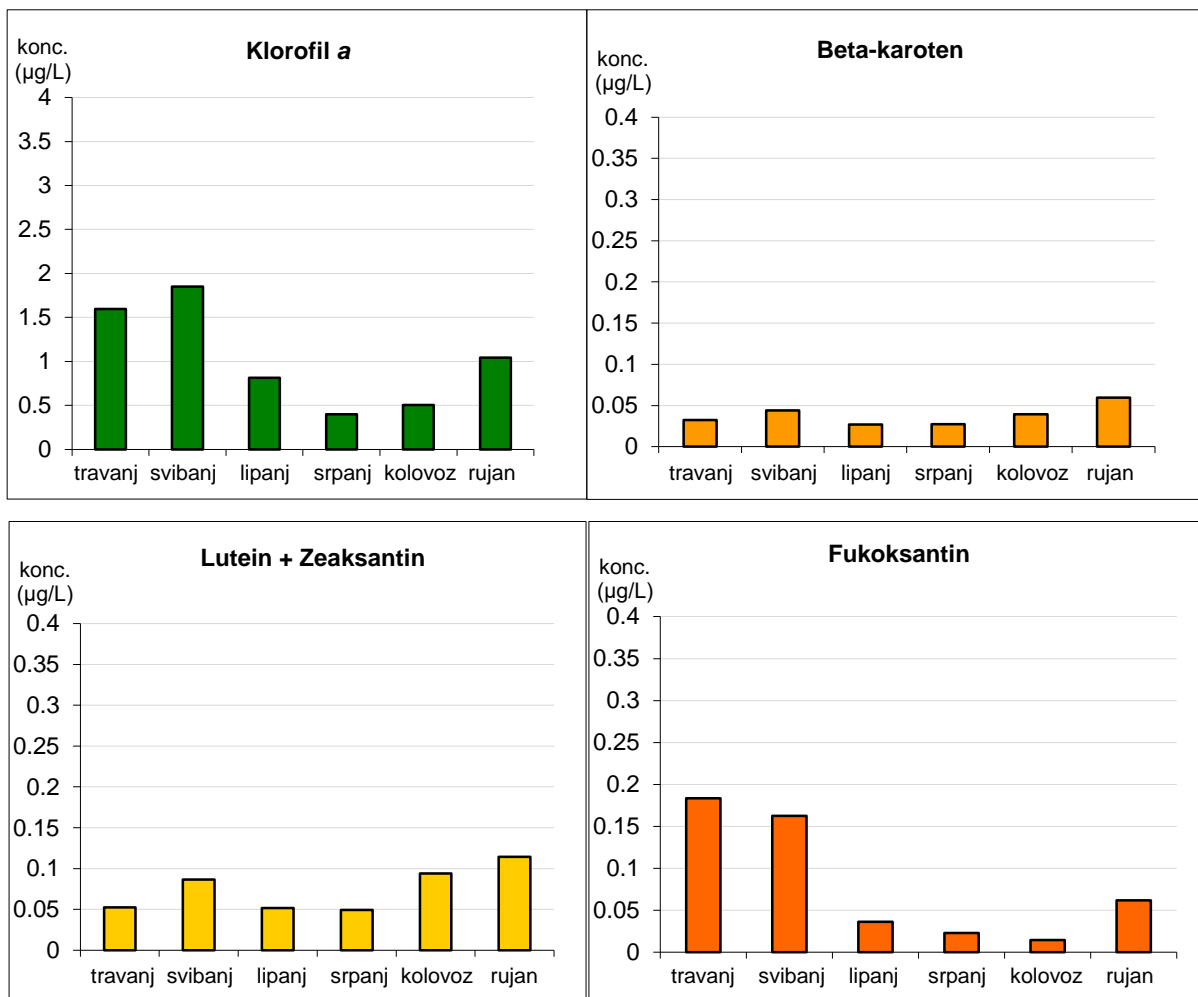
5.2.4. Vransko jezero na Cresu

U travnju i svibnju, u Vranskom jezeru na Cresu, osim dominantne koncentracije klorofila a, zabilježene su i visoke koncentracije fukoksantina (dijatomeje) i diadinoksantina (dijatomeje) te manje koncentracije luteina i beta karotena. U preostalom dijelu istraživanih mjeseci prevladava lutein (zelene alge) i beta-karoten (većina algi i cijanobakterije) s nešto manjim udjelom fukoksantina (dijatomeje) (Slika 25).



Slika 25. Sastav pigmenata u Vranskom jezeru (Cres) u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u µg/L. a) prikaz s klorofilom a, b) prikaz bez klorofila a

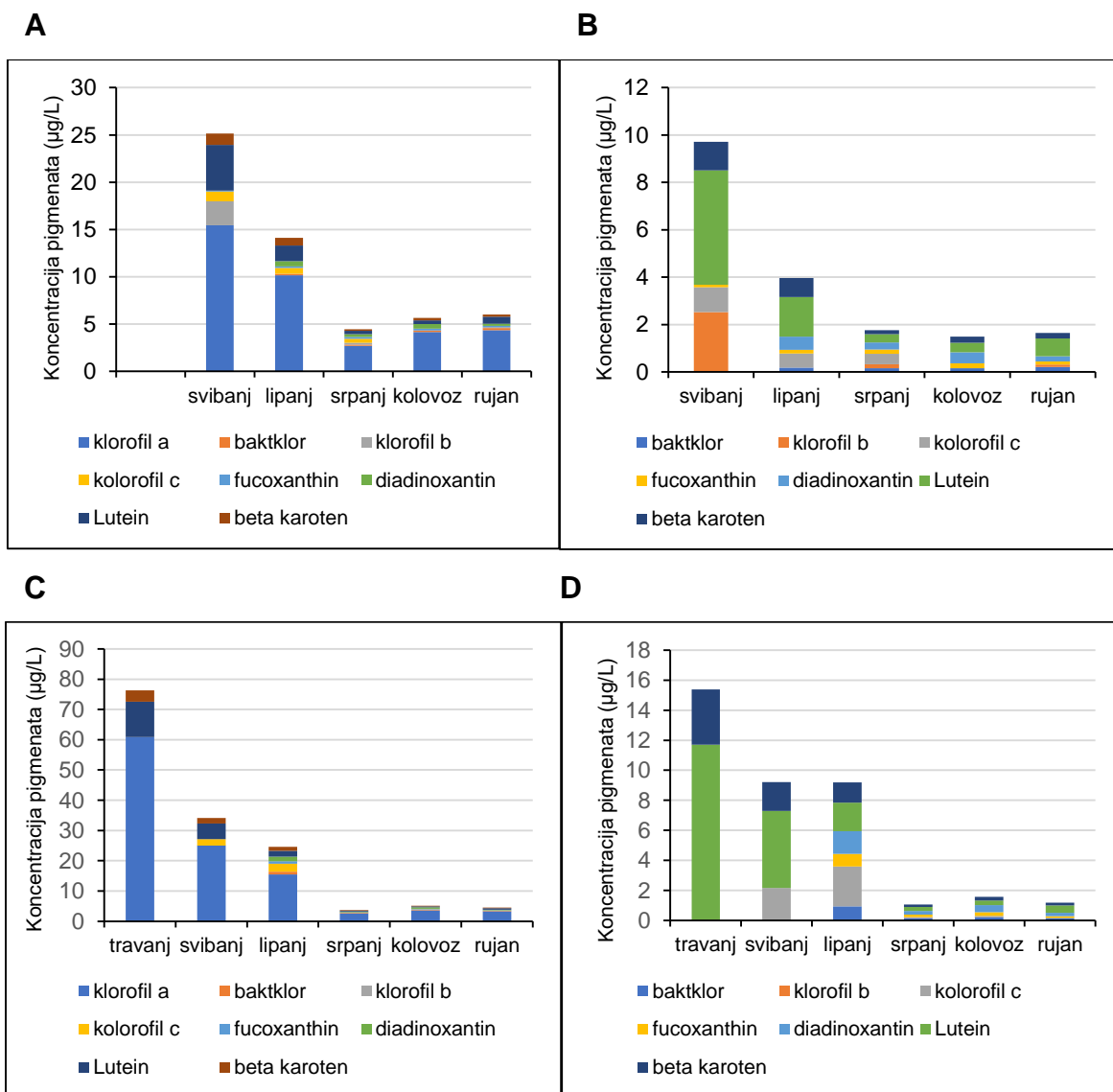
Vrijednosti klorofila a bile su od 0,4 µg/L (srpanj) do 1,85 µg/L (svibanj) (Slika 26). Beta karoteni su određeni vrlo niskim vrijednostima koje su varirale od 0,02 µg/L (lipanj) do 0,05 µg/L (rujan). Vrijednosti zeaksantina iznosile su od 0,05 µg/L (travanj, srpanj) do 0,11 µg/L (rujan). Fukoksantin je varirao od 0,01 µg/L (kolovoz) do 0,18 (travanj).



Slika 26. Raspodjela koncentracije pigmenata u Vranskom jezeru (Cres) od travnja do rujna 2017. godine u µg/L

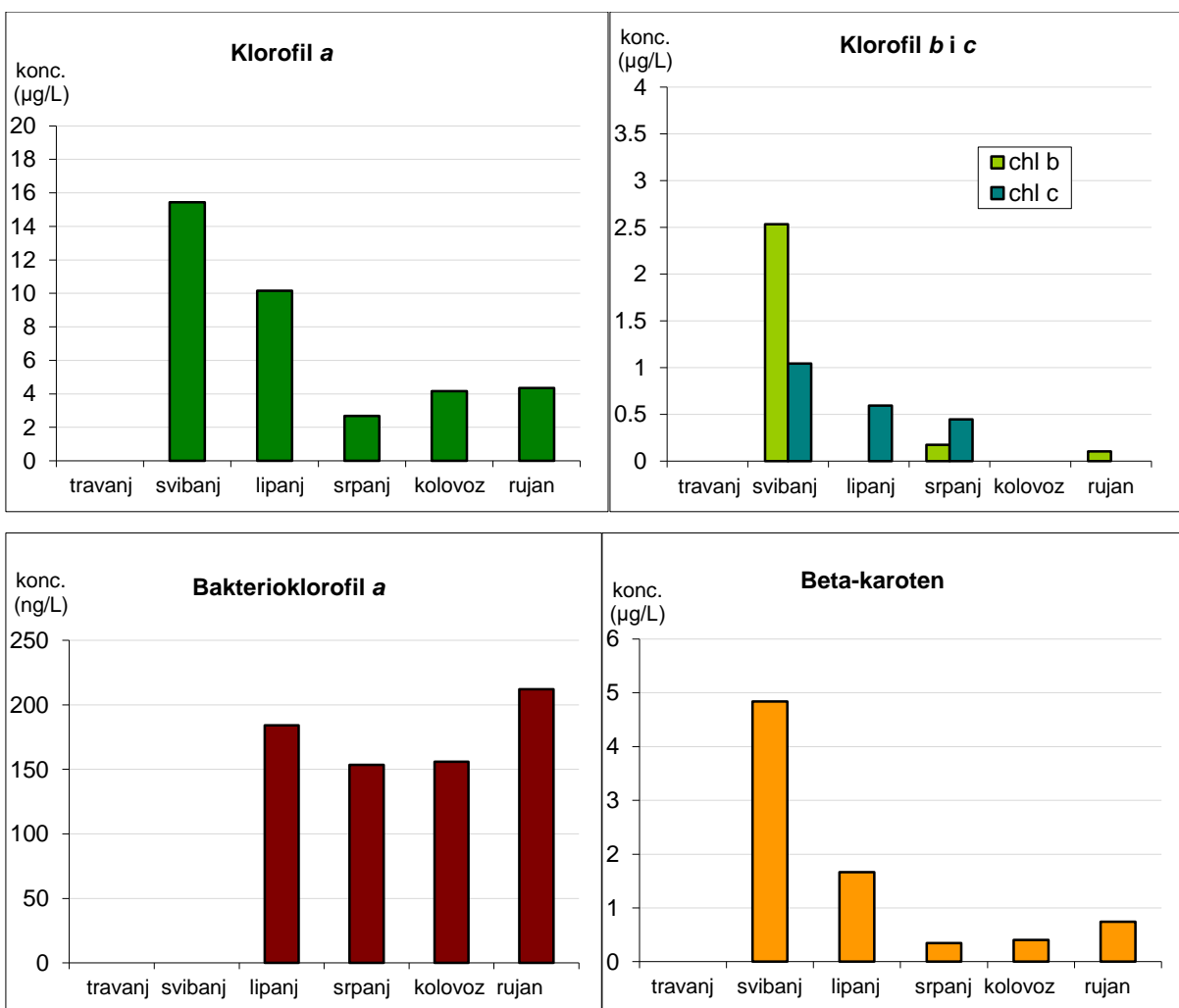
5.2.5. Vransko jezero kod Biograda na moru

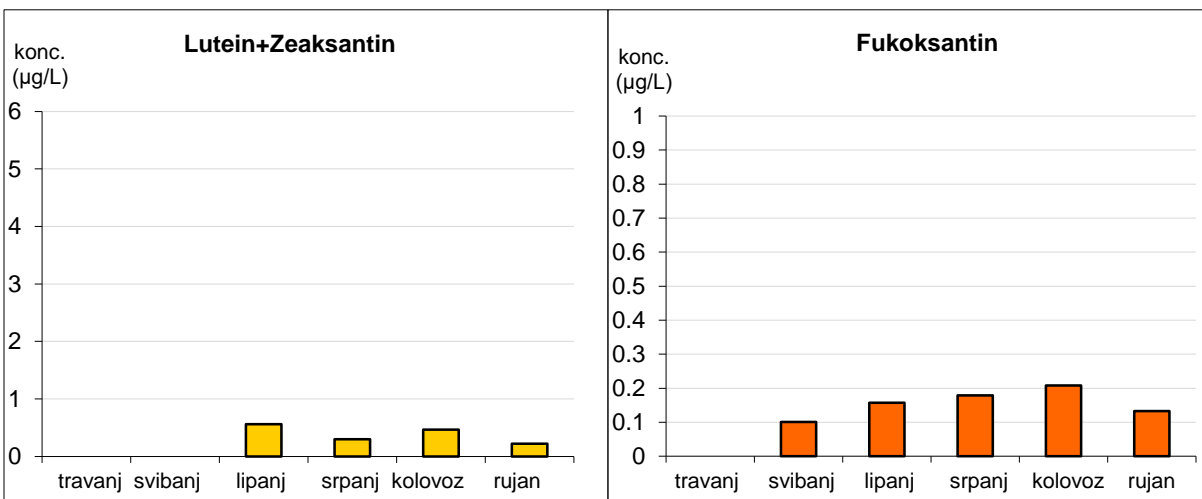
Na postaji Motel u Vranskom jezeru kod Biograda na moru prevladava, uz klorofil *a*, lutein (zelene alge) te se bilježi snažan pik klorofila *b* (zelene alge) u travnju. Na postaji Prosika u svibnju i lipnju također je dominantan lutein (zelene alge), ali uz klorofil *c* (dijatomeje i dinoflagelati) (Slika 27).



Slika 27. Sastav pigmenata u Vranskom jezeru (Biograd na moru) u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine, u µg/L. a) prikaz s klorofilom *a*, postaja Motel; b) prikaz bez klorofila *a*, postaja Motel; c) prikaz s klorofilom *a*, postaja Prosika; d) prikaz bez klorofila *a*, postaja Prosika

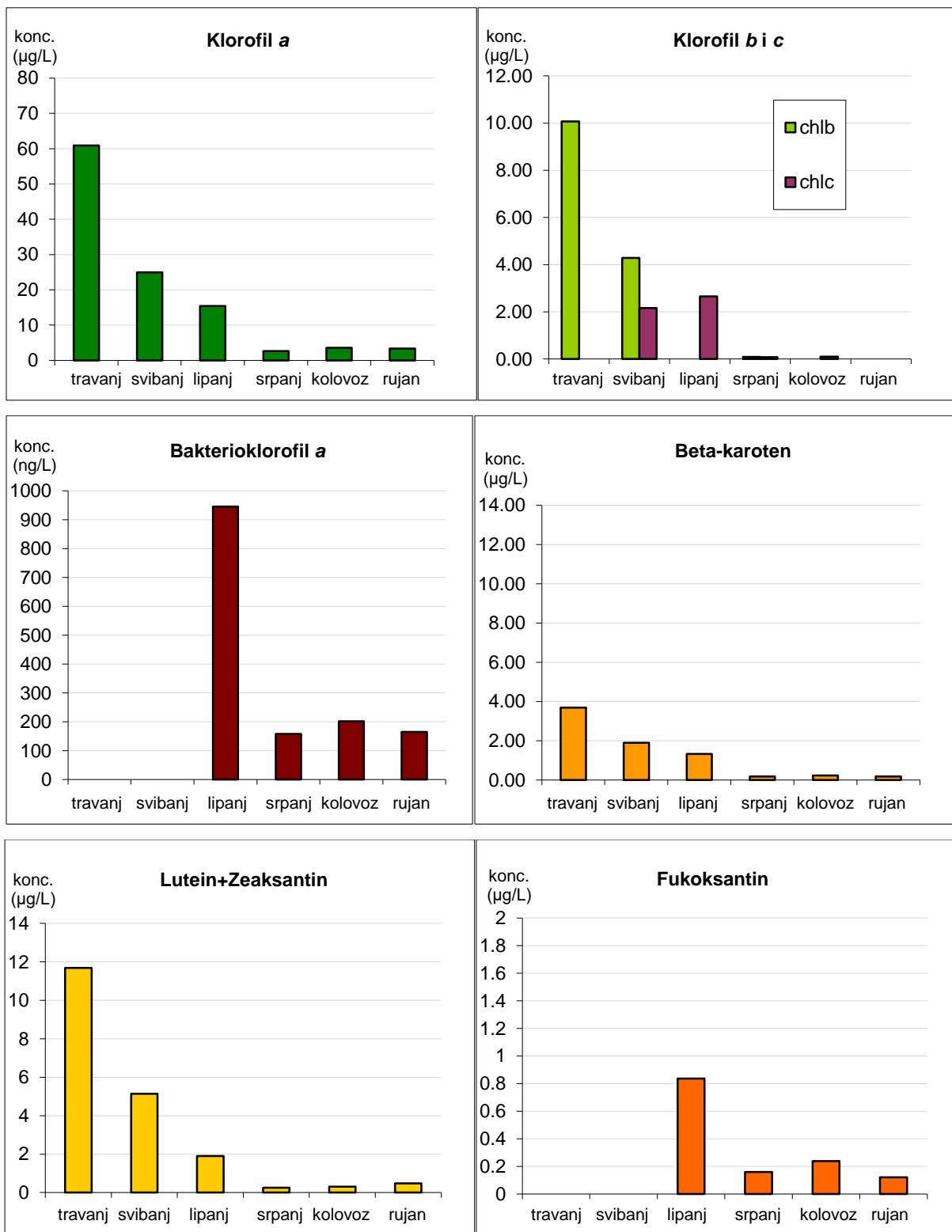
Vrijednosti klorofila *a*, za postaju Motel, bile su dosta visoke; od 2,7 $\mu\text{g/L}$ (srpanj) do 15,4 $\mu\text{g/L}$ (svibanj) (Slika 28). Podaci za travanj nedostaju zbog određenih tehničkih problema tijekom obrade uzoraka, dok klorofil *b* i *c* nije bilo moguće detektirati u kolovozu. Najveća vrijednost klorofila *b* i *c* bila je u svibnju (2,53 $\mu\text{g/L}$), odnosno (1,04 $\mu\text{g/L}$). Bakterioklorofil *a* nije detektiran u svibnju, a najveća vrijednost zabilježena je u rujnu i iznosi 212 ng/L . Vrijednosti beta-karotena su varirale od 0,35 $\mu\text{g/L}$ (srpanj) do 4,83 $\mu\text{g/L}$ (svibanj). Vrijednosti luteina i zeaksantina bile su vrlo niske od svibanjskih vrijednosti koje se nisu mogle detektirati do 0,55 $\mu\text{g/L}$ (lipanj). Fukoksantin je zabilježen u svim istraživanim mjesecima i to u vrijednostima od 0,1 $\mu\text{g/L}$ (svibanj) do 0,21 $\mu\text{g/L}$ (kolovoz).





Slika 28. Raspodjela koncentracije pigmenata u Vranskom jezeru (Biograd); postaja Motel, od travnja do rujna 2017. godine u µg/L ili ng/L

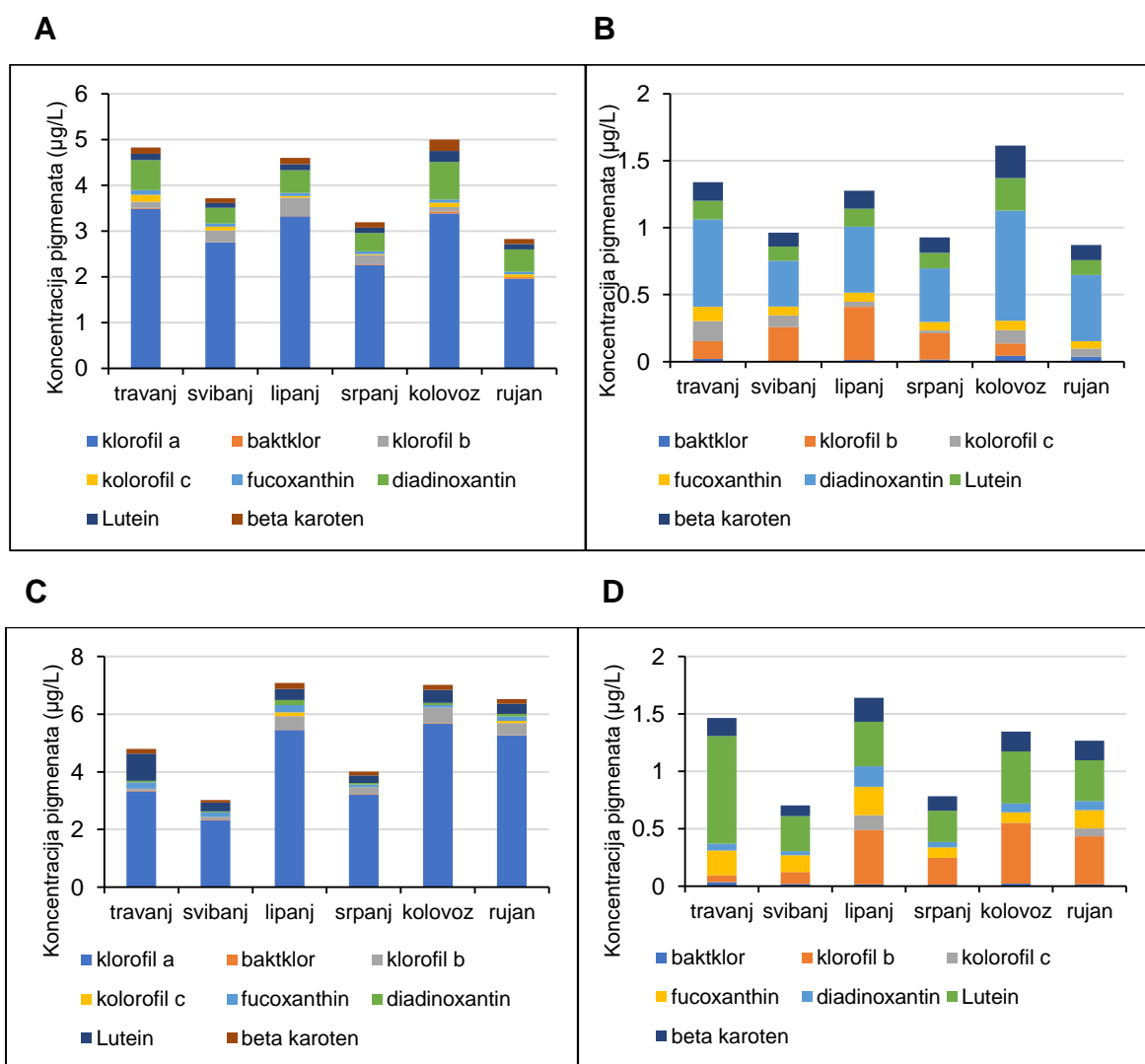
Vrijednosti klorofila *a* su značajno bile više u početku uzorkovanja (travanj – 60,1 µg/L) te su se spustile do 2,6 µg/L (srpanj) (Slika 29). Klorofil *b* i *c* također su pratili slični silazni trendovi vrijednosti od preko 10 µg/L (klorofil *b*, travanj) do nedetekcije istog (svibanj, kolovoz, rujana). Vrijednosti klorofila *c* varirale su od 0 µg/L (rujan, travanj) do 2,66 µg/L (lipanj). Vrijednosti bakterioklorofila *a* dosegle su svoj maksimum u lipnju (945 ng/L), a nisu detektirani u travnju i svibnju. Beta-karoten je također pokazao silazni trend od 3,7 µg/L (travanj) do 0,18 µg/L (rujan). Isti silazni trend je ustanovljen i kod luteina i zeaksantina od 11,7 µg/L (travanj) do 0,25 µg/L (srpanj). Fukoksantin nije detektiran u travnju i svibnju, a njegova najviša koncentracije je određena u lipnju (0,83 µg/L).



Slika 29. Raspodjela koncentracije pigmenata u Vranskom jezeru (Biograd); postaja Prosika, od travnja do rujna 2017. godine u µg/L ili ng/L

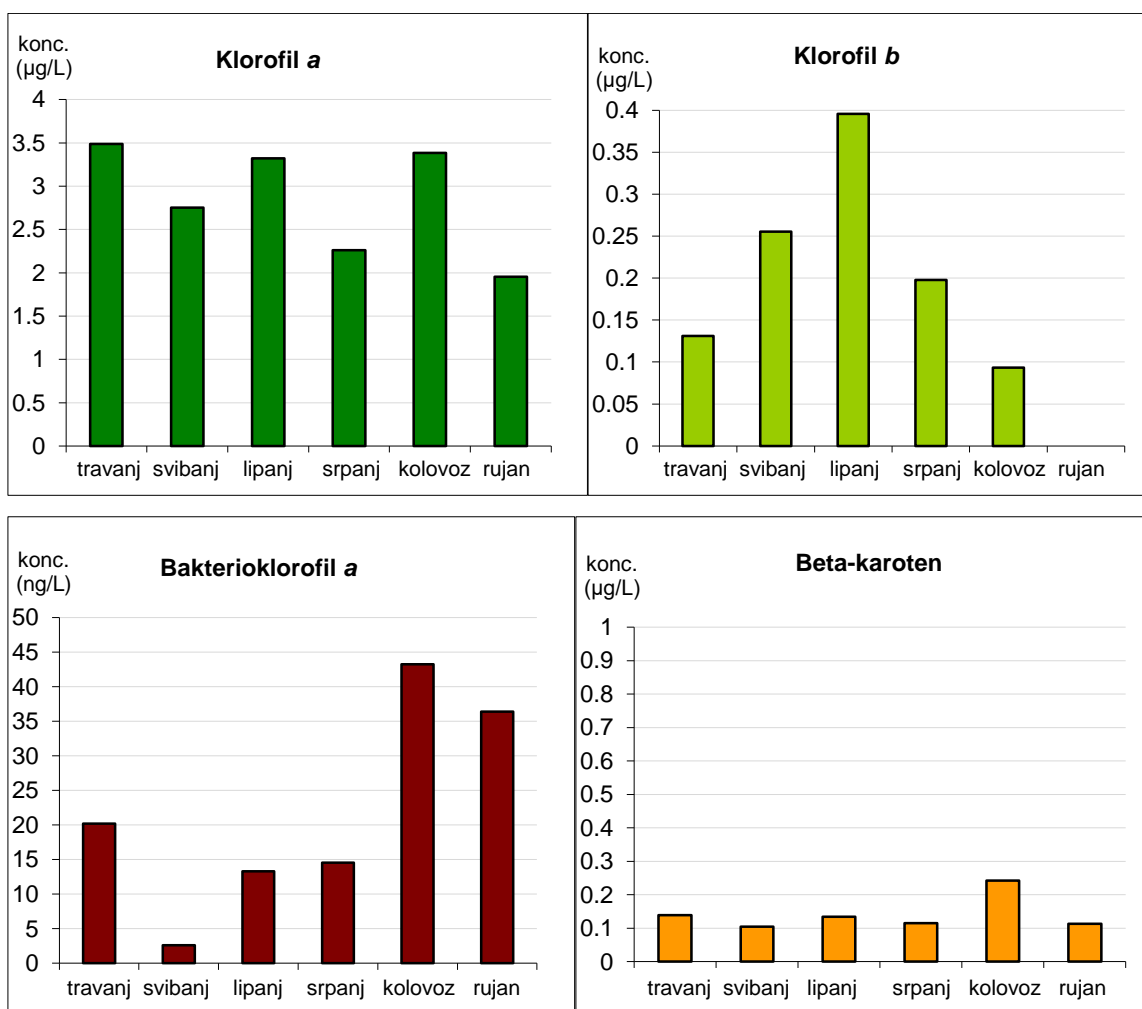
5.2.6. Baćinska jezera – Crniševo i Oćuša

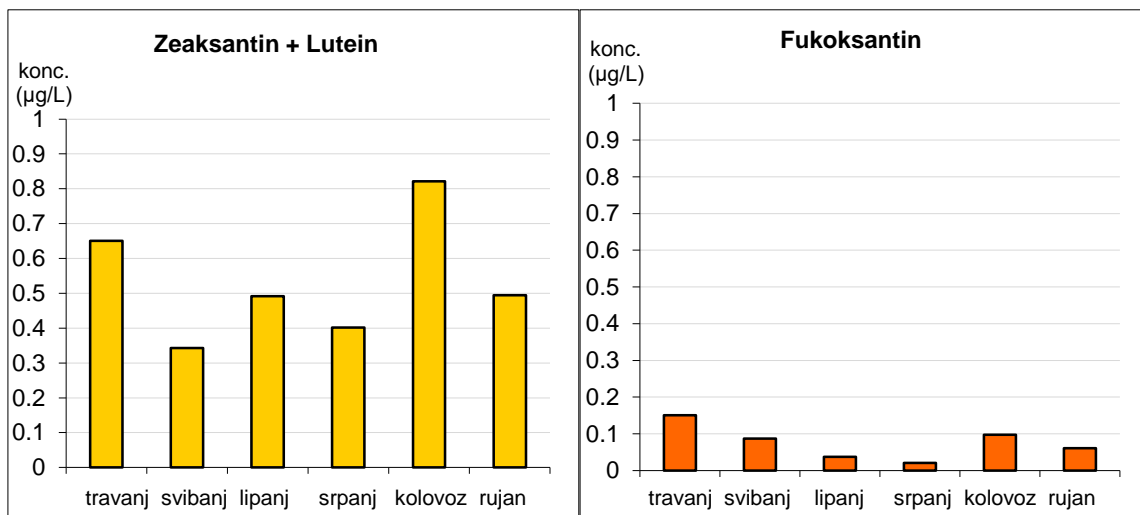
U jezeru Crniševo prevladava diadinoksantin (dijatomeje) tijekom cijele godine. U nešto manjoj mjeri su prisutni i klorofil *b* (zelene alge), lutein (zelene alge), beta karoten (većina algi i cijanobakterija) te klorofil *b* (zelene alge) (osim u rujnu) (Slika 30). U jezeru Oćuša dominira lutein, a od lipnja do rujna značajnije se povećava koncentracija klorofila *b* (zelene alge). Koncentracija bakterioklorofila je konstantna tijekom cijele godine.



Slika 30. Sastav pigmenata u Baćinskim jezerima, u istraživanom razdoblju od travnja do rujna 2017. godine, u µg/L a) prikaz s klorofilom a, Crniševo; b) prikaz bez klorofila a, Crniševo; c) prikaz s klorofilom a, Oćuša; d) prikaz bez klorofila a, Oćuša.

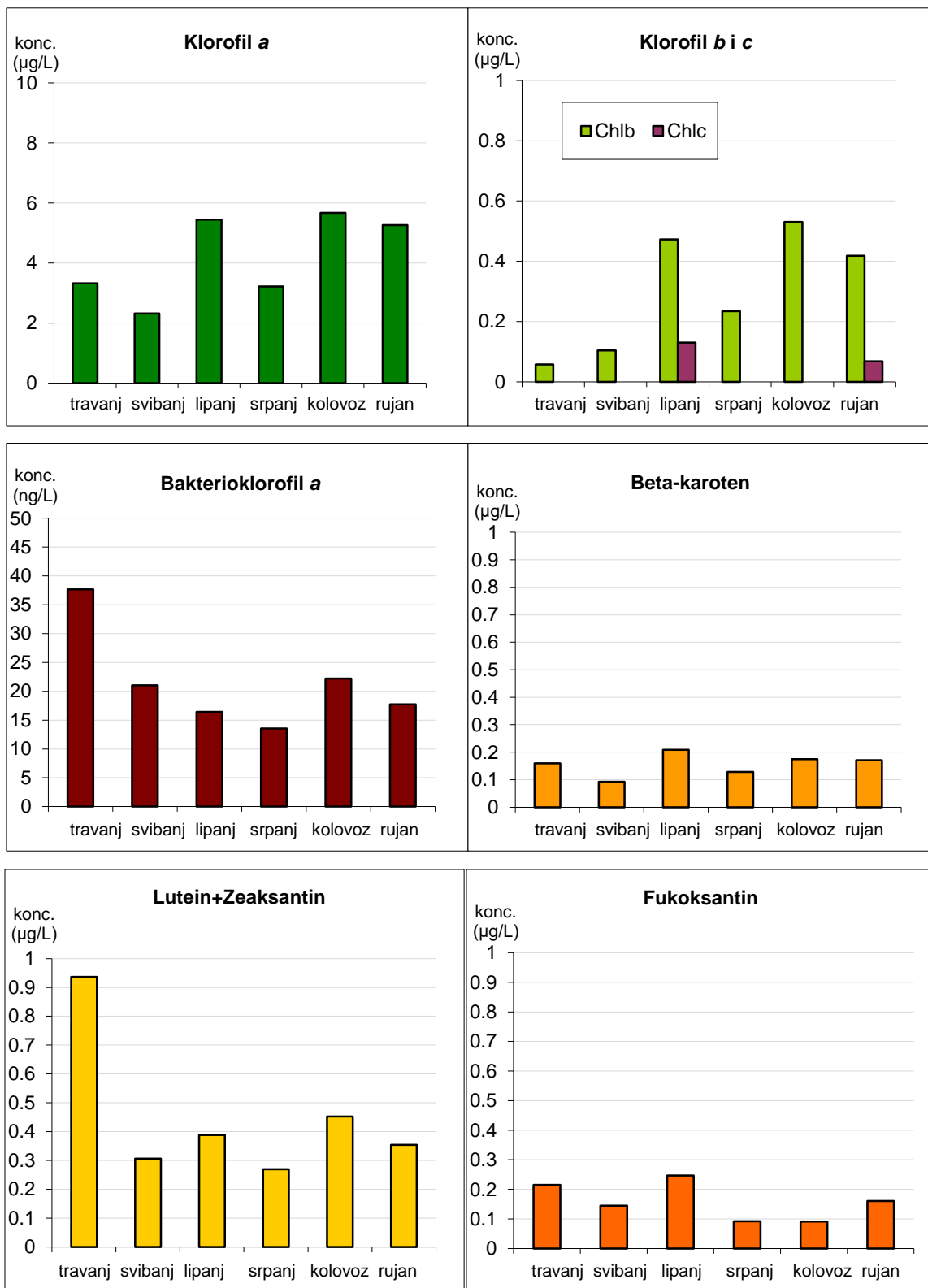
Vrijednosti klorofila *a* u jezeru Crniševo varirale su od 1,95 $\mu\text{g/L}$ (rujan) do 3,5 $\mu\text{g/L}$ (travanj). Vrijednosti klorofila *b* su varirale od 0 $\mu\text{g/L}$ (rujan) do 0,4 $\mu\text{g/L}$ (mjesec). Zanimljivo je za utvrditi da nije detektiran klorofil *c*. Bakterioklorofil *a* je varirao od 2,6 ng/L (svibanj) do 43,3 ng/L (kolovoz) (Slika 31). Koncentracije beta-karotena bile su dosta ujednačene od 0,1 $\mu\text{g/L}$ (svibanj) do 0,24 $\mu\text{g/L}$ (kolovoz). Vrijednosti zeaksantina i luteina varirale su od 0,34 $\mu\text{g/L}$ (svibanj) do 0,82 $\mu\text{g/L}$ (kolovoz). Fukoksantin je bio detektiran u vrlo niskim koncentracijama od 0,02 $\mu\text{g/L}$ (srpanj) do 0,15 $\mu\text{g/L}$ (travanj).





Slika 31. Raspodjela koncentracije pigmenata u Bačinskim jezerima; Crniševo, od travnja do rujna 2017. godine u µg/L ili ng/L

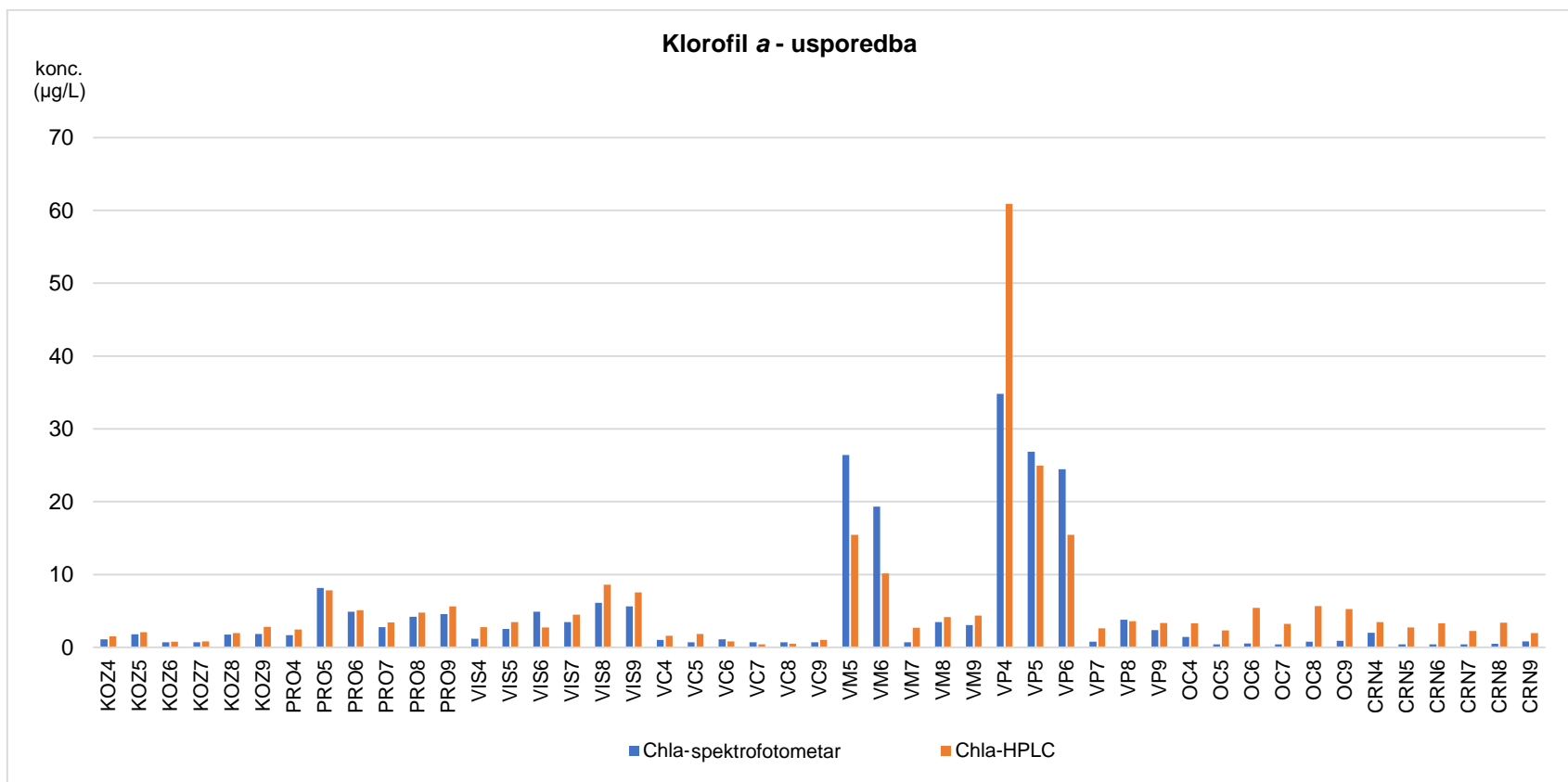
Koncentracije klorofila *a* u jezeru Oćuša bile su od 2,3 µg/L (svibanj) do 5,7 µg/L (kolovoz) (Slika 32). Klorofil *c* je detektiran u lipnju (0,12 µg/L) i rujnu 0,06 (µg/L). Klorofil *b* je varirao od 0,05 µg/L (travanj) do 0,53 µg/L (kolovoz). Najviša koncentracija bakterioklorofila *a* je identificirana u travnju (37,6 ng/L), a najniža u srpnju (13,5 ng/L). Vrijednosti beta-karotena bile su dosta niske od 0,09 µg/L (svibanj) do 0,21 µg/L (lipanj). Lutein i zeaxantin su bili detektirani u svim mjesecima s najvišom koncentracijom u travnju (0,96 µg/L) te najnižom u srpnju (0,27 µg/L). Fukoksantin je varirao od 0,09 µg/L (srpanj) do 0,25 µg/L (lipanj).



Slika 32. Raspodjela koncentracije pigmenata u Baćinskim jezerima; Oćuša, od travnja do rujna 2017. godine u µg/L ili ng/L

5.3. Usporedba koncentracije klorofila *a* izmjerenih dvjema različitim metodama: spektrofotometar i U-HPLC

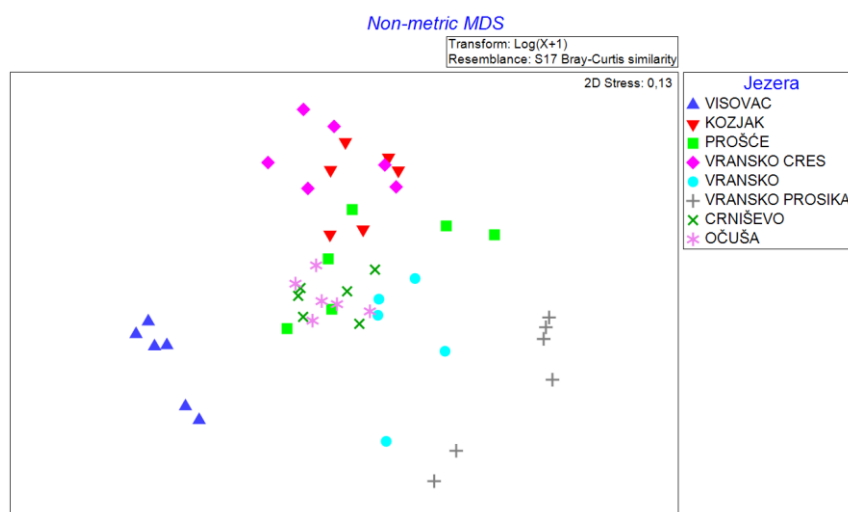
Usporedbom mjerenih vrijednosti klorofila *a* metodom na spektrofotometru i onih dobivenih U-HPLC metodom, uočavaju se određene razlike (Slika 33). Najveće razlike u mjerenim koncentracijama su uočene na podacima Vranskog jezera kod Biograda na moru i Baćinskih jezera. Vrijednosti dobivene na U-HPLC-u su bile više nego one izmjerene spektrofotometrijski.



Slika 33. Prikaz vrijednosti koncentracija klorofila a mjenjenih spektrofotometrom i U-HPLC metodom

5.4. Odnosi zajednice fitoplanktona na osnovi koncentracije pigmenta i fizikalno-kemijskih čimbenika u istraživanim jezerima

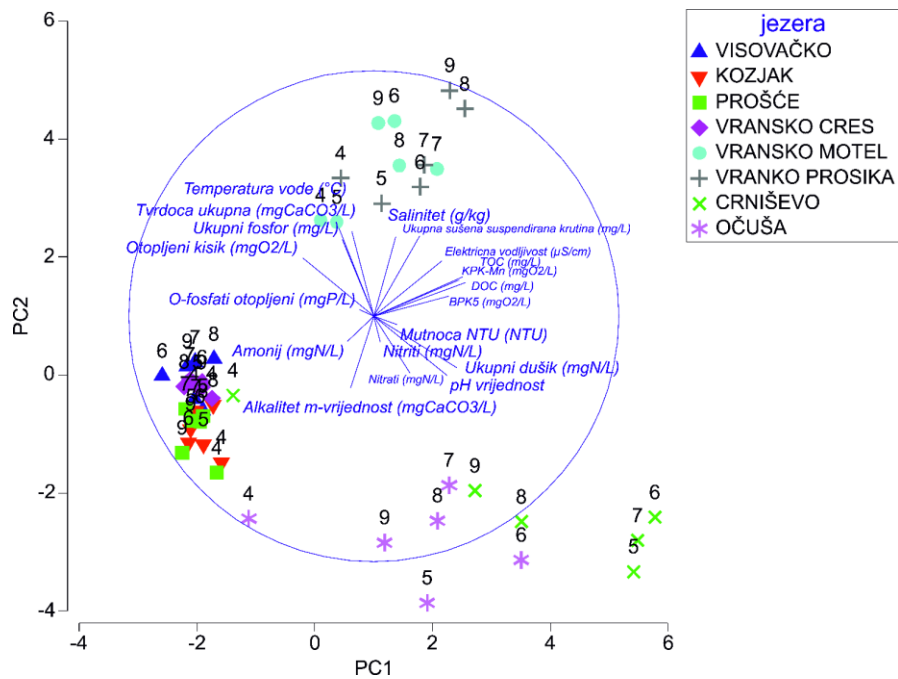
Metodom nemetričkog multidimenzionalnog skaliranja (NDMS) zajednica fitoplanktona na osnovi sastava pigmentata u razdoblju od travnja do rujna 2017. godine, grupirana je prema lokaciji pri čemu se jasno odvajaju Visovačko jezero i Vransko jezero kod Biograda. Također vidi se i odvajanje zajednice jezera Kozjak i Vranskog jezera na Cresu od jezera Prošće, Oćuša i Crniševo (Slika 34).



Slika 34. Dvodimenzionalni NMDS ordinacijski prikaz sastava zajednice fitoplanktona na temelju koncentracije i sastava pigmentata u razdoblju od travnja do rujna 2017. godine u istraživanim jezerima

Dvjema dimenzijama (PC1 i PC2) multivarijantne analize glavnih komponenti fizikalno–kemijskih čimbenika istraživanih jezera, objašnjeno je 59% varijabilnosti (Tablica 4). PC1 opisuje 30.1% ukupne varijabilnosti fizikalno-kemijskih čimbenika koje najbolje opisuju: KPK-Mn (mgO₂/L) (r=0,348), ukupni dušik (mgN/L) (r=0,340), DOC (mg/L) (r=0,374), TOC (mg/L) (r=0,365), dok PC2 opisuje 28,9% ukupne varijabilnosti fizikalno-kemijskih čimbenika koje najbolje određuju ukupna sušena suspendirana krutina (mg/L) (r=0,322), ukupna tvrdoća (mgCaCO₃/L) (r=0,345), ukupni fosfor (mg/L) (r=0,314), temperatura vode (°C), (r=0,357), salinitet (g/kg) (r=0,326). Na

ordinacijskom dijagramu vidljive su tri grupe: grupa 1 koja prema fizikalno-kemijskim čimbenicima obuhvaća dvije postaje u Vranskom jezeru kod Biograda, grupa 2 koja obuhvaća Crniševo i Oćušu te grupa 3 koju čine Visovačko jezero, Vransko jezero na Cresu te jezera Prošće i Kozjak (Slika 35).



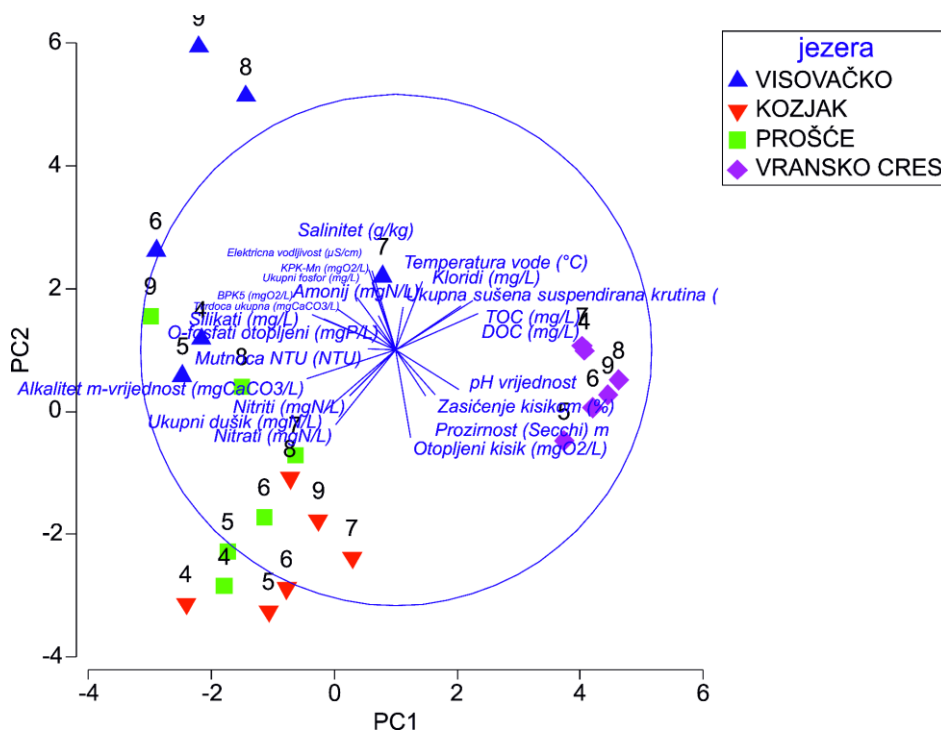
Slika 35. Ordinacijski dijagram PCA analize odnosa fizikalno-kemijskih čimbenika u istraživanim jezerima u razdoblju od travnja do rujna 2017 godine.

Tablica 7. Svojtvene vrijednosti prvih pet osi PCA analize s postocima ukupne varijance fizikalno-kemijskih čimbenika u istraživanim jezerima u razdoblju od travnja do rujna 2017 godine.

| PC | svojtvena vrijednost | % varijance | kumulativni % varijance |
|----|----------------------|-------------|-------------------------|
| 1 | 5,71 | 30,1 | 30,1 |
| 2 | 5,49 | 28,9 | 59,0 |
| 3 | 1,51 | 8,0 | 66,9 |
| 4 | 1,28 | 6,7 | 73,6 |
| 5 | 1,08 | 5,7 | 79,3 |

Prema fizikalno-kemijskim čimbenicima, Vransko jezero kod Biograda na moru te jezera Crniševo i Oćuša znatno se razlikuju od ostalih istraživanih jezera. Stoga su jezera Visovac, Kozjak, Prošće te Vransko jezero na Cresu u daljnoj analizi razmatrani zasebno.

Multivarijantnom analizom, metodom glavnih komponenti, odnos fizikalno–kemijskih čimbenika u jezerima Kozjak, Prošće, Visovačko jezero i Vransko jezero na Cresu opisan je s PCA osi 1 28.9% i PCA osi 2 24,6 % (Tablica 5). PC1 os najbolje određuju alkalitet (mgCaCO₃/L) (r=-0,351), ukupna tvrdoća (mgCaCO₃/L) (r=-0,329) i DOC (mg/L) (r=0,321), dok PC2 određuju konduktivitet (μS/cm) (r=0,313), otopljeni kisik (mgO₂/L) (r=0,343) i salinitet (g/kg) (r=0,310). Na ordinacijskom dijagramu prema odnosu fizikalno-kemijskih čimbenika i lokaliteta, Vransko jezero na Cresu vidljivo se odvaja od ostalih jezera. Također, vidljivo je grupiranje Kozjaka i Prošća u jedinstvenu skupinu, s iznimkom Prošća u kolovozu i rujnu (Slika 36).

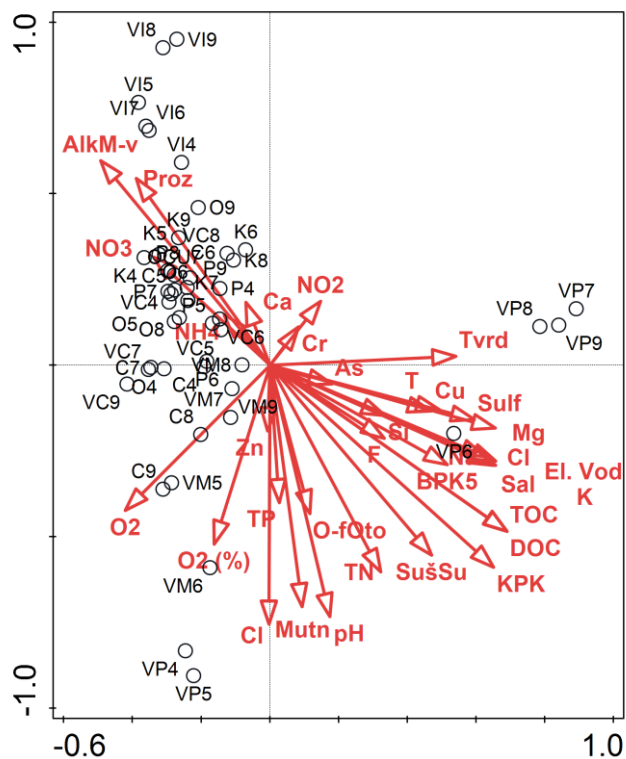


Slika 36. Ordinacijski dijagram PCA analize odnosa fizikalno-kemijskih čimbenika u jezerima Visovačko, Kozjak, Prošćansko i Vransko jezero na Cresu u razdoblju od travnja do rujna 2017 godine.

Tablica 8. Svojstvene vrijednosti prvih pet osi PCA analize s postocima ukupne varijance fizikalno-kemijskih čimbenika u jezerima Visovačko, Kozjak, Prošće i Vransko jezero na Cresu u razdoblju od travnja do rujna 2017 godine.

| PC svojstvena vrijednost | % varijance | kumulativni % varijance |
|--------------------------|-------------|-------------------------|
| 1 | 6,94 | 28,9 |
| 2 | 5,9 | 53,5 |
| 3 | 2,6 | 64,4 |
| 4 | 2,16 | 73,4 |
| 5 | 1,43 | 79,3 |

Kanonička analiza korespondencije sastava fitoplanktona, na osnovi koncentracije pigmenata i fizikalno kemijskih čimbenika u istraživanim jezerima, u razdoblju od travnja do rujna 2017., izdvaja alkalitet, prozirnost i koncentracije dušikovih spojeva kao glavne čimbenike koji određuju zajednicu fitoplanktona u Visovačkom jezeru (Tablica 6, Slika 37). Ordinacijski dijagram ukazuje da je fitoplanktonska zajednica na osnovi koncentracije pigmenata u Vranskom jezeru kod Biograda određena ukupnom koncentracijom otopljenih soli i salinitetom te količinom organske tvari i spojevima fosfora. U ostalim jezerima zajednica fitoplanktona je funkcija dušikovih spojeva i koncentracije kisika s p vrijednošću od 0,002.



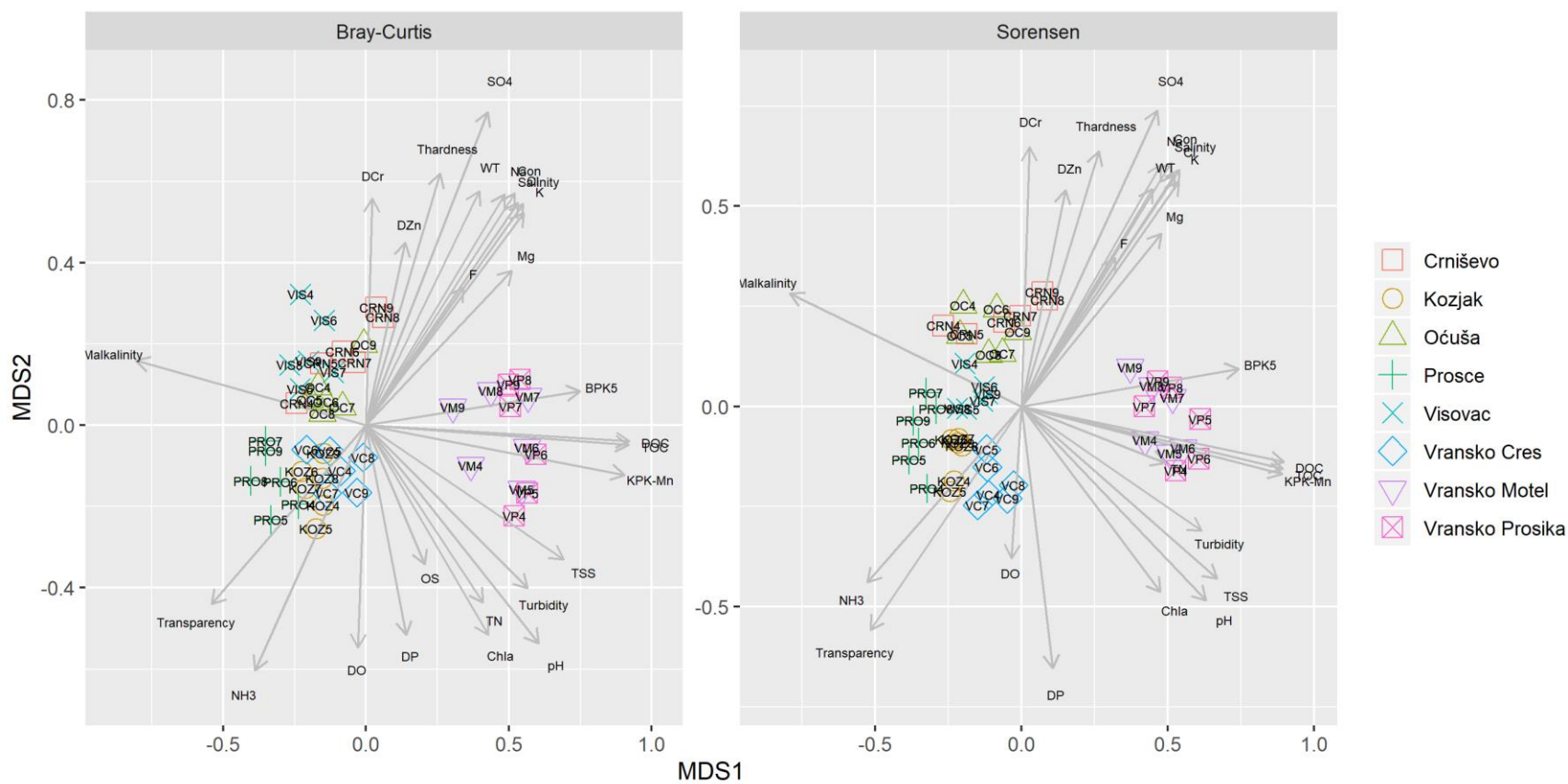
Slika 37. Kanonička analiza korespondencije (CCA) sastava fitoplanktona na osnovi koncentracije pigmentata i fizikalno-kemijskih čimbenika u istraživanim jezerima u razdoblju od travnja do rujna 2017

Tablica 6. Svojstvene vrijednosti tri osi CCA analize s postocima ukupne varijance sastava fitoplanktona na osnovi koncentracije pigmentata i fizikalno-kemijskih čimbenika u istraživanim jezerima u razdoblju od travnja do rujna 2017.

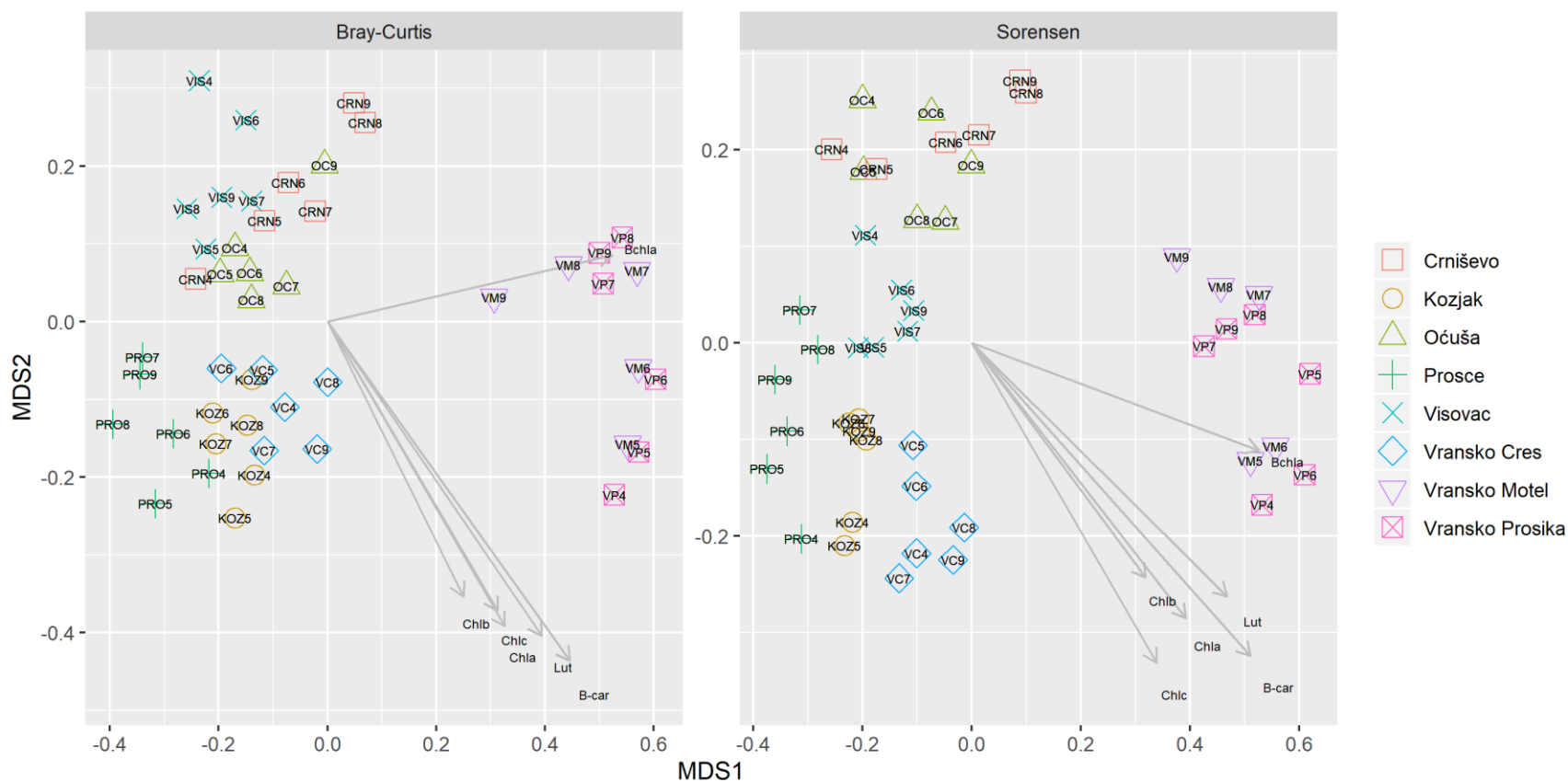
| CCA | svojstvena vrijednost | kumulativni % varijance | Pseudo-kanonička korelacija | Explained fitted variation (kumulativno) |
|-----|-----------------------|-------------------------|-----------------------------|--|
| 1 | 0.521 | 61.05 | 0.9943 | 62.93 |
| 2 | 0.1229 | 75.45 | 0.9793 | 77.77 |
| 3 | 0.1052 | 87.77 | 0.9707 | 90.47 |

Kako bi se olakšala vizualizacija dobivenih rezultata prethodno prikazane CCA analize, u daljnjoj NDMS analizi odvojeno su prikazane korelacije fizikalno-kemijskih parametara i koncentracija pigmenata s rezultatima podataka biomase fitoplanktona svih istraživanih područja. NMDS analiza rezultata podataka biomase zajednice fitoplanktona prema Bray-Curtisovom i Sorensenovom koeficijentu sličnosti prikazuje visok stupanj korelacije s više mjerenih fizikalno-kemijskih parametara (Slika 38, 39).

Zbog velikog odvajanja uzoraka prikupljenih u Vranskom jezeru kod Biograda na moru te radi bolje vizualizacije, napravljene su odvojene NMDS analize uzoraka biomase fitoplanktona s korelacijom fizikalno-kemijskih parametara i koncentracijom pigmenata za Vransko jezero kod Biograda na moru te za ostala istraživana jezera.



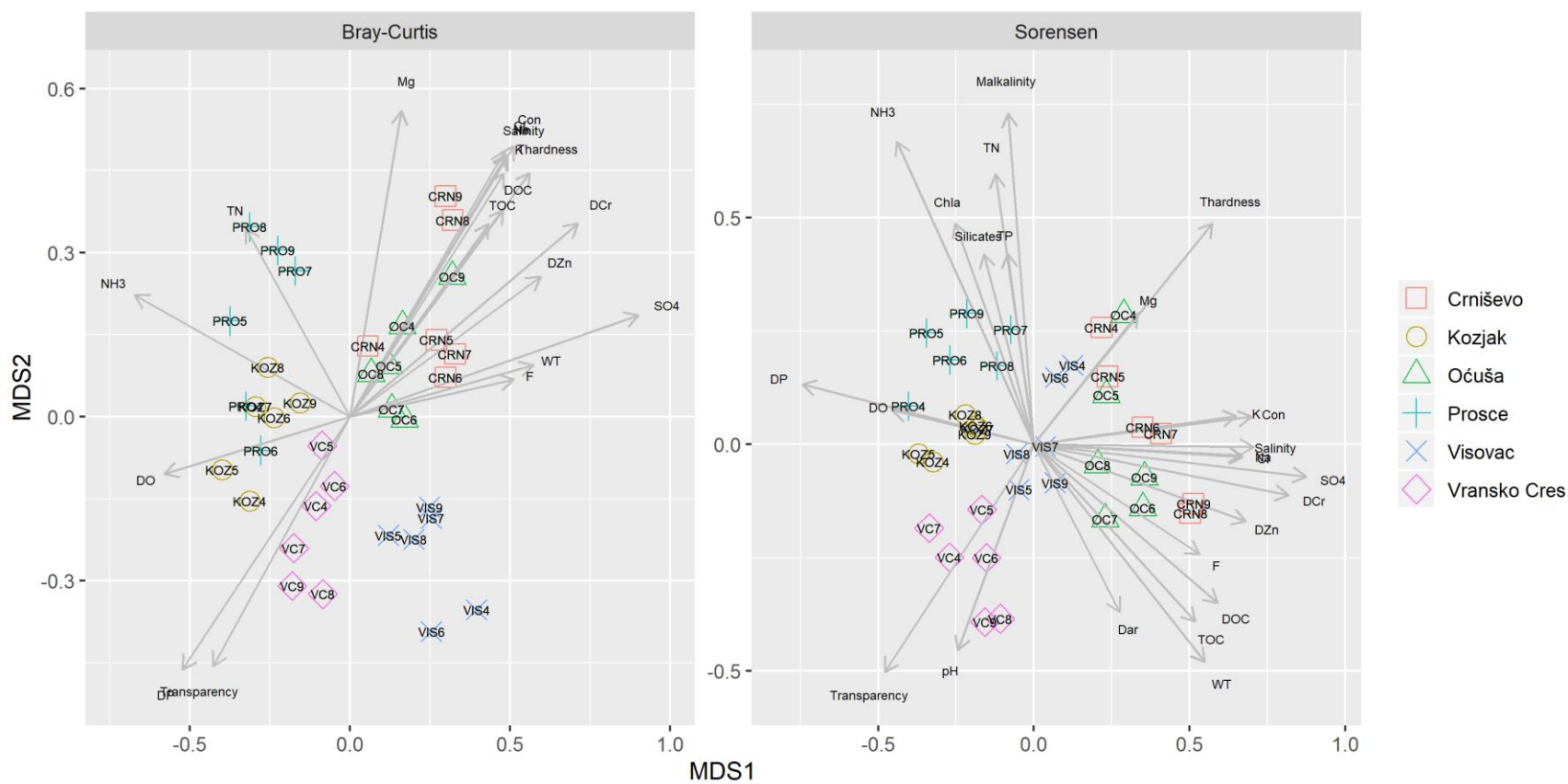
Slika 38. NMDS analiza rezultata podataka biomase fitoplanktonske zajednice svih istraživanih područja prema Bray-Curtisovom i Sorensenovom koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.05$.



Slika 39. NMDS analiza rezultata podataka biomase fitoplanktonske zajednice svih istraživanih područja prema Bray-Curtisovom i Sorensenovom koeficijentu sličnosti s prikazom koncentracija pigmenata s korelacijom $p \leq 0.05$.

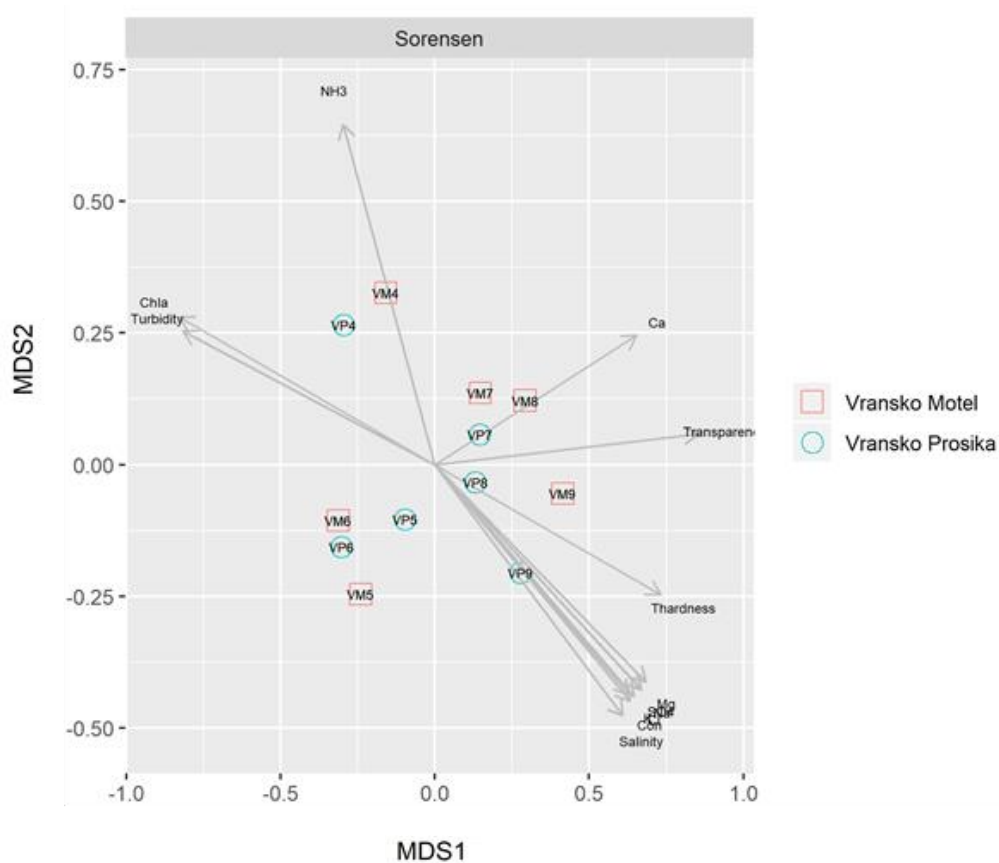
NMDS analiza rezultata podataka biomase fitoplanktonske zajednice postaja svih jezera, osim Vranskog jezera kod Biograda na moru, prema Bray-Curtisovom i Sorensenovom koeficijentu sličnosti prikazuje grupiranost uzoraka Baćinskih jezera i njihovu

korelaciju s fizikalno-kemijskim parametrima: TOC, DOC, SO₄, salinitetom, konduktivitetom te koncentracijom otopljenog cinka i fluorida. Grupacija uzoraka Plitvičkih jezera pokazuje korelaciju s: koncentracijom nitrata, ukupnom dušika i otopljenog kisika. Vransko jezero na Cresu pokazuje korelaciju s prozirnosti, dok uzorci Visovačkog jezera ne pokazuju znatnu korelaciju (Slika 40).



Slika 40. NMDS analiza rezultata podataka biomase fitoplanktonske zajednice istraživanih područja (isključene dvije postaje Vranskog jezera kod Biograda na moru) prema Bray-Curtisovom i Sorensenovom koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.05$.

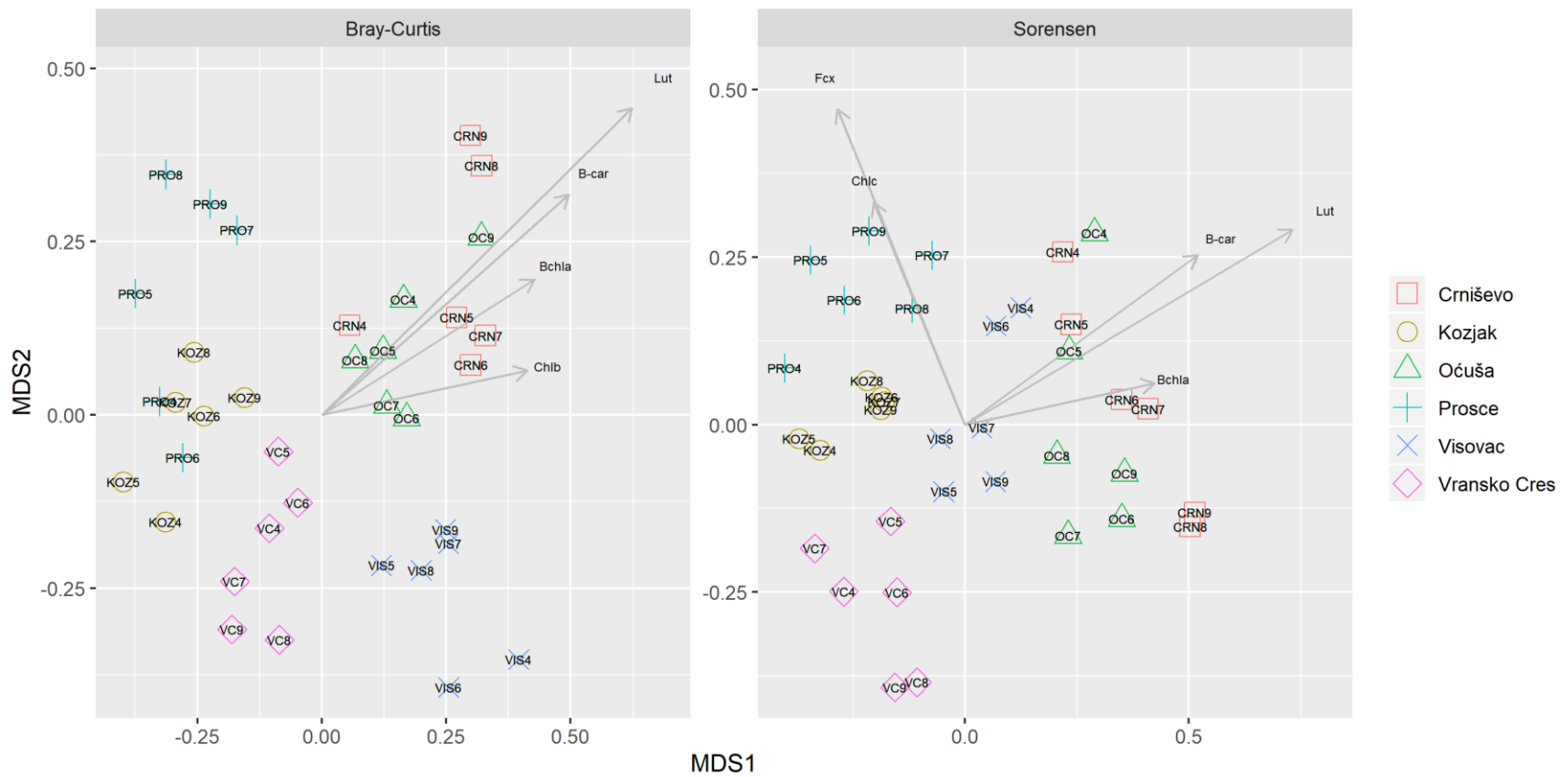
NMDS analiza rezultata podataka biomase fitoplanktonske zajednice Vranskog jezera kod Biograda na moru prema Sorensenovom koeficijentu sličnosti prikazuje mjesečno grupiranu korelaciju dviju postaja. U travnju korelacija se postiže s koncentracijom nitrata, a u ljetnim mjesecima sa salinitetom, konduktivitetom, ukupnom tvrdoćom, prozirnošću i koncentracijom kalcijevih iona (Slika 41).



Slika 41. NMDS analiza rezultata podataka biomase fitoplanktonske zajednice Vranskog jezera kod Biograda na moru prema Sorensenovom koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.05$

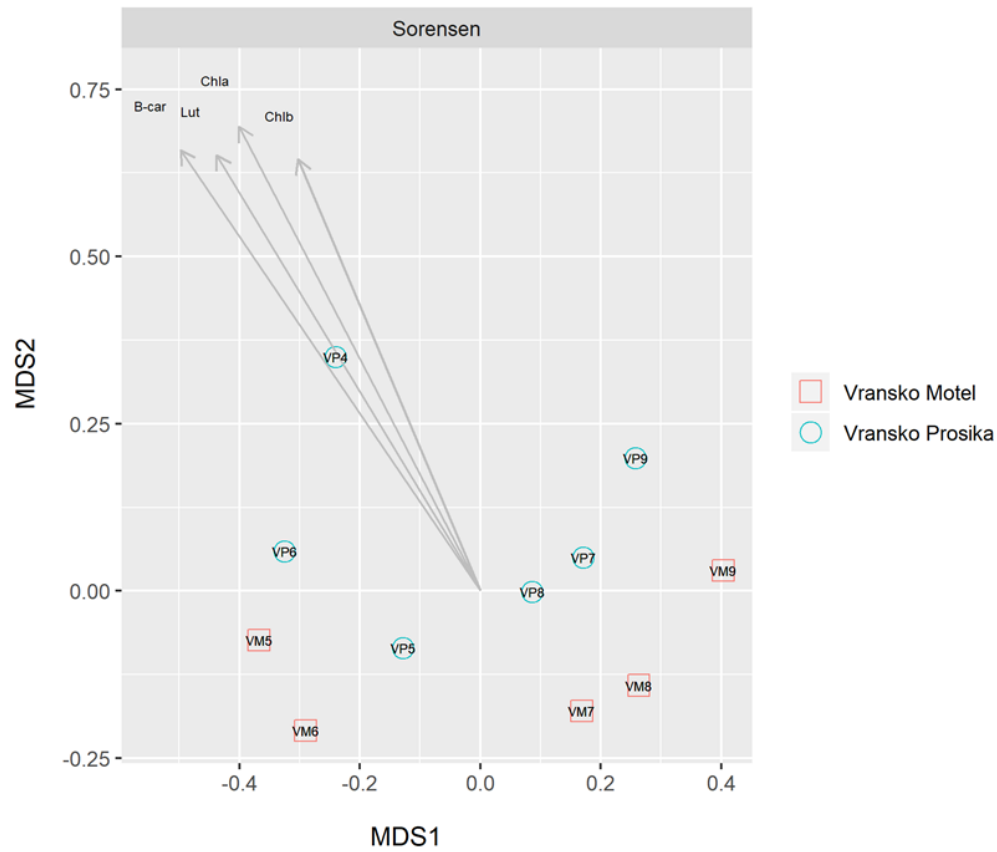
NMDS analiza rezultata podataka biomase fitoplanktonske zajednice Baćinskih jezera prema Bray-Curtisovom i Sorensenovom koeficijentu sličnosti prikazuje korelaciju sa sljedećim koncentracijama pigmenata: lutein, beta karoten, bakterioklorofil a, klorofil b. Prema

Sorensenovom koeficijentu sličnosti, postaja Prošće korelira s koncentracijama fukoksantina i klorofila c (Slika 42).



Slika 42. NMDS analiza rezultata podataka biomase fitoplanktonske zajednice istraživanih područja (isključene dvije postaje Vranskog jezera kod Biograda na moru) prema Bray-Curtisovom i Sorensenovom koeficijentu sličnosti s prikazom koncentracije pigmenata s korelacijom $p \leq 0.05$

NMDS analiza rezultata podataka biomase fitoplanktonske zajednice Vranskog jezera kod Biograda na moru prema Sorensenovom koeficijentu sličnosti prikazuje korelaciju samo u travnju na postaji Prosika s koncentracijama pigmentata: lutein, beta karoten, klorofil a i b (Slika 43).



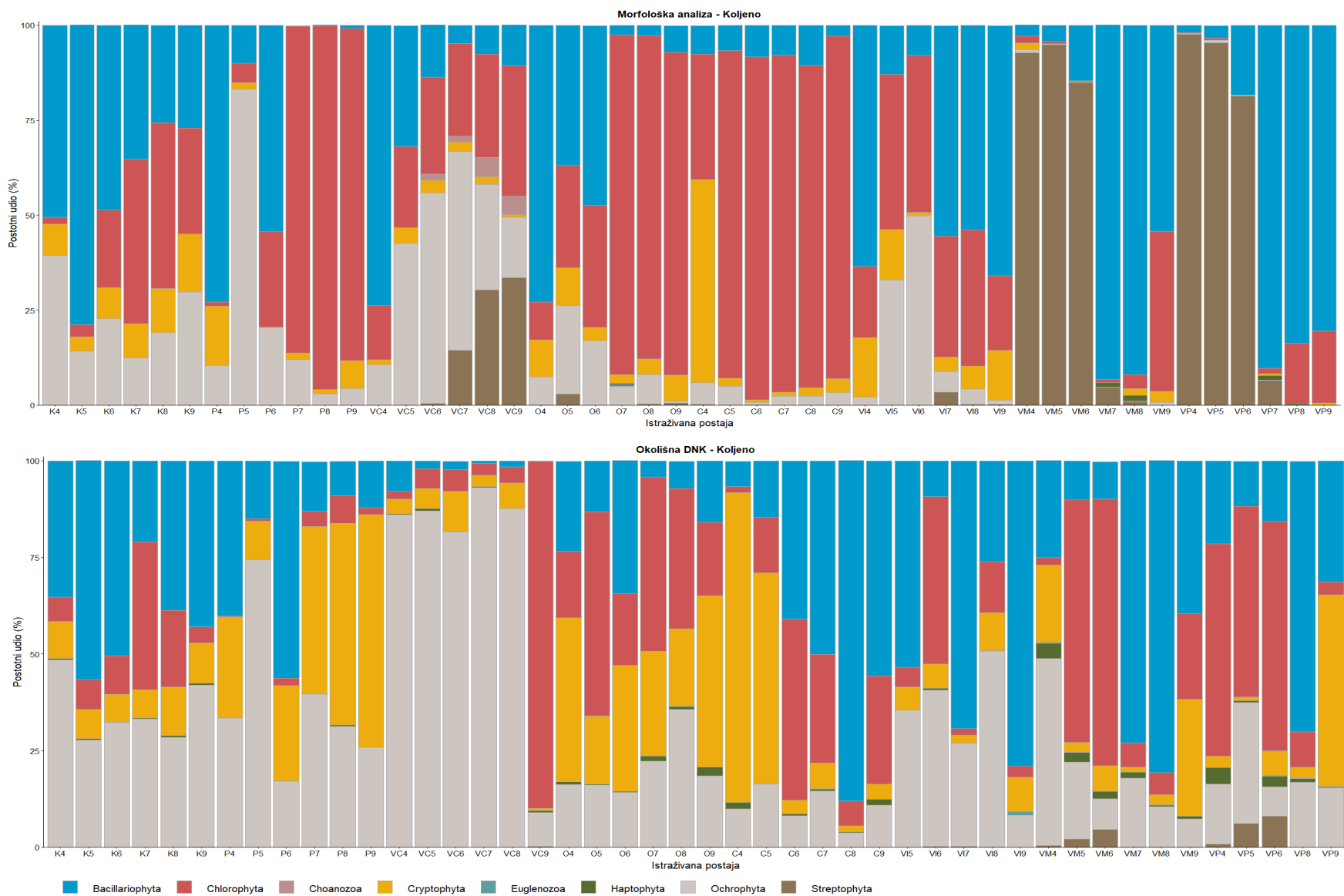
Slika 43. NMDS analiza rezultata podataka biomase fitoplanktonske zajednice Vranskog jezera kod Biograda na moru prema Sorensenovom koeficijentu sličnosti s prikazom koncentracije pigmentata s korelacijom $p \leq 0.05$

5.5. Usporedba morfološke i molekularne analize istraživanih postaja

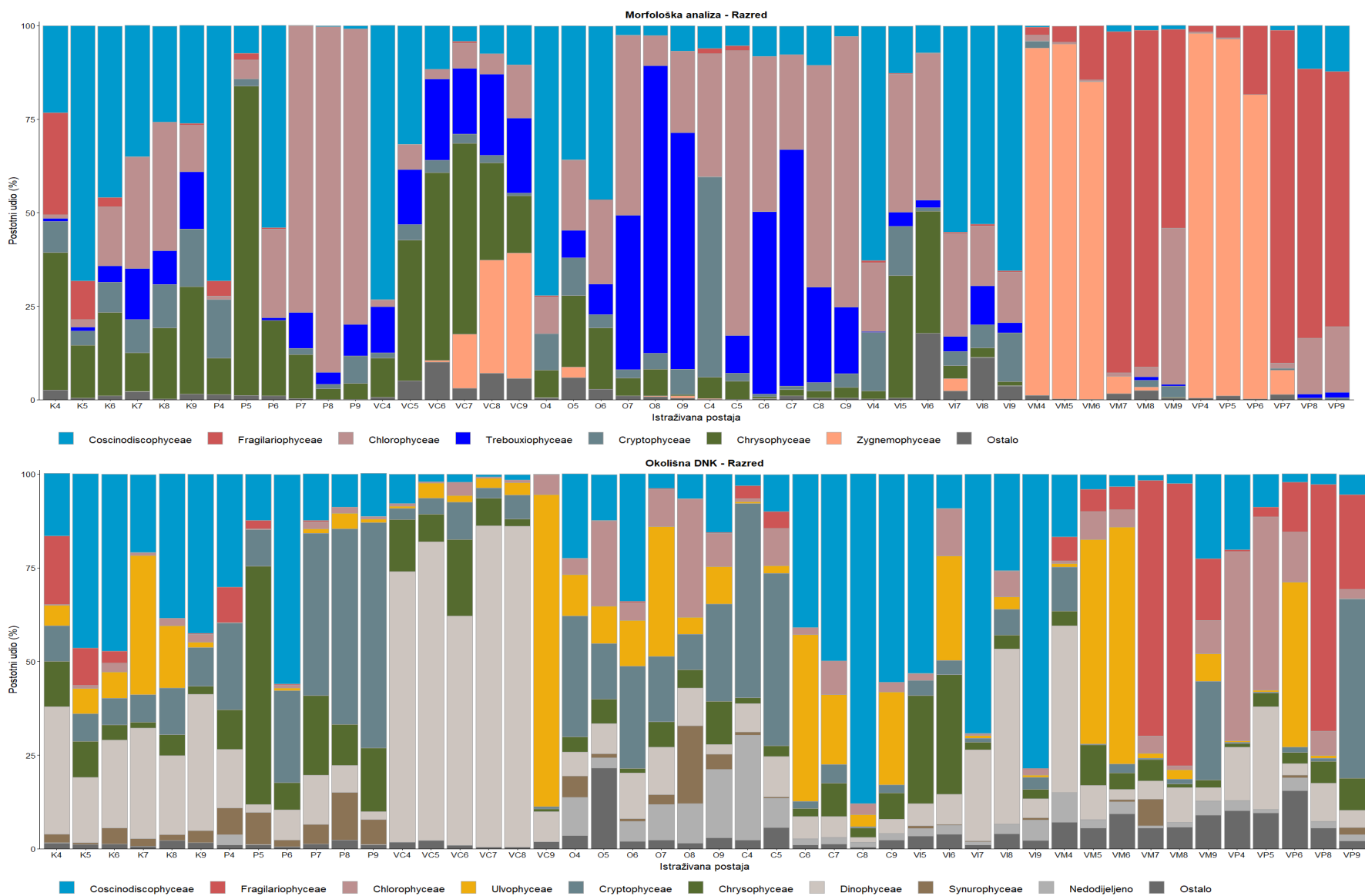
Prema morfološkoj analizi, u 48 uzoraka utvrđeno je osam različitih koljena (Cyanobacteria, Bacillariophyta, Charophyta, Chlorophyta, Ochrophyta, Cercozoa, Euglenozoa i Miozoa), sa sveukupno 217 svojti (u prosjeku 27 svojti po uzorku \pm 6). Pet najzastupljenijih svojti prema ukupnoj relativnoj učestalosti su *Cosmarium tenue* (Archer, 1868) (38.82%), *Tabularia* sp. (17.06%), *Sphaerocystis schroeteri* (Chodat, 1897) (3.26%), *Ceratium hirundinella* ((O.F. Müller) Dujardin, 1841) (3.88%) i *Pantocsekiella ocellata* ((Pantocsek) K. T. Kiss i E. Ács, 2016) (3.41%). Raspon ukupnog broja svojti po uzorku kretao se od 13 (uzorak VM5) do 39 (uzorak VC5).

Prema molekularnoj analizi Illumina MiSeq, sekvenciranje 48 uzoraka rezultiralo je dobivanjem 78 504 039 nukleotidnih sljedova (u prosjeku 1 706 610 \pm 685 631 nukleotidnih sljedova po uzorku). Raspon broja nukleotidnih sljedova po uzorku nakon uklanjanja "chimera" sljedova kretao se od 508 216 (uzorak VC6) do 3 281 134 (uzorak VP6), a prosječna duljina nukleotidnog slijeda bila je od 90 do 150 parova baza. Većina nukleotidnih sljedova uspješno je taksonomski klasificirana (u prosjeku 268 337 \pm 204 888 nukleotidnih sljedova ciljanih svojti po uzorku). Svaki je uzorak u prosjeku sadržavao 1079 \pm 278 OTU-a (98% identiteta slijeda; sveukupno 8871 OTU-a), od kojih je u prosjeku 35% bilo singleton-a (OTU koji se pojavljuje sa samo jednim nukleotidnim slijedom u cijelom uzorku). Četiri najzastupljenije svojte prema ukupnoj relativnoj učestalosti su *P. ocellata* (18.80%), *Gymnodinium* sp. (8.30%), *Dinobryon divergens* (O. E. Imhof, 1887) (5.74%) i *Cyclotella cryptica* (Reimann, J. C. Lewin i Guillard, 1963) (5.45%).

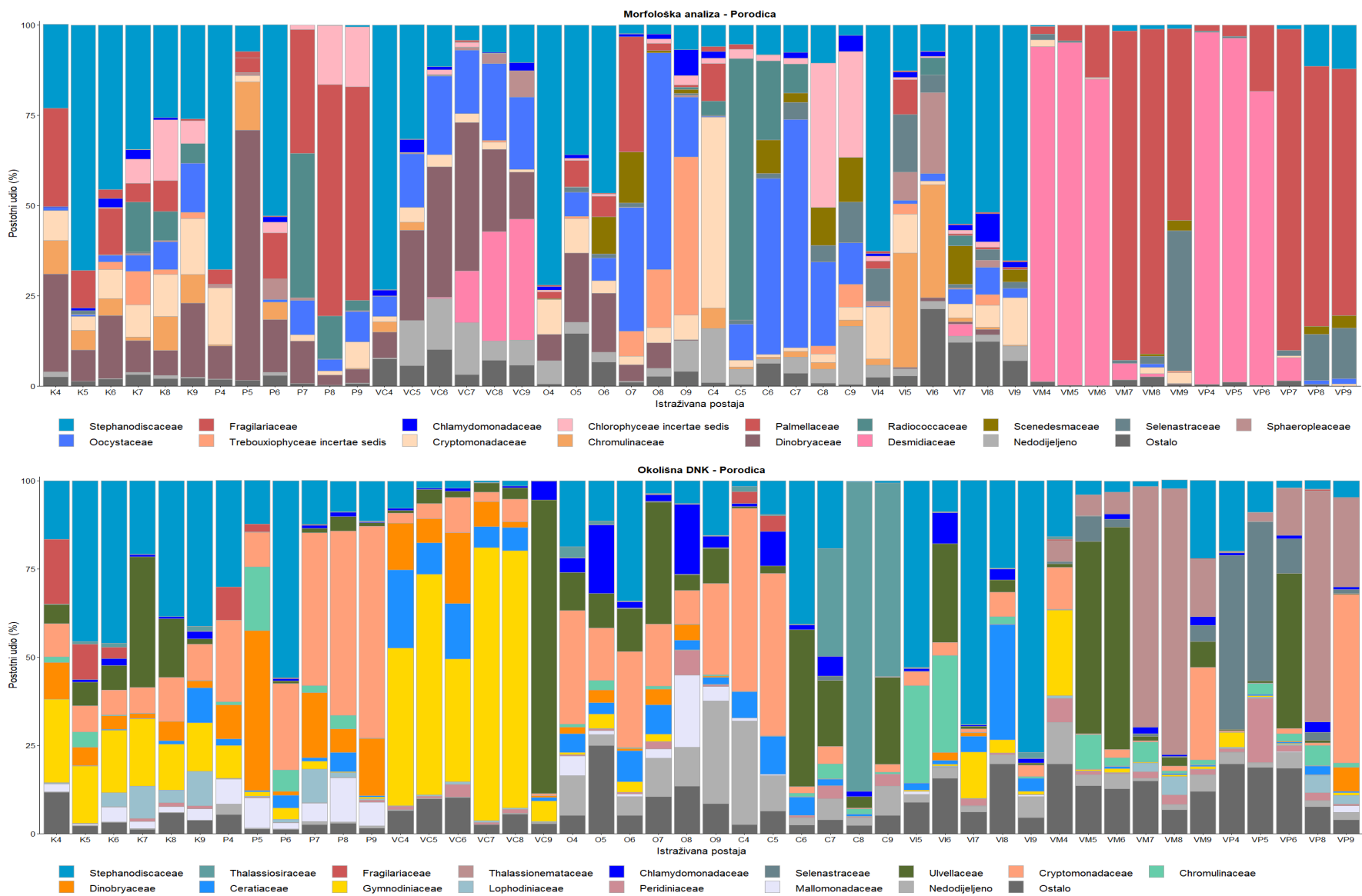
Usporedba razlike bioraznolikosti populacije između istraživanih postaja dobivenih morfološkom analizom (mikroskopijom) i molekularnom analizom (oDNK) postignuta je dodjeljivanjem iste taksonomske klasifikacije te izdvajanjem ciljanih OTU-ova. Izjednačavanjem taksonomske klasifikacije utvrđenih svojti (morfološka analiza) i OTU-ova (oDNK) prema klasifikaciji dostupnoj na NCBI-u (Nacionalni centar za biotehnološke informacije, NCBI), bioraznolikost je prikazana na razini koljena, razreda i porodice (Slika 44, 45 i 46). Preklapanje podataka morfološke i molekularne identifikacije prikazano je u Prilogu 1.



Slika 44. Usporedba rezultata bioraznolikosti dobivenih morfološkom i molekularnom analizom na razini koljena.

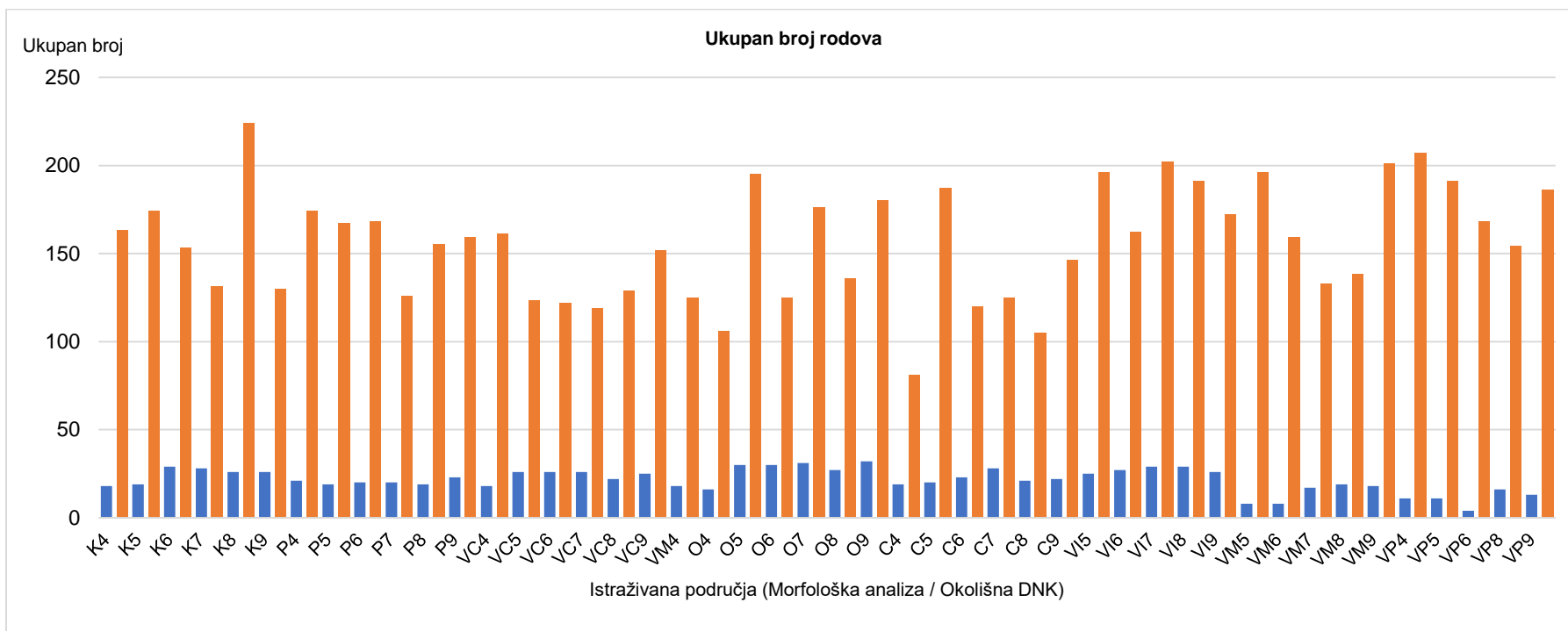


Slika 45. Usporedba rezultata bioraznolikosti dobivenih morfološkom i molekularnom analizom na razini razreda.



Slika 46. Usporedba rezultata bioraznolikosti dobivenih morfološkom i molekularnom analizom na razini porodice.

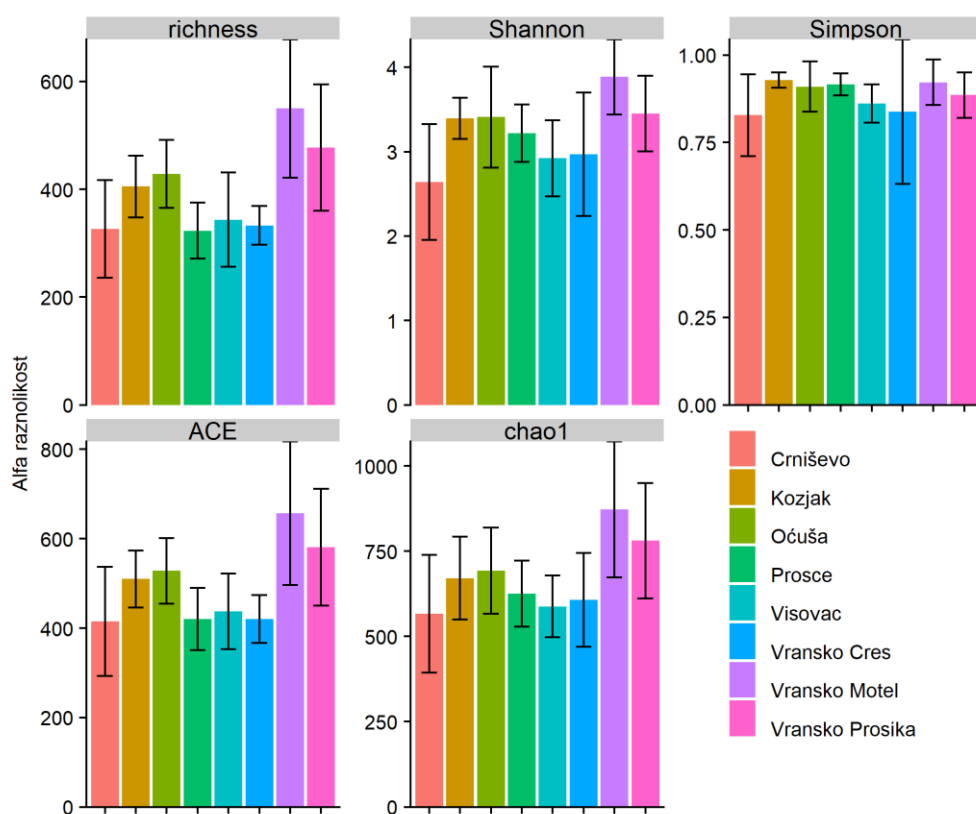
Razlika između analiza bioraznolikosti istraživanih područja vidljiva je već na razini koljena. Iz rezultata analiza vidljivo je da je utvrđena značajno veća raznolikost molekularnom metodom u odnosu na klasičnu morfološku analizu mikroskopijom (Slika 47).



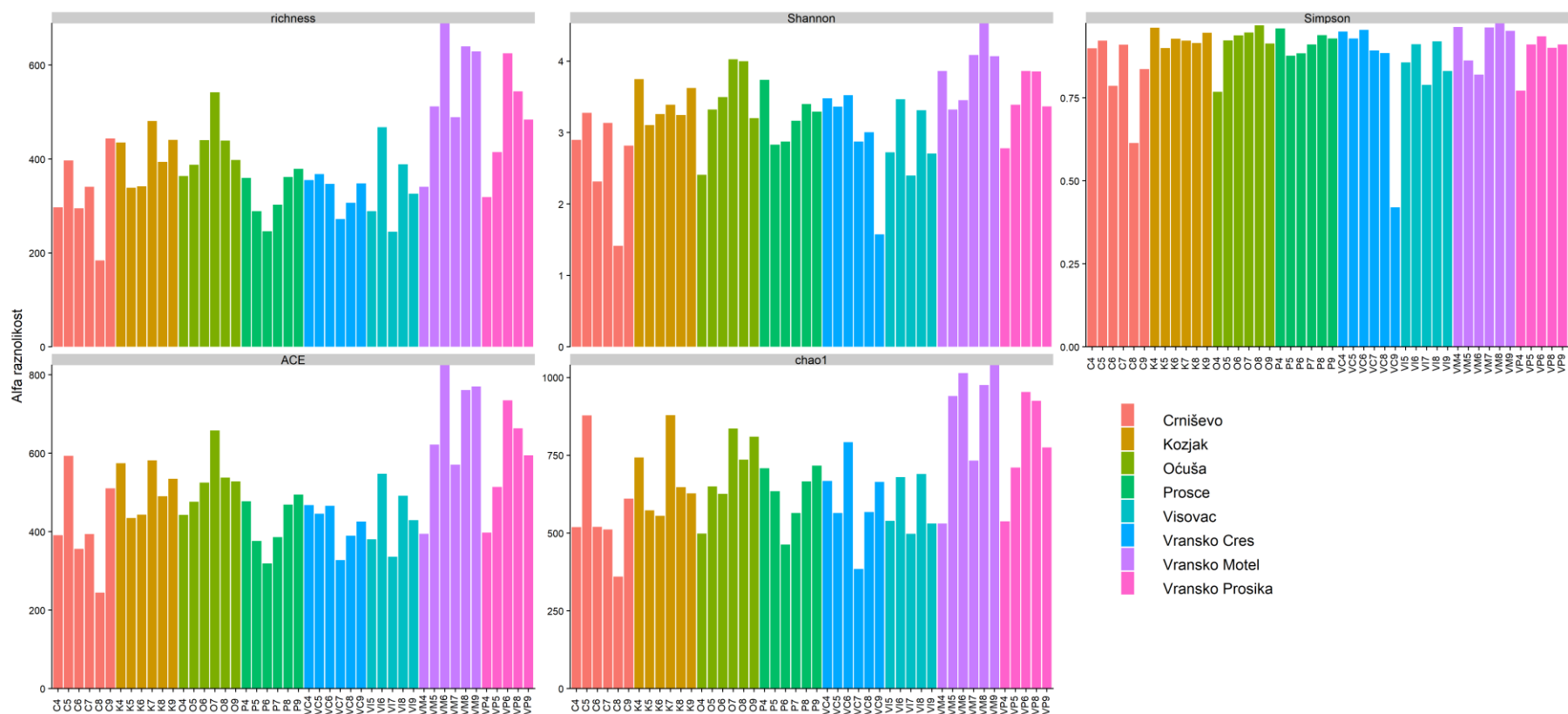
Slika 47. Usporedba ukupnog broja utvrđenih rodova na temelju morfološke analize (plavo) i molekularne analize (narančasto).

5.6. Bioraznolikost istraživanih područja dobivenih molekularnom metodom

Alfa biološka raznolikost istraživanih područja prikazana je indeksima brojnosti, Shannonovim te Simpsonovim indeksom na temelju oDNK (OTU-ova) (Slika 48). Najveća bioraznolikost utvrđena je kod uzoraka Vranskog jezera kod Biograda na moru. Brojnost, CHAO1 i ACE indeksi pokazuju iste vrijednosti. Crniševo pokazuje najmanju alfa bioraznolikost. Izračunate alfa biološke raznolikosti pokazuju sezonsku dinamiku mjeseca (Slika 49).

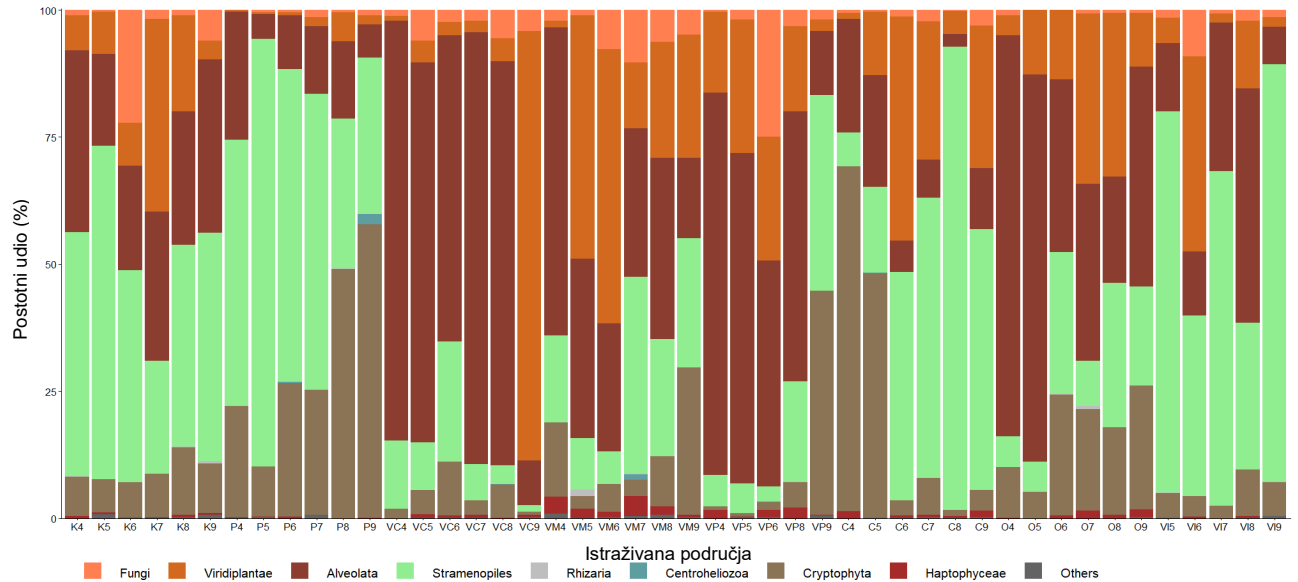


Slika 48. Prikaz prosječne alfa biološke raznolikosti istraživanih područja na temelju oDNK (OTU-ova). Brojnost, Shannonov indeks, Simpsonov indeks, ACE indeks i CHAO1 indeks (brojnost).

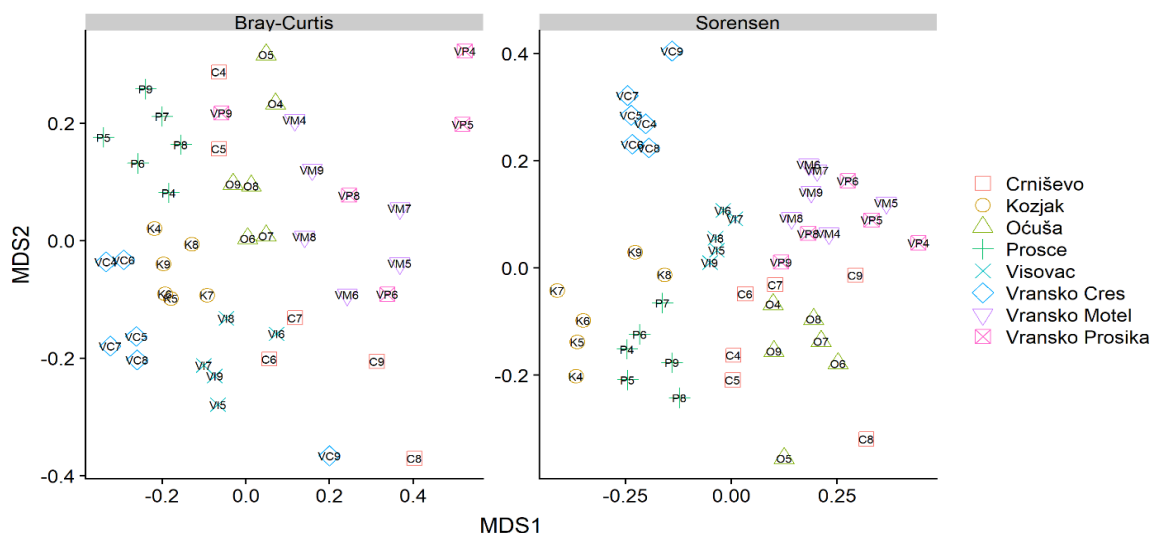


Slika 49. Sezonski prikaz alfa biološke raznolikosti istraživanih područja na temelju oDNK (OTU-ova). Brojnost, Shannonov indeks, Simpsonov indeks, ACE indeks i CHAO1 indeks (brojnost).

Molekularnom analizom dokazana je značajna razlika bioraznolikosti između jezera i unutar jezera tijekom perioda od travnja do rujna 2017. godine (Slika 50). NMDS analiza OTU-ova svih istraživanih područja prema Bray-Curtis koeficijentu sličnosti pokazala je manju raznolikost između uzoraka nego Sorensenov koeficijent sličnosti (Slika 51).



Slika 50. Bioraznolikost istraživanih jezera na razini koljena. Prikazan postotni udio svih OTU-ova (98% identiteta slijeda).



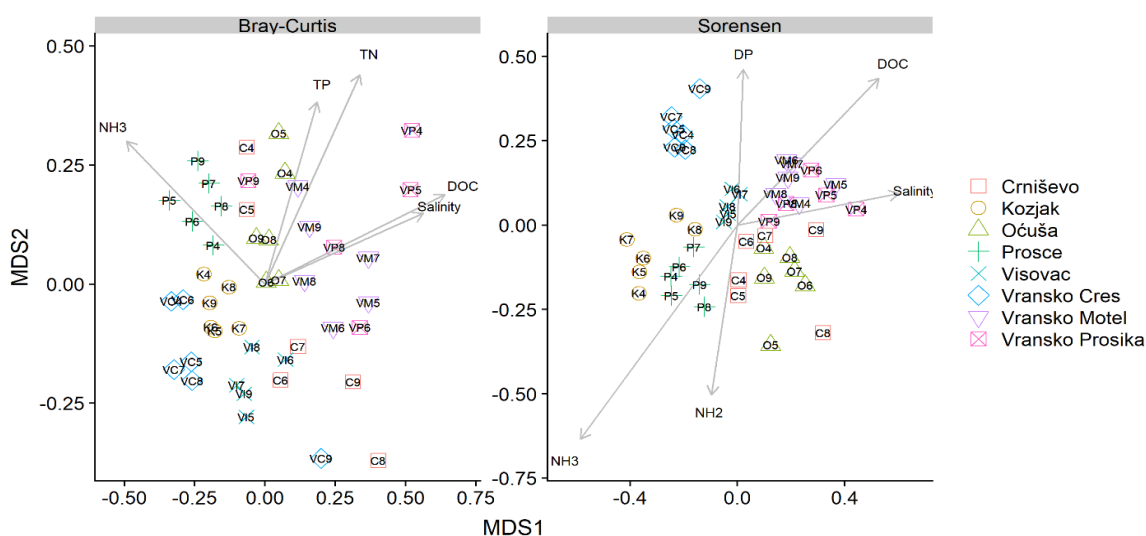
Slika 51. NMDS analiza OTU-ova istraživanih jezera prema Bray-Curtisovom i Sorensenovom koeficijentu sličnosti.

Za potrebe grafičkog prikaza korelacije fizikalno-kemijskih parametara s NMDS analizom uzorkovanih postaja korištene su skraćenice prikazane u tablici (Tablica 7).

Tablica 7. Korištene skraćenice u grafičkim prikazima

| Skraćenica | Parametar | Skraćenica | Parametar |
|-----------------|---|-----------------|--|
| pH | pH vrijednost | TOC | TOC (mg/L) |
| Con | Elektricna vodljivost ($\mu\text{S}/\text{cm}$) | Ca | Kalcij (mg/L) |
| TSS | Ukupna sušena suspendirana krutina (mg/L) | Mg | Magnezij (mg/L) |
| Alk | Alkalitet m-vrijednost (mgCaCO ₃ /L) | SO ₄ | Sulfati (mg/L) |
| Thardness | Tvrdoća ukupna (mgCaCO ₃ /L) | Cl | Kloridi (mg/L) |
| Turbidity | Mutnoća NTU (NTU) | Silicates | Silikati (mg/L) |
| DO | Otopljeni kisik (mgO ₂ /L) | Na | Natrij (mg/L) |
| OS | Zasićenje kisikom (%) | K | Kalij (mg/L) |
| KPK-Mn | KPK-Mn (mgO ₂ /L) | F | Fluoridi (mg/L) |
| BPK5 | BPK5 (mgO ₂ /L) | Transparency | Prozirnost (Secchi) m |
| NH ₄ | Amonij (mgN/L) | Chla | Klorofil a ($\mu\text{g}/\text{L}$) |
| NH ₂ | Nitriti (mgN/L) | WT | Temperatura vode ($^{\circ}\text{C}$) |
| NH ₃ | Nitrati (mgN/L) | Salinity | Salinitet (g/kg) |
| TN | Ukupni dušik (mgN/L) | DCu | Bakar otopljeni ($\mu\text{g}/\text{L}$) |
| DP | O-fosfati otopljeni (mgP/L) | DZn | Cink otopljeni ($\mu\text{g}/\text{L}$) |
| TP | Ukupni fosfor (mg/L) | Dar | Arsen otopljeni ($\mu\text{g}/\text{L}$) |
| DOC | DOC (mg/L) | DCr | Krom otopljeni ($\mu\text{g}/\text{L}$) |

NMDS analiza prema Sorensenonovom koeficijentu prikazuje prostornu grupiranost uzoraka. Prikazana je korelacija koncentracije amonijaka na području Plitvičkih jezera (Kozjak i Prošće) te značajan utjecaj saliniteta i organske tvari na postajama Vranskog jezera kod Biograda na moru. Tijekom ljetnih mjeseci u jezeru Crniševo utvrđena je korelacija sa salinitetom (Slika 52).



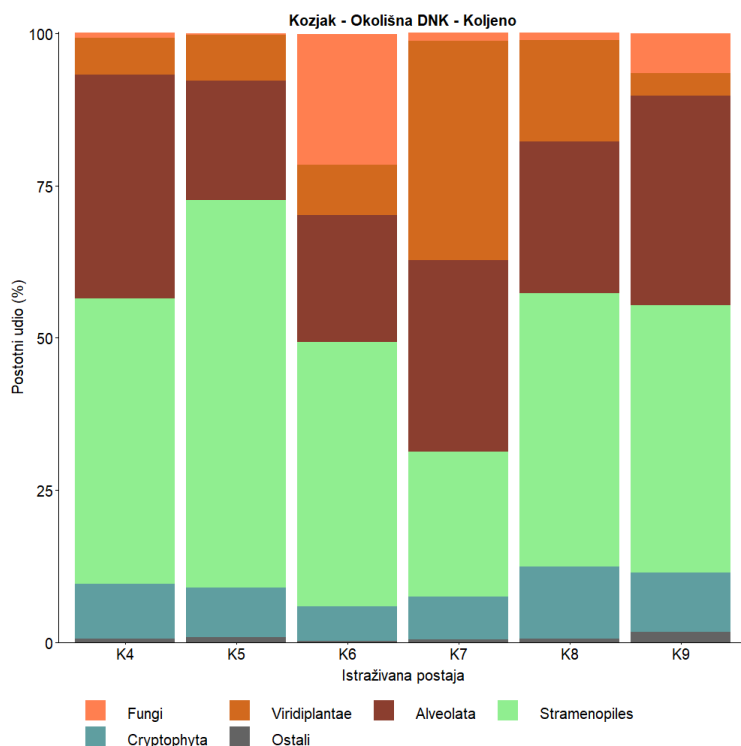
Slika 52. NMDS analiza OTU-ova istraživanih područja prema Bray-Curtis i Sorensen koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.

Zbog utvrđene značajne razlike između dviju postaja na Vranskom jezeru kod Biograda na moru, one su izdvojene u daljnjoj NMDS analizi od ostalih jezera.

Na NMDS prikazu vidljivo je grupiranje Vranskog jezera na Cresu te Kozjaka i Prošćanskog jezera (Bray-Curtis). Desni prikaz Sorensenovim koeficijentom sličnosti prikazuje još bolju razlučivost te se jezera mogu jako lijepo odvojiti, osim u slučaju Baćinskih jezera (Oćuša i Crniševo) (Slika 53).

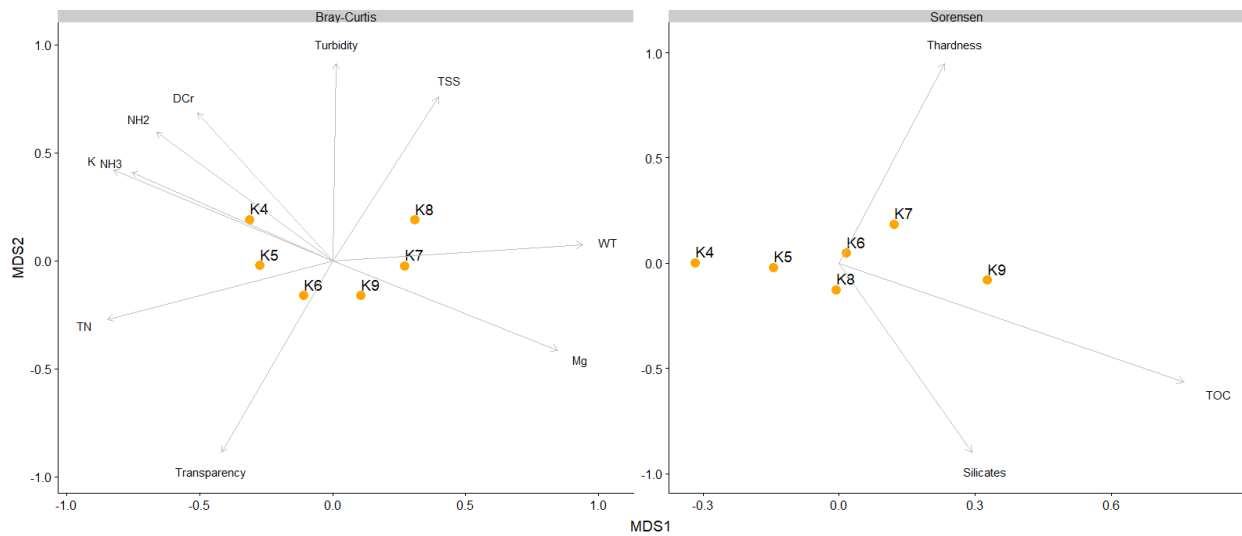
5.6.1. Bioraznolikost jezera Kozjak

U prikazu sezonske bioraznolikosti postaje na jezeru Kozjak uočava se dominacija koljena Stramenopiles, izuzev srpanjskog rezultata kada dominira Viridiplantae (Slika 55). Bitno je za naglasiti da je postotni udio kategorije Ostali manji od 1%.



Slika 55. Sezonska bioraznolikost jezera Kozjak na razini koljena.

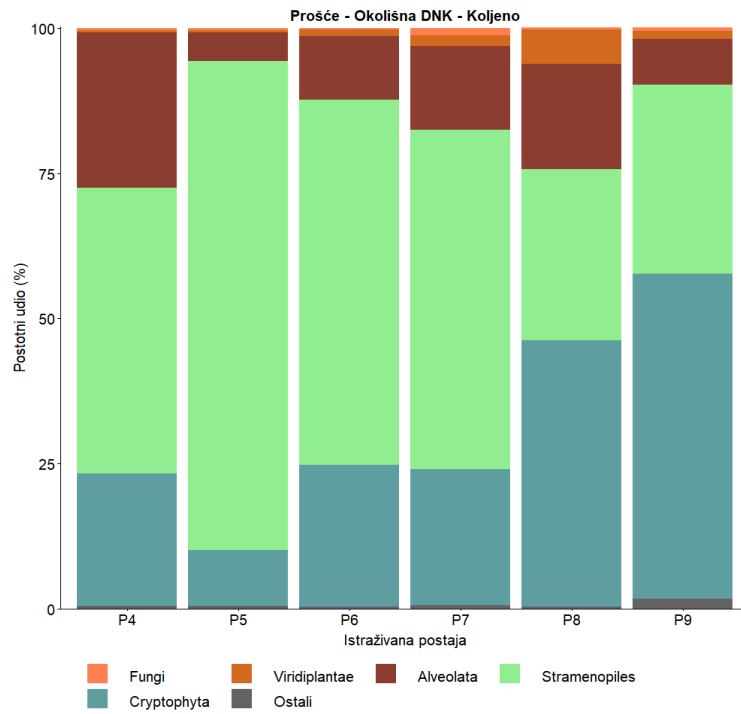
Iz prikaza NMDS analize jezera Kozjak i fizikalno-kemijskih parametara pomoću Bray-Curtisovog i Sorensenovog koeficijenta sličnosti vidljivo je da se tijekom različitih mjeseci ovisnost bioraznolikosti i određenih fizikalno-kemijskih parametara mijenja (Slika 56). Na Sorensenovom grafičkom prikazu, u rujnu se vidi veća korelacija s koncentracijom ukupnog organskog ugljika.



Slika 56. NMDS analiza OTU-ova jezera Kozjak prema Bray-Curtis i Sorensen koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.

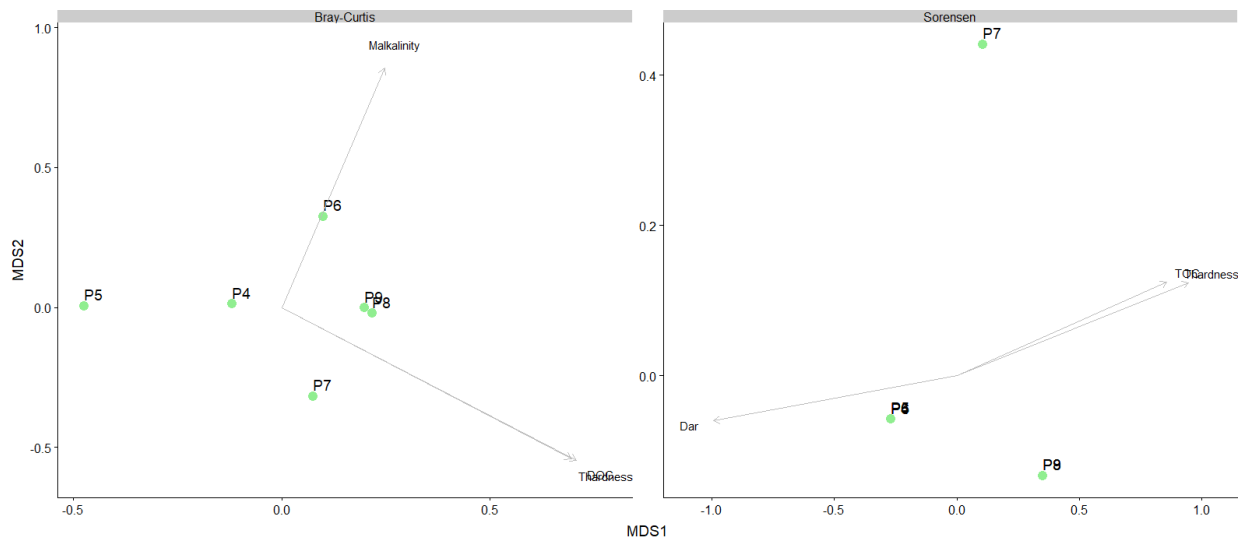
5.6.2. Bioraznolikost Proščanskog jezera

Na postaji Prošće na Proščanskom jezeru vidljiva je dominacija koljena Stramenopiles, izuzev kolovoz i rujan (Slika 57). U kolovozu dominaciju preuzima koljeno Cryptophyta i nastavlja ju bilježiti i u rujnu. Osim ta dva koljena vidljiv je i značajan udio koljena Alveolata. Postotni udio kategorije Ostali manji od 1%.



Slika 57. Sezonska bioraznolikost Prošćanskog jezera na razini koljena.

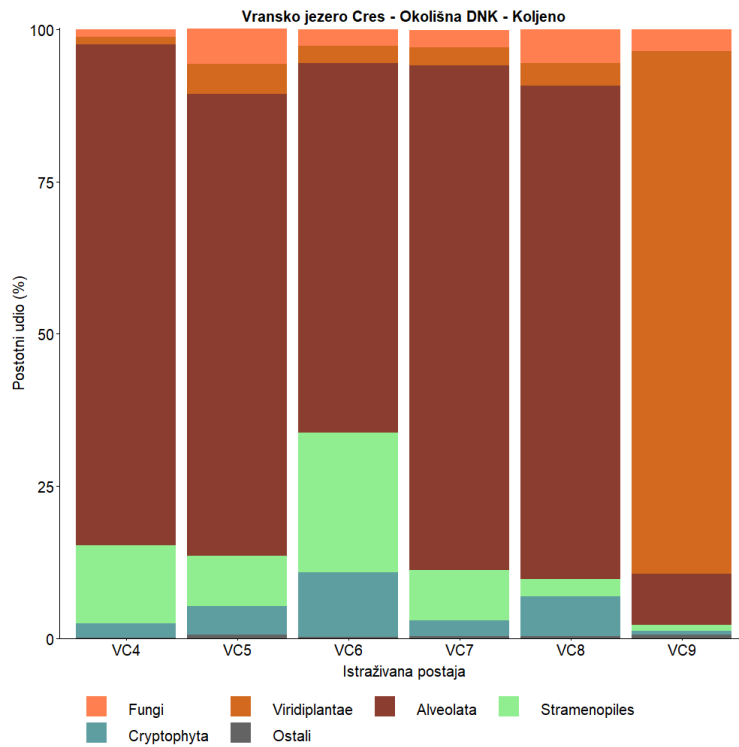
NMDS analiza prema Bray-Curtisu pokazuje korelaciju između lipanjske fitoplanktonske populacije s alkalinitetom te korelaciju DOC koncentracija i ukupne tvrdoće s populacijama uzorkovanih od srpnja do rujna (Slika 58).



Slika 58. NMDS analiza OTU-ova Prošćanskog jezera prema Bray-Curtisovom i Sorensenovom koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.

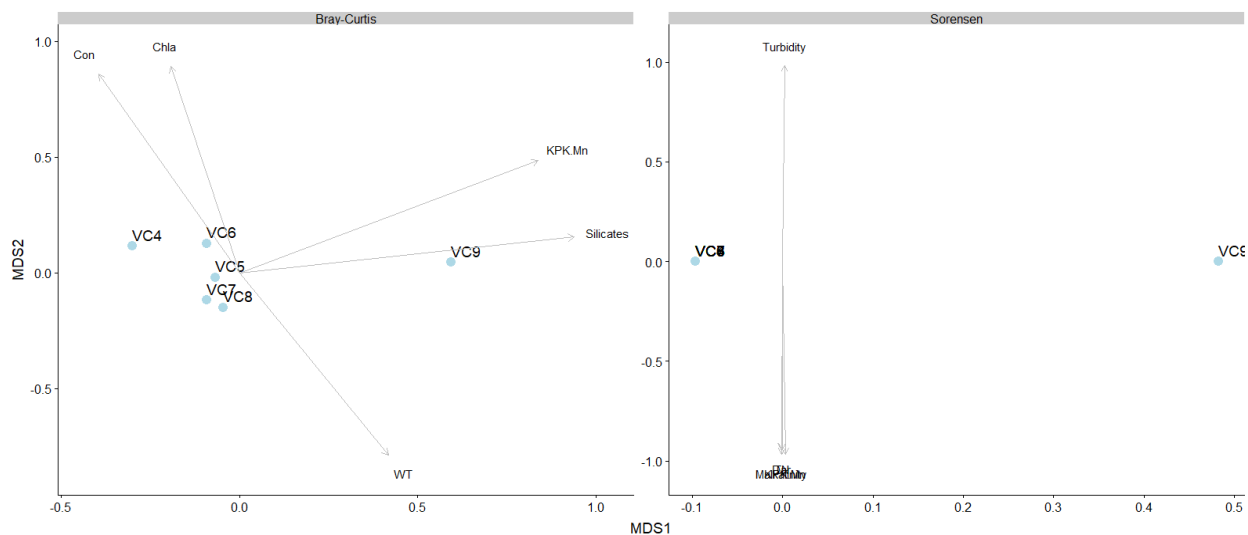
5.6.3. Bioraznolikost Vranskog jezera na Cresu

Na postaji Vransko jezero Cres, bioraznolikost se, kroz uzorkovane mjeseci malo mijenjala, izuzev mjeseca rujna u kojemu se, za razliku od ostalih mjeseci, više ne uočava dominacija koljena Alveolata nego Viridiplantae (Slika 59). Postotni udio kategorije Ostali manji od 1%.



Slika 59. Sezonska bioraznolikost Vranskog jezera na Cresu na razini koljena.

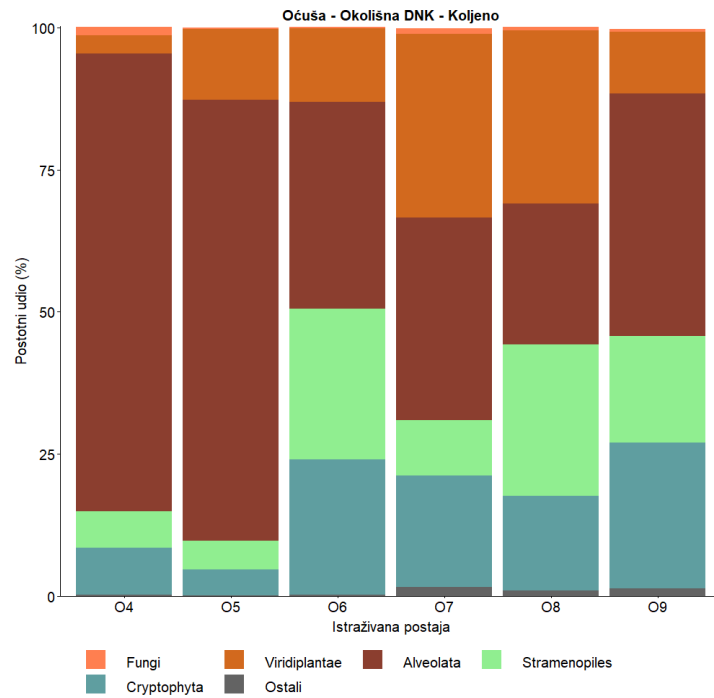
Bray-Curtis koeficijent korelacije u NMDS analizi pokazuje korelaciju koncentracije silikata s fitoplanktonskom populacijom razvijenom u rujnu (Slika 60). Ostali prikazani parametri koreliraju s zajednicama s p vrijednosti većom od 0.1.



Slika 60. NMDS analiza OTU-ova jezera Vransko Cres prema Bray-Curtis i Sorensen koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.

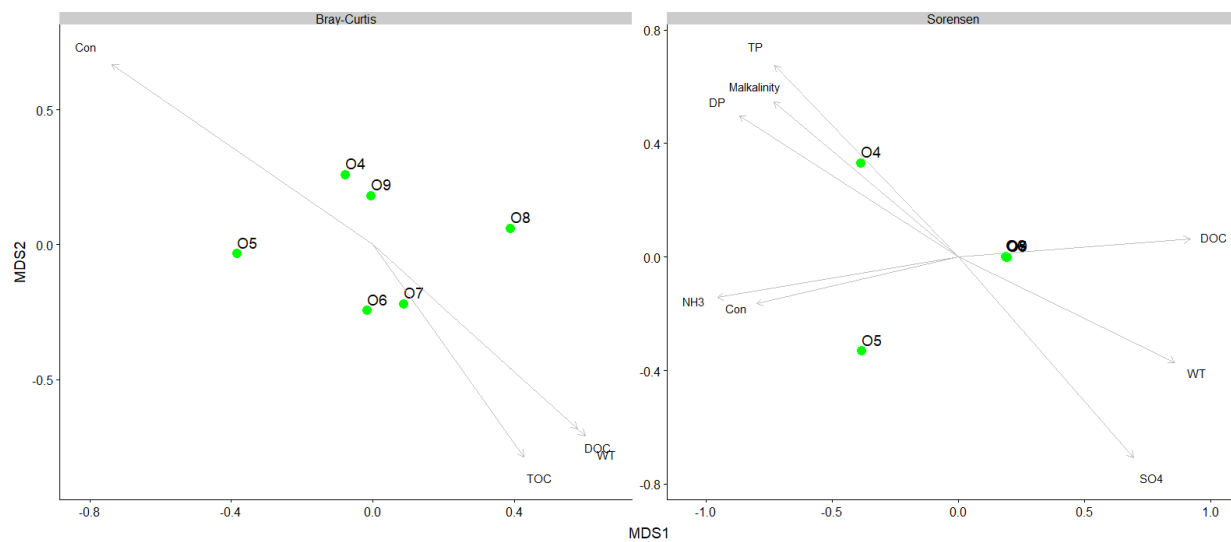
5.6.4. Bioraznolikost jezera Oćuša

Na postaji Oćuša dominantno koljeno u travnju i svibnju jest Alveolata. U lipnju postoji sličnost u količini dominacije koljena Cryptophyta, Stramenopiles i Alveolata. Daljnji mjeseci također pokazuju manje razlike u udjelima različitih koljena u bioraznolikosti (Slika 61). Postotni udio kategorije Ostali manji od 1%.



Slika 61. Sezonska bioraznolikost jezera Oćuša na razini koljena.

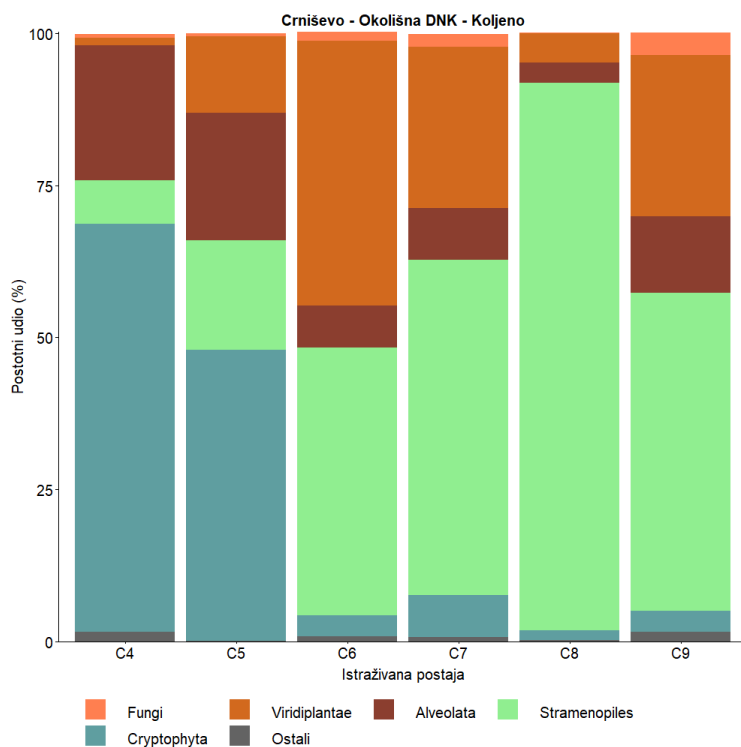
NMDS analiza, prema Sorensenovom koeficijentu sličnosti, pokazuje znatnu korelaciju skoro svih uzorkovanih fitoplanktonskih zajednica (osim travanjskog i svibanjskog) s DOC vrijednostima. Travanjska zajednica pokazuje korelaciju s alkalinitetom i koncentracijom ukupnog fosfora (Slika 62).



Slika 62. NMDS analiza OTU-ova jezera Oćuša prema Bray-Curtis i Sorensen koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.

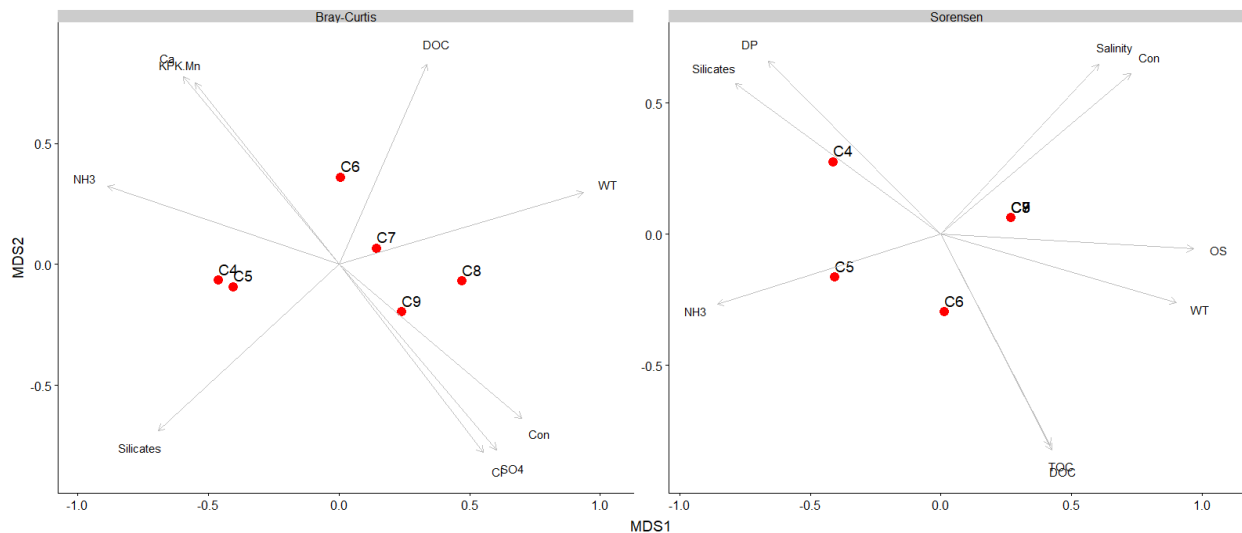
5.6.5. Bioraznolikost jezera Crniševo

Bioraznolikost postaje Crniševo na razini koljena u travnju i svibnju je dominantno zastupljena koljenom Cryptophyta, a u daljnjim mjesecima dominantno je zastupljeno koljeno Stramenopiles. Kategorija Ostali zastupljena s manje od 1% (Slika 63).



Slika 63. Sezonska bioraznolikost jezera Crniševo na razini koljena.

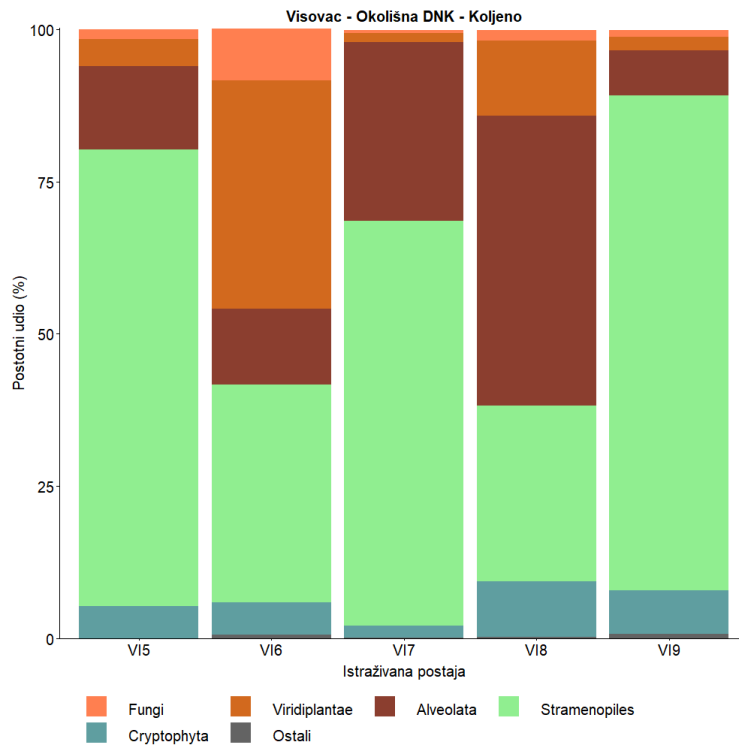
NMDS analiza ukazuje da fitoplanktonska zajednica, prikupljena na postaji Crniševo, korelira s više fizikalno-kemijskih parametara. Korelacije s višestrukim parametrima dobivene su i u Bray-Curtisovim i Sorensenovim koeficijentom sličnosti (Slika 64).



Slika 64. NMDS analiza OTU-ova jezera Crniševo prema Bray-Curtis i Sorensen koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.

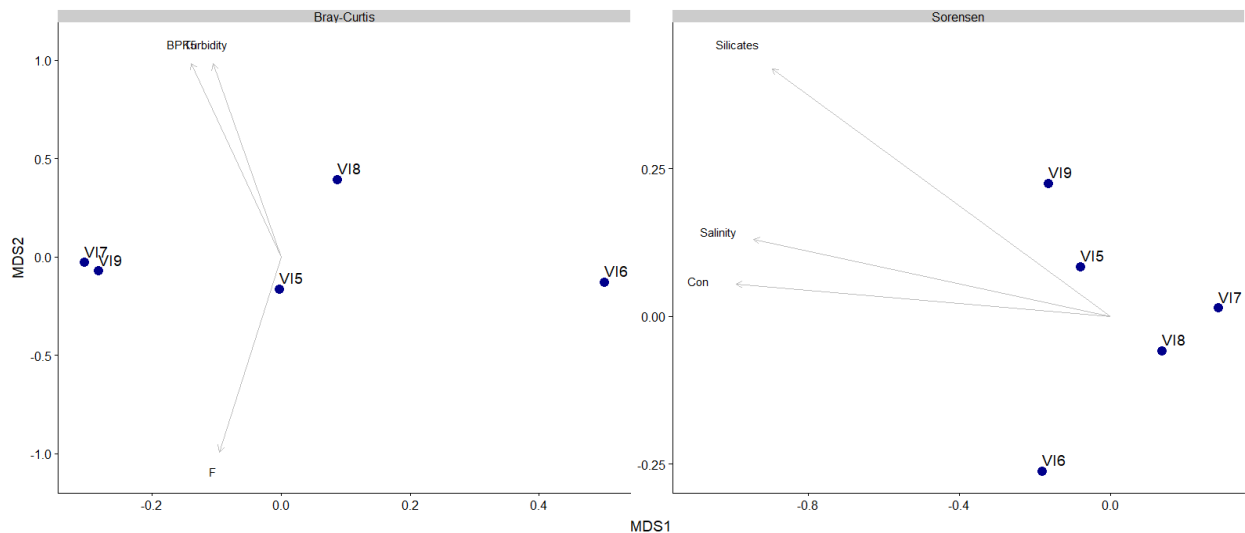
5.6.6. Bioraznolikost Visovačkog jezera

Podatci sezonske bioraznolikosti Visovačkog jezera dobiveni su uzorkovanjem na postaji Visovac kroz 5 mjeseci (Slika 65). Dominantno koljeno u svibnju, srpnju i rujnu je Stramenopiles, dok je u kolovozu to Alveolata. Podjednaku dominaciju u bioraznolikosti u lipnju pokazuju Stramenopiles i Viridiplantae, dok su ostala koljena manje, ali podjednako zastupljena. Kategorija Ostali sadrži postotni udio manji od 1%.



Slika 65. Sezonska bioraznolikost Visovačkog jezera na razini koljena.

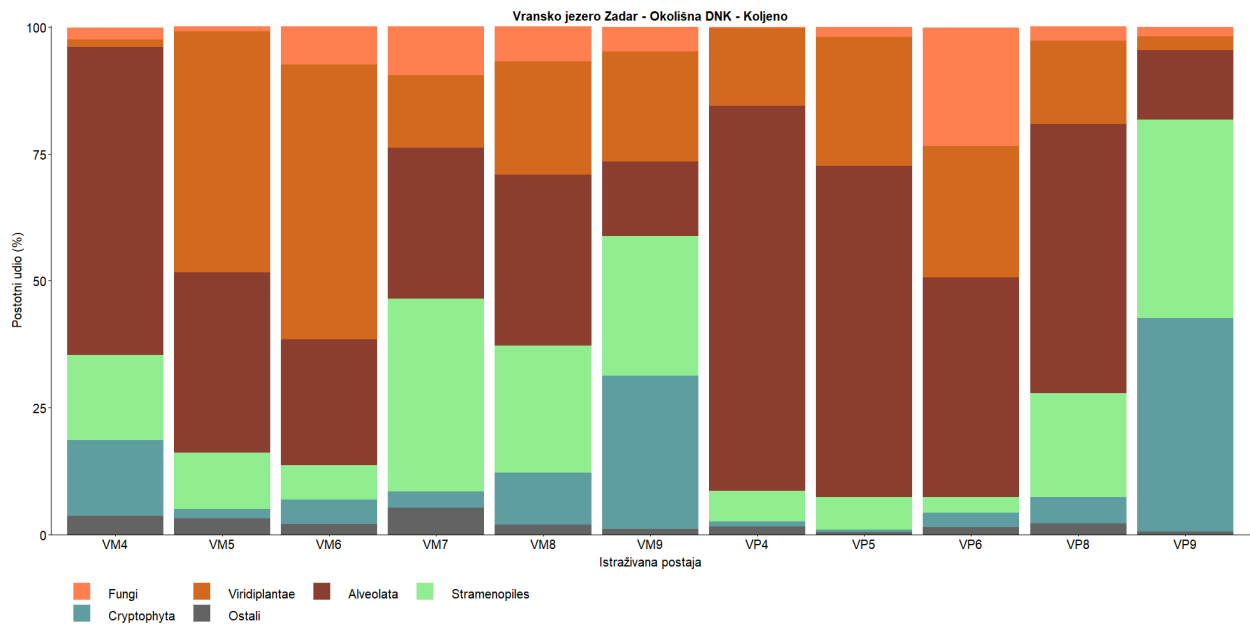
Fitoplanktonska zajednica Visovačkog jezera, prema NMDS analizi Bray-Curtisovim koeficijentom sličnosti, korelira s koncentracijom fluorida, turbiditetom i BPK (Slika 66). Prema Sorensenovom koeficijentu sličnosti fitoplanktonske zajednice koreliraju s koncentracijom silikata, salinitetom i konduktivitetom.



Slika 66. NMDS analiza OTU-ova Visovačkog jezera prema Bray-Curtisovom i Sorensenovom koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.

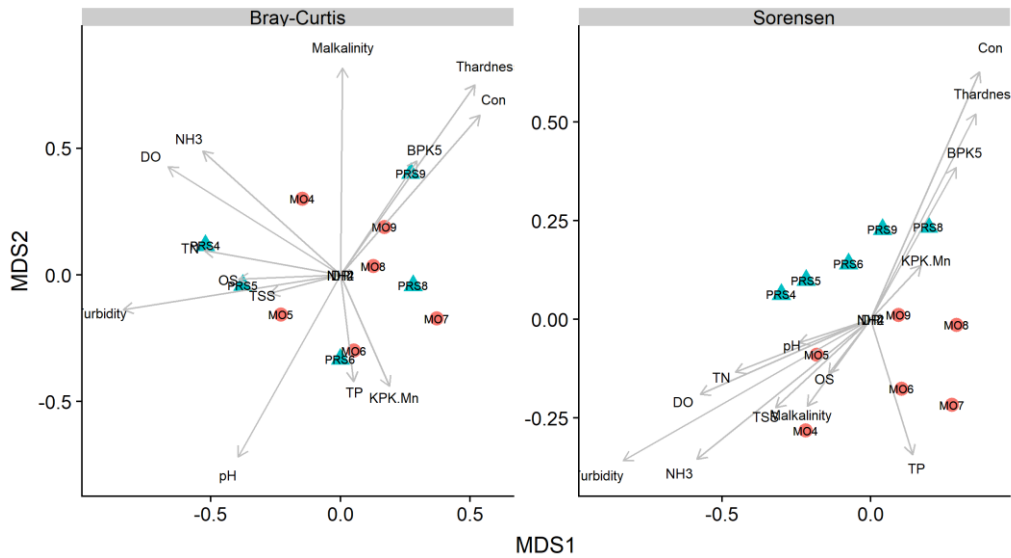
5.6.7. Bioraznolikost Vranskog jezera kod Biograda na moru

Na postajama Motel i Prosika izračunata sezonska bioraznolikost Vranskog jezera kod Biograda na moru, na razini koljena, prikazuje različite udjele s obzirom na mjesec i postaje (Slika 67). U travnju na postaji Prosika uočava se visoki udio koljena Alveolata, dok je on na postaji Motel u istom mjesecu i dalje visok, ali ne u tolikoj mjeri. Kategorija Ostali je zastupljena manje od 1%.



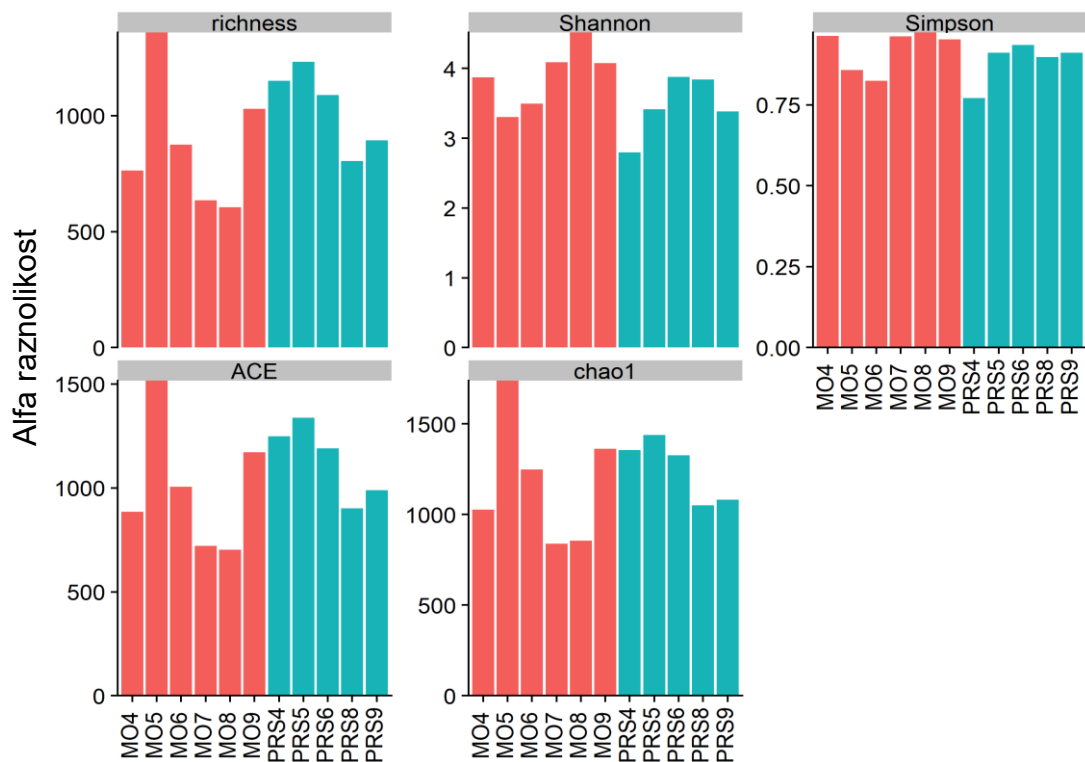
Slika 67. Sezonska bioraznolikost jezera Vransko kod Biograda na moru (dvije postaje: Motel (VM), Prosika (VP)) na razini koljena.

NMDS analiza s oba koeficijenta sličnosti pokazuje korelaciju fitoplanktonskih zajednica Vranskog jezera kod Biograda s više fizikalno-kemijskih parametara s p vrijednošću korelacije višom od 0.1 (Slika 68). Prema Sorensenovom koeficijentu sličnosti, NMDS analiza ukazuje na jasnu razdjeljenost fitoplanktonskih zajednica postaja Prosike i Motel s obzirom na korelaciju s fizikalno-kemijskim parametrima.



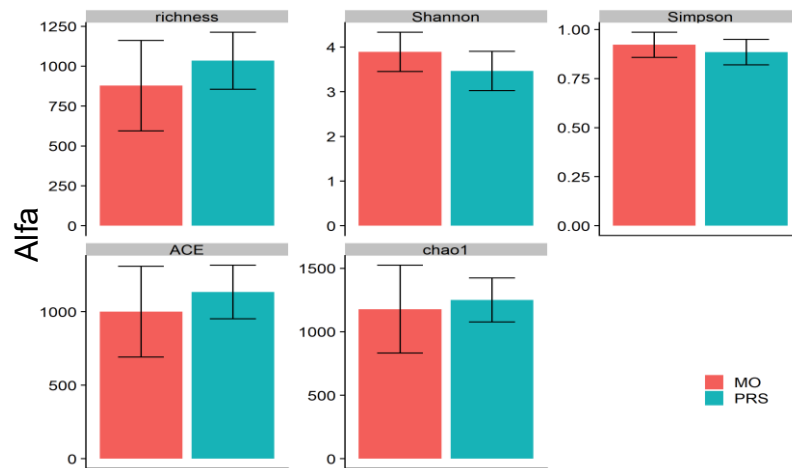
Slika 68. NMDS analiza OTU-ova Vranskog jezera prema Bray-Curtis i Sorensenovom koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.

Prosječna alfa bioraznolikost Vranskog jezera kod Biograda na moru prikazana je pomoću različitih indeksa na Slici 69. Tijekom uzorkovanih mjeseci se mijenja na obje postaje, s prosječnim maksimumom na postaji Motel u svibnju, a minimumom na istoj postaji u kolovozu.



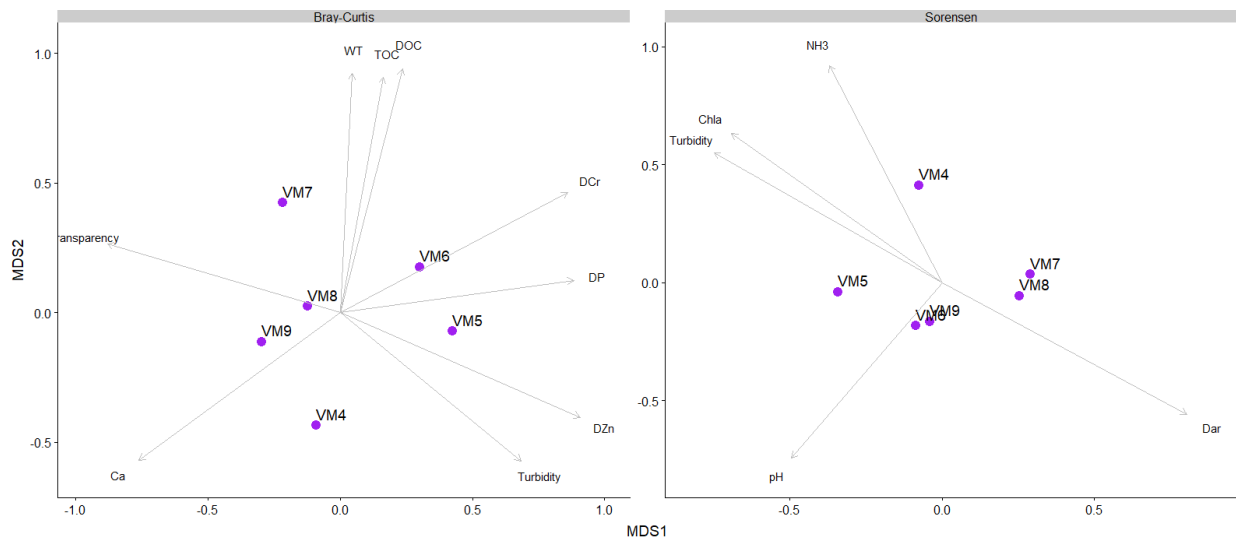
Slika 69. Prikaz prosječne alfa biološke raznolikosti Vranskog jezera kod Biograda na moru (dvije postaje: Motel (MO), Prosika (PRS)) na temelju oDNK (OTU-ova). Brojnost, Shannonov indeks, Simpsonov indeks, ACE indeks i CHAO1 indeks (brojnost).

Sveukupna prosječna vrijednost alfa raznolikosti na postajama Motel i Prosika pokazuje nešto veću alfa bioraznolikost na postaji Prosika (Slika 70). Postaja Prosika, prema Shannonovom i Simpsonovom indeksu korelacije, ima manju brojnost svojiti, a prema ostalima nešto veću.



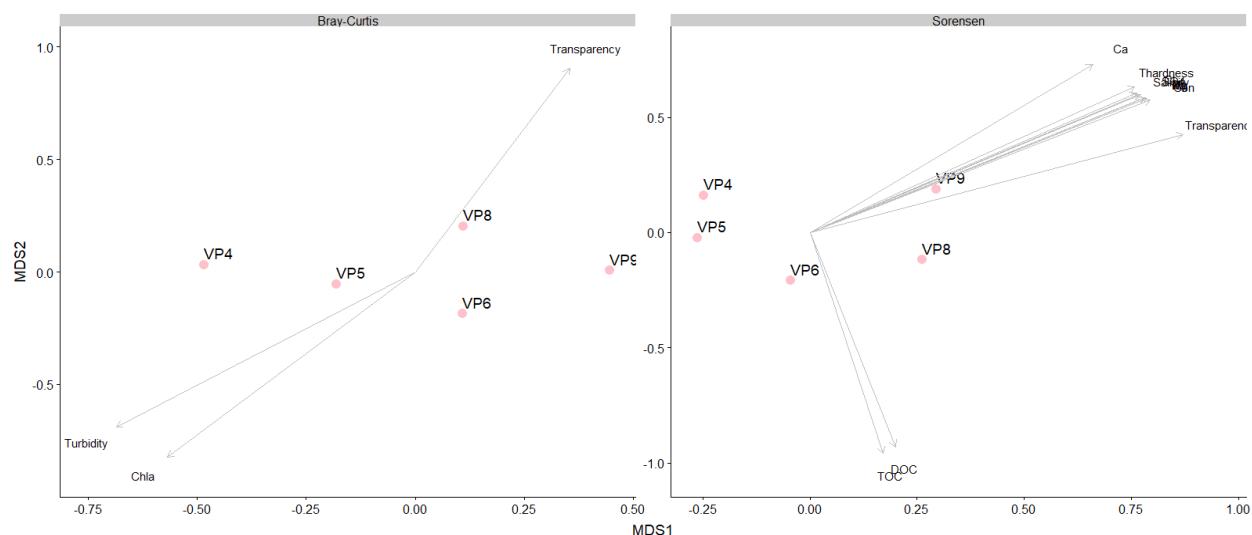
Slika 70. Prikaz prosječne alfa biološke raznolikosti Vranskog jezera kod Biograda na moru (dvije postaje: Motel (MO), Prosika (PRS)) na temelju oDNK (OTU-ova). Brojnost, Shannonov indeks, Simpsonov indeks, ACE indeks i CHAO1 indeks (brojnost).

NMDS analiza fitoplanktonskih zajednica postaje Motel, prema oba koeficijenta sličnosti, pokazuje korelaciju s više fizikalno-kemijskih parametara (Slika 71).



Slika 71. NMDS analiza OTU-ova postaje Motel Vranskog jezera kod Biograda na moru prema Bray-Curtis i Sorensen koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.

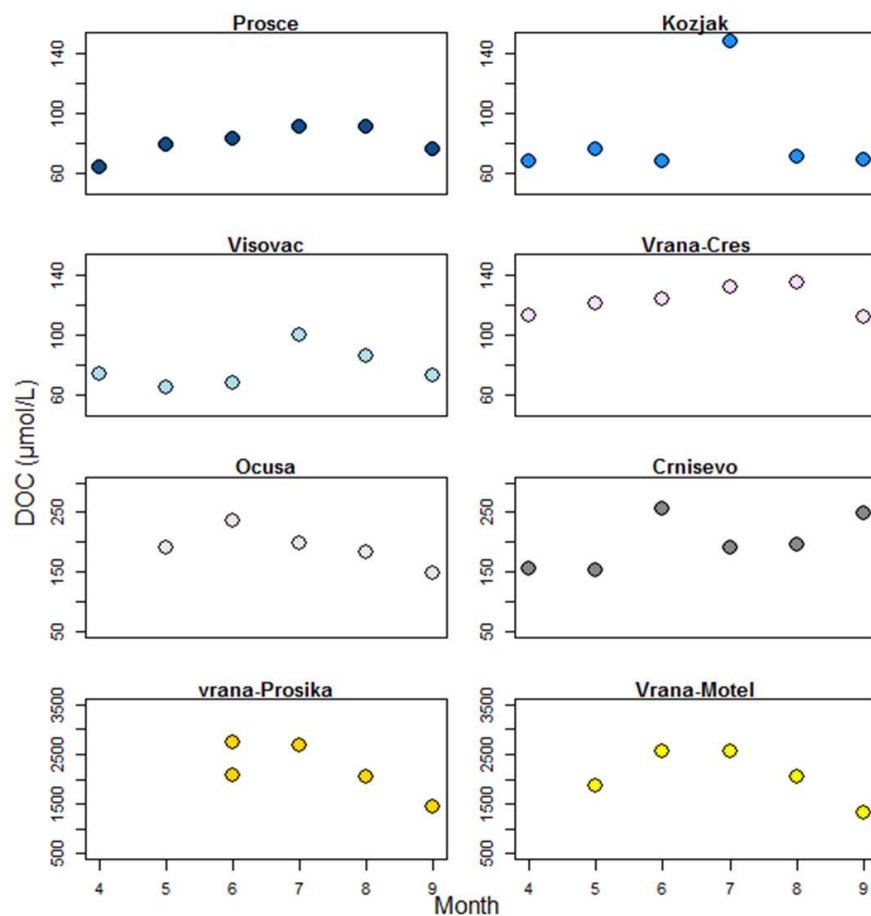
Prema NMDS analizi Sorensovom koeficijentom sličnosti, fitoplanktonska zajednica u rujnu pokazuje najveću korelaciju s više parametara u odnosu na ostale uzorkovane mjesece. Prema Bray-Curtisovom koeficijentu sličnosti, tri izdvojena fizikalno-kemijska parametra (prozirnost, turbiditet i koncentracija klorofila a), pokazuju korelaciju s prikupljenim fitoplanktonskim zajednicama (Slika 72).



Slika 72. NMDS analiza OTU-ova postaje Prosika Vranskog jezera kod Biograda na moru prema Bray-Curtis i Sorensen koeficijentu sličnosti s prikazom fizikalno-kemijskih parametara s korelacijom $p \leq 0.1$.

5.7. Organska tvar

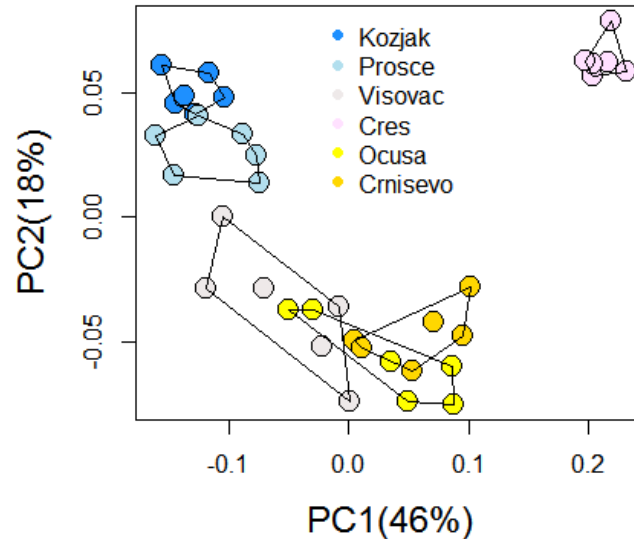
Unutar uzorkovanih mjeseci, u svakom pojedinom jezeru, koncentracija otopljene organske tvari je varirala (Slika 73). Najveće su koncentracije zabilježene u Vranskom jezeru kod Biograda na moru na obje postaje, a najniže u jezeru Kozjak. U jezeru Kozjak zabilježeno je veliko povećanje koncentracije u srpnju, dok su ostala jezera tijekom svih mjeseci imala relativno ujednačene koncentracije. U većini jezera koncentracija otopljene organske tvari slijedi trend povećanja u ljetnim mjesecima, dok je jedino u Vranskom jezeru kod Biograda na moru utvrđeno smanjenje koncentracije.



Slika 73. Koncentracije otopljene organske tvari u istraživanim jezerima

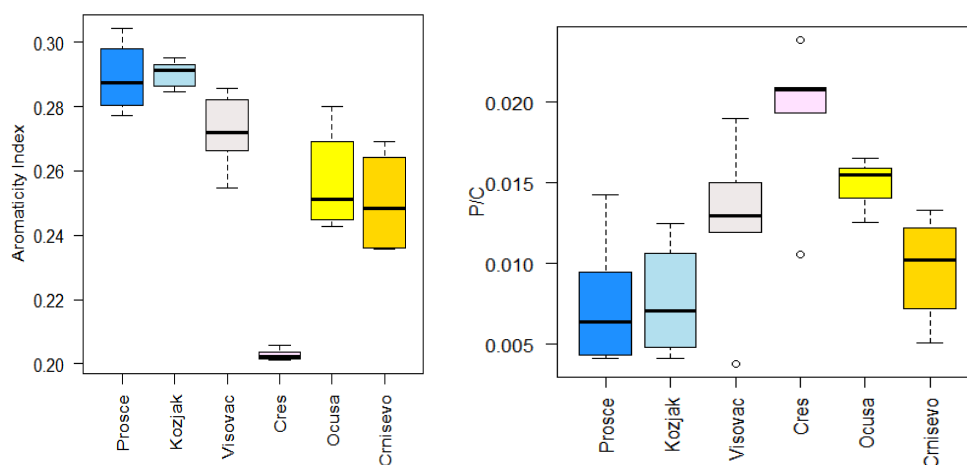
Utvrđeno je da se brojnost i prosječna molekularna težina detektiranih molekulskih spojeva smanjuje s velikom koncentracijom DOC-a. Utjecaj teratogenog ulaza smanjio se kako su jezera postajala sve eutrofnija u korist veće potencijalne labilnosti DOM-a (Slika 74). Vransko jezero na otoku Cresu bilo je iznimka. Općenito, karakteristike sliva bile su glavni čimbenik koji je utjecao na molekularni sastav DOM-a. Različitost među jezerima potaknuta je trofičkim statusom, dok različitost unutar svakog pojedinog jezera nije utvrđena. Sezonske

promjene su uglavnom male i preliminarni rezultati ne pokazuju značajnu korelaciju između sastava i raznolikosti eukariotske zajednice i molekularnog sastava DOM-a jezera.



Slika 74. Multivarijantna analiza glavnih koordinata (PCoA) molekularne mase DOM

Uspoređujući podatke DOM-a različitih jezera uočava se kako povećanje trofičkog stanja jezera prati i veća molekularna raznolikost. Osim toga, povećava se i labilnost ($\%H/C > 1.5^*$), smanjuje se teratogeni karakter (Almod⁺) i prosječna molekulska masa (~430 do 390 Da) te se povećava odnos S/C i N/C, dok P/C varira. Vransko jezero na Cresu se u potpunosti razlikuje od ostalih istraživanih jezera (Slika 75).



Slika 75. Boksplotovi aromatskog indeksa te odnos P/C (izračun na osnovi intenziteta molekulskih formula) po jezeru.

6. ZAKLJUČAK

Rezultati projekta predstavljaju prvu primjenu visokoprotodne tekućinske kromatografije te sekvenciranje sljedeće generacije u procjeni ocjene ekološkog stanja jezera u RH u period od travnja do rujna 2017 godine.

Najveće promjene u fizikalno-kemijskim parametrima utvrđene su na postajama Vranskog jezera kod Biograda na moru, iz nekoliko razloga koji proizlaze iz same hidrologije jezera. Ovo jezero je plitko i povezano s morem direktno putem kanala Prosike i indirektno preko vapnenačkog grebena. Uz navedeno, dio vode koja se ulijeva u jezero koristi se za vodoopskrbu u poljoprivredi. Također, jezero je visoko produktivno što odgovara najvišim mjerenim koncentracijama DOC-a i kretanju koncentracije klorofila *a* kroz uzorkovane mjesece. Kretanje saliniteta dokazuje indirektnu i direktnu intruziju slane vode. Direktni unos slane vode (većinom zbog podvodnog slanog izvora Mindel) uočava se i na Crniševu, dok u isto vrijeme na Oćuši salinitet ostaje isti kroz mjerene mjesece.

Metodom U-HPLC-a, klorofil *a* je očekivano proizašao kao najzastupljeniji pigment fitoplanktona. Koncentracije ostalih pigmenata, karakteristične za svaku skupinu fitoplanktona, bile su zastupljene u manjim koncentracijama: klorofil *b* (zelene alge), bakterioklorofil *a* (anoksigenični fototrofi), klorofil *c* (dijatomeje i dinoflagelati), fukoksantin (dijatomeje), diadinoksanin (dijatomeje), lutein i zeaksantin (cijanobakterije i zelene alge), beta karoten (alge i cijanobakterije).

U Visovačkom jezeru najzastupljeniji pigment, uz klorofil *a*, bio je klorofil *b*, a maksimumi koncentracija svih pigmenata bili su u kolovozu i rujnu.

Iako su dio istog hidrološkog sustava, koncentracija pigmenata Prošćanskog jezera i jezera Kozjak razlikuje se u trendovima. Unatoč različitim mjesečnim trendovima, u oba jezera, uz klorofil *a*, najviše zabilježene koncentracije su od bakterioklorofila *a* i fukoksantina. Pojava većih koncentracija bakterioklorofila *a* upućuje na stvaranje anoksičkih uvjeta.

Koncentracija pigmenata u Vranskom jezeru na Cresu je vidno najniža, što je opravdano njegovim statusom trofije. Prevladavaju pigmenti koji su indikatori za dijatomeje i cijanobakterije.

Koncentracije pigmenata na postajama Vranskog jezera kod Biograda na moru su, očekivano, najviše od svih mjerenih jezera. Obje postaje imaju sličnu raspodjelu koncentracija pigmenata kroz mjerene mjesece, a jedino je u lipnju koncentracija pigmenata, izuzev klorofil a, dvostruka na postaji Prosika u usporedbi s Motelom što se može povezati s produktivnosti jezera.

U Baćinskim jezerima, sveukupna koncentracija pigmenata, unutar jezera je vrlo slična. Međutim, dominantni pigment osim klorofila a, u Crniševu je diadionoksantin, dok je u Oćuši lutein.

Zanimljiva je i razlika između *in-situ* mjerenja i mjerenja U-HPLC-om. Njihova razlika se povećava ovisno o kojem je jezeru riječ, ali u većini mjerenja koncentracije mjerene putem U-HPLC-a su više nego one mjerene sondom *in-situ*. Mjerenja sondom zasigurnom zbog ne osjetljivosti i stalne potrebe za kalibracijom mogu dovesti do krivih rezultata.

Fotosintetski pigmenti pokazali su se dobrim kemotaksonomskim markerima dinamike fitoplanktona u jezerima te daju određeni prikaz strukture zajednice fitoplanktona koja je komplementarna klasičnim optičkim metodama. Ovakav pristup daje dobar uvid u fitoplanktonsku frakciju manjih dimenzija koji se može nepravilno procijeniti invertnom mikroskopijom. Iz analize pigmenata bilo je nemoguće utvrditi kvantitetu populacije dijatomeja koje predstavljaju vrlo značajnu frakciju fitoplanktona u jezerima.

NMDS metodom utvrđeno je grupiranje uzoraka svakog jezera zasebno i grupiranje jezera istog hidrološkog sustava. Također, ista metoda pokazala je korelaciju fizikalno-kemijskih parametara s biomasom fitoplanktonske zajednice. Ona pokazuje ovisnost strukture fitoplanktonske zajednice o određenim parametrima te varira kroz uzorkovane mjesece na svakoj postaji. Izdvojena korelacija Vranskog jezera kod Biograda na moru, na dvije uzorkovane postaje, jasno pokazuje uniformnost jezera, kada se radi o ovisnosti strukture fitoplanktonske zajednice o fizikalno-kemijskim parametrima. Kada se sagledaju korelacije biomase fitoplanktonske zajednice s koncentracijama pigmenata, vidno je da se ona ne može jasno uspostaviti sa svakom mjerenom postajom. Ipak, fitoplanktonska zajednica određenih jezera (Proščansko jezero, Baćinska jezera) uspješno je uspostavila korelaciju s određenim pigmentima.

Razlika između molekularnih i morfoloških analiza bioraznolikosti istraživanih područja vidljiva je već na razini koljena. Iz rezultata analiza utvrđena je značajno veća raznolikost molekularnom metodom u odnosu na klasičnu morfološku analizu mikroskopijom. U

najzastupljenijim vrstama prema ukupnoj relativnoj učestalosti, morfološka i molekularna analiza se samo djelomično preklapaju.

Alfa bioraznolikost ispitivanih jezera, na temelju OTU-ova, prema ispitivanim indeksima, je najviša u različitim uzorkovanim mjesecima: Crniševo - svibanj i rujan, Oćuša – srpanj, Kozjak - travanj i srpanj, Proščansko j. – travanj i rujan, Vransko Cres – lipanj, Visovačko j. – lipanj i kolovoz, Vransko Biograd postaja Motel – kolovoz i lipanj te Prosika – lipanj.

NMDS analiza OTU-ova prema Sorensenovom koeficijentu sličnosti pokazuje izvrsnu grupiranost mjesečnih uzoraka svakog jezera. Također se lijepo odvajaju postaje iz istog hidrološkog sustava što ukazuje na pouzdanost prethodno korištenih molekularnih metoda. NMDS analiza korelacije OTU-ova istraživanih jezera i fizikalno-kemijskih parametara također pokazuje ovisnost fitoplanktonske zajednice svakog pojedinog jezera o različitim parametrima. To ukazuje da se i iz molekularnih podataka mogu dobiti kvalitetni podatci odnosa fitoplanktona s okolišnim fizikalno-kemijskim parametrima.

S povećanjem koncentracije DOC-a, prosječna molekularna težina detektiranih spojeva se smanjuje, dok se teratogeni utjecaj smanjuje povećanjem trofije jezera. Međutim, Vransko jezero na Cresu se pokazalo iznimkom, vjerojatno zbog jedinstvene morfologije i hidrogeološke izolacije. Za daljnje zaključke potrebno je izvršiti daljnja istraživanja.

Usporedbom podataka DOM-a kod različitih jezera utvrđeno je da povećanjem trofičkog stanja jezera dolazi do veće molekularne raznolikosti i razlike između jezera, ali izmjerene razlike unutar jezera nisu značajne.

Usvajanje novih pristupa donosi nove izazove u svrhu provedbe ODV-a. Prvenstveno, novi pristupi zahtijevaju provjeru usporedivosti s postojećim nacionalno odobrenim i interkalibriranim metodama procjene. Uz navedeno, potrebna je uspostava jednake kontrole njihove isplativosti. To obuhvaća stvaranje balansa između odnosa troškova obrade i tumačenja podataka i njihove učinkovitosti. Učinkovitost podataka podrazumijeva odnos pritisaka i odgovora i povjerenje u sam način klasifikacije. Konačno, neophodno je zadržati ekološke i taksonomske vještine i znanje, jer one često podupiru dizajn i robusnost shema procjene. Primjena novih metoda u karakterizaciji jezera značajno produbljuje naša saznanja o stanju jezera. Iako se takvim pristupom znatno ubrzava proces, nužno je provesti višegodišnja usporedna istraživanja u svrhu potvrde njihovih vrijednosti te usporedivosti.

Trenutno većina zemalja članica EU je u fazi razrade metoda barkodiranja i stvaranja vlastitih baza podataka barkodova.

U okviru ovog projekta nije moguće izračunati OEK na temelju rezultata dobivenih molekularnim i kromatografskim metodama jer podaci nisu primjenjivi na postojeći sustav ocjene ekološkog stanja koji je u trenutačnoj metodologiji. Novi sustav na koji se podaci mogu primijeniti je u pripremi te u dogovoru sa naručiteljem, analize će biti obuhvaćene i rezultati isporučeni sa rezultatima ekološkog stanja u projektu "Analiza bioloških metoda ocjene ekološkog stanja za fitoplankton, fitobentos i makrozoobentos u jezerima; analiza utjecaja okolišnih čimbenika i antropogenih opterećenja". Sukladno tome, tijekom provođenja navedenih analiza bit će definirane indikatorske vrste i dat će se prijedlog novog monitoringa i ocjene ekološkog stanja koji obuhvaća nove spoznaje dobivene ovim istraživanjem.

7. POPIS LITERATURE

Abad, D., Albaina, A., Aguirre, M., Laza-Martínez, A., Uriarte, I., Iriarte, A., Villate, F., Estonba, A., 2016. Is metabarcoding suitable for estuarine plankton monitoring? A comparative study with microscopy. *Mar. Biol.* 163.

Airs RL, Atkinson JE, Keely BJ., 2001. Development and application of a high resolution liquid chromatographic method for the analysis of complex pigment distributions. *Journal of Chromatography A.* 917(1–2):167–77. pmid:11403496

Alve, E., Korsun, S., Schönfeld, J., Dijkstra, N., Golikova, E., Hess, S., Husum, K., Panieri, G., 2016. Foram-AMBI: a sensitivity index based on benthic foraminiferal faunas from north-East Atlantic and Arctic fjords, continental shelves and slopes. *Mar. Micropaleontol.* 122:1–12.

Ansotegui A., Trigueros J.M. & Orive E., 2001. The use of pigment signatures to assess phytoplankton assemblage structure in Estuarine waters. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 52, 689–703.

Apothéloz-Perret-Gentil, L., Cordonier, A., Straub, F., Iseli, J., Esling, P., Pawlowski, J., 2017. Taxonomy-free molecular diatom index for high-throughput eDNA biomonitoring. *Mol. Ecol. Resour.* 17:1231–1242.

Atalah, J., Pochon, X., 2016. First evaluation of foraminiferal metabarcoding for monitoring environmental impact from an offshore oil drilling site. *Mar. Environ. Res.* 120:225–235.

Avó, A.P., Daniell, T.J., Neilson, R., Oliveira, S., Branco, J., Adão, H., 2017. DNA barcoding and morphological identification of benthic nematodes assemblages of estuarine inter-tidal sediments: advances in molecular tools for biodiversity assessment. *Front. Mar. Sci.* 4:66.

Aylagas, E., Borja, Á., Irigoien, X., Rodríguez-Ezpeleta, N., 2016. Benchmarking DNA metabarcoding for biodiversity-based monitoring and assessment. *Front. Mar. Sci.* 3:96.

Aylagas, E., Borja, Á., Rodríguez-Ezpeleta, N., Borja, Á., Rodríguez-Ezpeleta, N., 2014. Environmental status assessment using DNA metabarcoding: towards a genetics based marine biotic index (gAMBI).

Aylagas, E., Borja, Á., Tangherlini, M., Dell'Anno, A., Corinaldesi, C., Michell, C.T., Irigoien, X., Danovaro, R., Rodríguez-Ezpeleta, N., 2017. A bacterial community-based index to assess the ecological status of estuarine and coastal environments. *Mar. Pollut. Bull.* 114:679–688.

Aylagas, E., Rodríguez-Ezpeleta, N., 2016. Analysis of illumina MiSeq metabarcoding data: application to benthic indices for environmental monitoring. *Methods in Molecular Biology*:pp. 237–249.

- Baird, D.J., Hajibabaei, M., Brunswick, N., 2012. Biomonitoring 2.0: a new paradigm in ecosystem assessment made possible by next-generation DNA sequencing. *Mol. Ecol.* 21: 2039–2044.
- Barbour, M.T., Gerritsen, J., Griffith, G.E., Frydenborg, R., McCarron, E., White, J.S., Bastian, M.L., 1996. A framework for biological criteria for Florida streams using benthic macroinvertebrates. *J. North Am. Benthol. Soc.* 15:185–211.
- Barnes, M.A., Turner, C.R., Jerde, C.L., Renshaw, M.A., Chadderton, W.L., Lodge, D.M., 2014. Environmental conditions influence eDNA persistence in aquatic systems. *Environ. Sci. Technol.* 48:1819–1827.
- Barton A.D., Dutkiewicz S., Flierl G., Bragg J. & Follows M.J., 2010. Patterns of diversity in marine phytoplankton. *Science*, 327, 1509–1511.
- Barquín, J., Benda, L.E., Villa, F., Brown, L.E., Bonada, N., Vieites, D.R., Battin, T.J., Olden, J.D., Hughes, S.J., Gray, C., Woodward, G., 2015. Coupling virtual watersheds with ecosystem services assessment: a 21st century platform to support river research and management. *Wiley Interdiscip. Rev. Water* 2:609–621.
- Basset, A., Barbone, E., Borja, A., Bruçet, S., Pinna, M., Quintana, X.D., Reizopoulou, S., Rosati, I., Simboura, N., 2012. A benthic macroinvertebrate size spectra index for implementing the water framework directive in coastal lagoons in Mediterranean and Black Sea ecoregions. *Ecol. Indic.* 12:72–83.
- Behl S., Donval A. & Stibor H., 2011. The relative importance of species diversity and functional group diversity on carbon uptake in phytoplankton communities. *Limnology and Oceanography*, 56, 683–694.
- Behnke, A., Friedl, T., Chepurnov, V.A., Mann, D.G., 2004. Reproductive compatibility and rDNA sequence analyses in the *Sellephora pupula* species complex (Bacillariophyta). *J. Phycol.* 40:193–208.
- Besemer, K., Peter, H., Logue, J.B., Langenheder, S., Lindström, E.S., Tranvik, L.J., Battin, T.J., 2012. Unraveling assembly of stream biofilm communities. *ISME J.* 6:1459–1468.
- Bidigare R.R., Heukelem L.V. & Trees C.C., 2005. Analysis of algal pigments by high-performance liquid chromatography. In: *Algal Culturing Techniques* (Ed. R.A. Andersen), pp. 327–345. Elsevier Academic Press, Amsterdam.
- Bidigare R.R., Frank T.J., Zastrow C., Brooks J.M., 1991. The distribution of algal chlorophylls and their degradation products in the southern-ocean. *Deep-Sea Research Part A-Oceanographic Research Papers*. 1986;33(7):923–37.
- Bik, H.M., Halanych, K.M., Sharma, J., Thomas, W.K., 2012. Dramatic shifts in benthic microbial eukaryote communities following the deepwater horizon oil spill.

- Binh, C.T.T., Tong, T., Gaillard, J.-F., Gray, K.A., Kelly, J.J., 2014. Acute effects of TiO₂ nanomaterials on the viability and taxonomic composition of aquatic bacterial communities assessed via high-throughput screening and next generation sequencing.
- Birk, S., Bonne, W., Borja, A., Brucet, S., Courrat, A., Poikane, S., Solimini, A., Van De Bund, W., Zampoukas, N., Hering, D., 2012. Three hundred ways to assess Europe's surface waters: an almost complete overview of biological methods to implement the water framework directive. *Ecol. Indic.* 18:31–41.
- Birk, S., van Kouwen, L., Willby, N., 2012. Harmonising the bioassessment of large rivers in the absence of near-natural reference conditions - a case study of the Danube River. *Freshw. Biol.* 57:1716–1732.
- Birk, S., Willby, N. J., Kelly, M. G., Bonne, W., Borja, A., Poikane, S., van de Bund, W., 2013. Intercalibrating classifications of ecological status: Europe's quest for common management objectives for aquatic ecosystems. *Sci. Total Environ.* 454–455:490–499.
- Blaxter, M. L., 2004. The promise of a DNA taxonomy. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 359: 669–679.
- Bohmann, K., Evans, A., Gilbert, M.T.P., Carvalho, G.R., Creer, S., Knapp, M., Yu, D.W., de Bruyn, M., 2014. Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends Ecol. Evol.*
- Bonada, N., Prat, N., Resh, V., Statzner, B., 2006. Developments in aquatic insect biomonitoring: a comparative analysis of recent approaches. *Annu. Rev. Entomol.* 51, 495–523.
- Borges Mendes C. R., Tavano V. M., Leal M. C., de Souza M. S., Brotas V., Eiras Garcia C. A., 2013. Shifts in the dominance between diatoms and cryptophytes during three late summers in the Bransfield Strait (Antarctic Peninsula). *Polar Biology*; 36(4):537–47.
- Borja, A., 2018. Testing the efficiency of a bacterial community-based index (microgAMBI) to assess distinct impact sources in six locations around the world. *Ecol. Indic.* 85:594–602.
- Borja, A., Basset, A., Bricker, S., Dauvin, J.C., Elliott, M., Harrison, T., Marques, J.C., Weisberg, S.B., West, R., 2012. Classifying ecological quality and integrity of estuaries. *Treatise on Estuarine and Coastal Science*:pp. 125–162.
- Borja, A., Elliott, M., Andersen, J.H., Cardoso, A.C., Carstensen, J., Ferreira, J.G., Heiskanen, A.S., Marques, J.C., Neto, J.M., Teixeira, H., Uusitalo, L., Uyarra, M.C., Zampoukas, N., 2013. Good environmental status of marine ecosystems: what is it and how do we know when we have attained it? *Mar. Pollut. Bull.* 76:16–27.
- Borja, A., Franco, J., Pérez, V., 2000. A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Mar. Pollut. Bull.* 40:1100–1114.

Borja, Á., Marín, S.L., Muxika, I., Pino, L., Rodríguez, J.G., 2015. Is there a possibility of ranking benthic quality assessment indices to select the most responsive to different human pressures? *Mar. Pollut. Bull.* 97:85–94.

Borja, A., Miles, A., Occhipinti-Ambrogi, A., Berg, T., 2009. Current status of macroinvertebrate methods used for assessing the quality of European marine waters: implementing the water framework directive. *Hydrobiologia* 633:181–196.

Brannock, P. M., Halanych, K. M., 2015. Meiofaunal community analysis by high-throughput sequencing: comparison of extraction, quality filtering, and clustering methods. *Mar. Genomics* 23:67–75.

Brannock, P. M., Ortmann, A. C., Moss, A. G., Halanych, K. M., 2016. Metabarcoding reveals environmental factors influencing spatio-temporal variation in pelagic micro-eukaryotes. *Mol. Ecol.* 25:3593–3604.

Brown, E. A., Chain, F. J. J., Crease, T. J., Macisaac, H. J., Cristescu, M. E., 2015. Divergence thresholds and divergent biodiversity estimates: can metabarcoding reliably describe zooplankton communities? *Ecol. Evol.* 5:2234–2251.

Buchaca T., Felip M. & Catalan J., 2005. A comparison of HPLC pigment analyses and biovolume estimates of phytoplankton groups in an oligotrophic lake. *Journal of Plankton Research*, 27, 91–101.

Canfield D. E., 1983. Prediction of chlorophyll a concentrations in Florida lakes: the importance of phosphorus and nitrogen. *Journal of the American Water Resources Association*, 19, 255–262.

Capo E., Debroas D., Arnaud F., Perga M. E., Chardon C., Domaizon I., 2017. Tracking a century of changes in microbial eukaryotic diversity in lakes driven by nutrient enrichment and climate warming. *Environ. Microbiol.* 19:2873–2892.

Carew, M. E., Miller, A. D., Hoffmann, A. A., 2011. Phylogenetic signals and ecotoxicological responses: potential implications for aquatic biomonitoring. *Ecotoxicology*.

Carew, M. E., Pettigrove, V. J., Metzeling, L., Hoffmann, A. A., 2013. Environmental monitoring using next generation sequencing: rapid identification of macroinvertebrate bioindicator species. *Front. Zool.* 10:45.

Caruso, G., La Ferla, R., Azzaro, M., Zoppini, A., Marino, G., Petochi, T., Corinaldesi, C., Leonardi, M., Zaccone, R., Fonda Umani, S., Caroppo, C., Monticelli, L.S., Azzaro, F., Decembrini, F., Maimone, G., Cavallo, R.A., Stabili, L., Hristova Todorova, N., Karamfilov, K., Rastelli, E.V., Cappello, S., Acquaviva, M.I., Narracci, M., De Angelis, R., Del Negro, P., Latini, M., Danovaro, R., 2015. Microbial assemblages for environmental quality assessment: knowledge, gaps and usefulness in the European marine strategy framework directive. *Crit. Rev. Microbiol.* 7828:1–22.

- Chariton, A. A., Court, L. N., Hartley, D. M., Colloff, M. J., Hardy, C. M., 2010. Ecological assessment of estuarine sediments by pyrosequencing eukaryotic ribosomal DNA. *Front. Ecol. Environ.* 8:233–238.
- Chariton, A. A., Ho, K. T., Proestou, D., Bik, H., Simpson, S. L., Portis, L. M., Cantwell, M. G., Baguley, J. G., Burgess, R. M., Pelletier, M. M., Perron, M., Gunsch, C., Matthews, R. A., 2014. A molecular-based approach for examining responses of eukaryotes in micro-cosms to contaminant-spiked estuarine sediments. *Environ. Toxicol. Chem.* 33: 359–369.
- Chariton, A. A., Stephenson, S., Morgan, M. J., Steven, A. D. L., Colloff, M. J., Court, L. N., Hardy, C. M., 2015. Metabarcoding of benthic eukaryote communities predicts the ecological condition of estuaries. *Environ. Pollut.* 203:165–174.
- Charvet S., Vincent W.F. & Lovejoy C., 2012. Chrysophytes and other protists in High Arctic lakes: molecular gene surveys, pigment signatures and microscopy. *Polar Biology*, 35, 733–748.
- Chen, Y., Dai, Y., Wang, Y., Wu, Z., Xie, S., Liu, Y., 2016. Distribution of bacterial communities across plateau freshwater lake and upslope soils. *J. Environ. Sci. China* 43: 61–69.
- Chessman, B., Growns, I., Currey, J., Plunkett-Cole, N., 1999. Predicting diatom communities at the genus level for the rapid biological assessment of rivers. *Freshw. Biol.* 41: 317–331.
- Clarke, R. T., Furse, M. T., Wright, J. F., Moss, D., 1996. Derivation of a biological quality index for river sites: comparison of the observed with the expected fauna. *J. Appl. Stat.* 23: 311–332.
- Claverie, J. M., Decelle, J., Dolan, J. R., Dunthorn, M., Edvardsen, B., Forn, I., Forster, D., Guillou, L., Jaillon, O., Kooistra, W.H.C.F., Logares, R., Mahé, F., Not, F., Ogata, H., Pawlowski, J., Pernice, M.C., Probert, I., Romac, S., Richards, T., Santini, S., Shalchian-Tabrizi, K., Siano, R., Simon, N., Stoeck, T., Vaultot, D., Zingone, A., de Vargas, C., 2015. Marine protist diversity in European coastal waters and sediments as revealed by high-throughput sequencing. *Environ. Microbiol.* 17:4035–4049.
- Coelho, F. J. R. C., Cleary, D. F. R., Costa, R., Ferreira, M., Polónia, A. R. M., Silva, A. M. S., Simões, M. M. Q., Oliveira, V., Gomes, N.C.M., 2016. Multitaxon activity profiling reveals differential microbial response to reduced seawater pH and oil pollution. *Mol. Ecol.* 25: 4645–4659.
- Cordier, T., Esling, P., Lejzerowicz, F., Visco, J., Ouadahi, A., Martins, C., Cedhagen, T., Pawlowski, J., 2017. Predicting the ecological quality status of marine environments from eDNA metabarcoding data using supervised machine learning. *Environ. Sci. Technol.*
- Cowart, D. A., Pinheiro, M., Mouchel, O., Maguer, M., Grall, J., Miné, J., Arnaud-Haond, S., 2015. Metabarcoding is powerful yet still blind: a comparative analysis of morphological and molecular surveys of seagrass communities. e0117562.
- Cristescu, M. E., 2014. From barcoding single individuals to metabarcoding biological communities: towards an integrative approach to the study of global biodiversity. *Trends Ecol. Evol.*

Dafforn, K. A., Baird, D. J., Chariton, A. A., Sun, M. Y., Brown, M. V., Simpson, S. L., Kelaher, B. P., Johnston, E. L., 2014. Faster, higher and stronger? The pros and cons of molecular faunal data for assessing ecosystem condition. *Adv. Ecol. Res.* 51:1–40.

Darling, J. A., Galil, B. S., Carvalho, G. R., Rius, M., Viard, F., Piraino, S., 2017. Recommendations for developing and applying genetic tools to assess and manage biological invasions in marine ecosystems. *Mar. Policy* 85:54–64.

Darling, J. A., Mahon, A. R., 2011. From molecules to management: adopting DNA-based methods for monitoring biological invasions in aquatic environments. *Environ. Res.* 111:978–988.

Davis, J., Horwitz, P., Norris, R., Chessman, B., McGuire, M., Sommer, B., 2006. Are river bioassessment methods using macroinvertebrates applicable to wetlands? *Hydrobiologia* 572:115–128.

De Vargas, C., Audic, S., Henry, N., Decelle, J., Mahe, F., Logares, R., Lara, E., Berney, C., Le Bescot, N., Probert, I., Carmichael, M., Poulain, J., Romac, S., Colin, S., Aury, J.-M., Bittner, L., Chaffron, S., Dunthorn, M., Engelen, S., Flegontova, O., Guidi, L., Horak, A., Jaillon, O., Lima-Mendez, G., Luke, J., Malviya, S., Morard, R., Mulot, M., Scalco, E., Siano, R., Vincent, F., Zingone, A., Dimier, C., Picheral, M., Searson, S., Kandels-Lewis, S., Acinas, S.G., Bork, P., Bowler, C., Gorsky, G., Grimsley, N., Hingamp, P., Iudicone, D., Not, F., Ogata, H., Pesant, S., Raes, J., Sieracki, M.E., Speich, S., Stemmann, L., Sunagawa, S., Weissenbach, J., Wincker, P., Karsenti, E., Boss, E., Follows, M., Karp-Boss, L., Krzic, U., Reynaud, E.G., Sardet, C., Sullivan, M.B., Velayoudon, D., 2015. Eukaryotic plankton diversity in the sunlit ocean. *Science* 348 (80):1261605.

Debroas, D., Domaizon, I., Humbert, J. F., Jardillier, L., Lepère, C., Oudart, A., Taib, N., 2017. Overview of freshwater microbial eukaryotes diversity: a first analysis of publicly available metabarcoding data. *FEMS Microbiol. Ecol.* 93.

Deiner, K., Altermatt, F., 2014. Transport distance of invertebrate environmental DNA in a natural river.

Deiner, K., Bik, H. M., Mächler, E., Seymour, M., Lacoursière-Roussel, A., Altermatt, F., Creer, S., Bista, I., Lodge, D. M., de Vere, N., Pfrender, M. E., Bernatchez, L., 2017. Environmental DNA metabarcoding: transforming how we survey animal and plant communities. *Mol. Ecol.*

Deiner, K., Fronhofer, E. A., Mächler, E., Walser, J. C., Altermatt, F., 2016. Environmental DNA reveals that rivers are conveyor belts of biodiversity information. *Nat. Commun.* 7.

Deiner, K., Walser, J. C., Mächler, E., Altermatt, F., 2015. Choice of capture and extraction methods affect detection of freshwater biodiversity from environmental DNA. *Biol. Conserv.* 183:53–63.

Dell'Anno, A., Carugati, L., Corinaldesi, C., Riccioni, G., Danovaro, R., 2015. Unveiling the biodiversity of deep-sea nematodes through metabarcoding: are we ready to bypass the classical taxonomy?

Descy J. P., Hardy M. A., Stenuite S, Pirlot S, Leporcq B, Kimirei I, et al. Phytoplankton pigments and community composition in Lake Tanganyika. *Freshwater Biology*. 2005;50 (4):668–84.

Descy J.-P., Higgins H.W., Mackey D.J., Hurley J.P. & Frost T.M., 2000. Pigment ratios and phytoplankton assessment in northern Wisconsin lakes. *Journal of Phycology*, 36, 274– 286.

Descy J.-P., Sarmiento H. & Higgins H.W., 2009. Variability of phytoplankton pigment ratios across aquatic environments. *European Journal of Phycology*, 44, 319–330.

EC (2000) Directive 2000/60/EC of the European Parliament *Journal of the European Communities* 22/12/2000 L327/1.

Diaz, R.J., Solan, M., Valente, R.M., 2004. A review of approaches for classifying benthic habitats and evaluating habitat quality. *J. Environ. Manag.*

Dolédec, S., Statzner, B., 2008. Invertebrate traits for the biomonitoring of large European rivers: an assessment of specific types of human impact. *Freshw. Biol.* 53:617–634.

Dos Santos A, Calijuri MdC, Moraes E, Adorno M, Falco P, Carvalho D, et al., 2003. Comparison of three methods for Chlorophyll determination: Spectrophotometry and Fluorimetry in samples containing pigment mixtures and spectrophotometry in samples with separate pigments through High Performance Liquid Chromatography. *Acta Limnol Bras*;15(3):7–18.

Dos Santos, H. F., Cury, J. C., do Carmo, F. L., Dos Santos, A. L., Tiedje, J., van Elsas, J. D., Rosado, A. S., Peixoto, R. S., 2011. Mangrove bacterial diversity and the impact of oil contamination revealed by pyrosequencing: bacterial proxies for oil pollution.

Dowle, E., Pochon, X., Keeley, N., Wood, S., 2015. Assessing the effects of salmon farming seabed enrichment using bacterial community diversity and high-throughput sequencing. *FEMS Microbiol. Ecol.* 91.

Dunthorn, M., Otto, J., Berger, S.A., Stamatakis, A., Mahé, F., Romac, S., De Vargas, C., Audic, S., Stock, A., Kauff, F., Stoeck, T., Edvardsen, B., Massana, R., Not, F., Simon, N., Zingone, A., 2014. Placing environmental next-generation sequencing amplicons from microbial eukaryotes into a phylogenetic context. *Mol. Biol. Evol.* 31:993–1009.

Edgar, G. J., Alexander, T. J., Lefcheck, J. S., Bates, A. E., Kininmonth, S. J., Thomson, R. J., Duffy, J. E., Costello, M. J., Stuart-Smith, R. D., 2017. Abundance and local-scale processes contribute to multi-phyyla gradients in global marine diversity. *Sci. Adv.* 3, e1700419.

EFI+ CONSORTIUM, 2009. Manual for the Application of the New European Fish Index – EFI+. A Fish-based Method to Assess the Ecological Status of European Running Waters in Support of the Water Framework Directive. June 2009.

Eiler, A., Drakare, S., Bertilsson, S., Pernthaler, J., Peura, S., Rofner, C., Simek, K., Yang, Y., Znachor, P., Lindström, E. S., 2013. Unveiling distribution patterns of freshwater phytoplankton by a next generation sequencing based approach.

Eker-Develi E, Berthon JF, Canuti E, Slabakova N, Moncheva S, Shtereva G, et al., 2012. Phytoplankton taxonomy based on CHEMTAX and microscopy in the northwestern Black Sea. *Journal of Marine Systems*; 94:18–32.

Elbrecht, V., Leese, F., 2015. Can DNA-based ecosystem assessments quantify species abundance? Testing primer bias and biomass-sequence relationships with an innovative metabarcoding protocol. *10:1–16*.

Elbrecht, V., Peinert, B., Leese, F., 2017. Sorting things out: assessing effects of unequal specimen biomass on DNA metabarcoding. *Ecol. Evol.* 7:6918–6926.

Elbrecht, V., Taberlet, P., Dejean, T., Valentini, A., Usseglio-Polatera, P., Beisel, J.-N., Coissac, E., Boyer, F., Leese, F., 2016. Testing the potential of a ribosomal 16S marker for DNA metabarcoding of insects. *PeerJ* 4, e1966.

Elbrecht, V., Vamos, E.E., Meissner, K., Aroviita, J., Leese, F., 2017. Assessing strengths and weaknesses of DNA metabarcoding-based macroinvertebrate identification for routine stream monitoring. *Methods Ecol. Evol.* 8:1265–1275.

Elias, C.L., Calapez, A.R., Almeida, S.F.P., Chessman, B., Simões, N., Feio, M.J., 2016. Predicting reference conditions for river bioassessment by incorporating boosted trees in the environmental filters method. *Ecol. Indic.* 69:239–251.

Eloranta, P., 1986. Phytoplankton structure in different lake types in central Finland. *Holarctic Ecology*, 9, 214–224.

Esling, P., Lejzerowicz, F., Pawlowski, J., 2015. Accurate multiplexing and filtering for high-throughput amplicon-sequencing. *Nucleic Acids Res.* 43:2513–2524.

Esteves, S. M., Keck, F., Almeida, S. F. P., Figueira, E., Bouchez, A., Rimet, F., 2017. Can we predict diatoms herbicide sensitivities with phylogeny? Influence of intraspecific and interspecific variability. *Ecotoxicology* 26:1065–1077.

European Commission, 2017. Report from the commission to the european parliament and the council assessing member states' monitoring programmes under the marine strategy framework directive.

European Union Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for the community action in the field of water policy. *Journal of the European Communities* 22/12/2000 L327/1. 2000.

Evans, N. T., Olds, B. P., Renshaw, M. A., Turner, C. R., Li, Y., Jerde, C. L., Mahon, A. R., Pfrender, M. E., Lamberti, G. A., Lodge, D. M., 2016. Quantification of mesocosm fish and

amphibian species diversity via environmental DNA metabarcoding. *Mol. Ecol. Resour.* 16: 29–41.

Feio, M. J., Aguiar, F. C., Almeida, S. F. P., Ferreira, J., Ferreira, M. T., Elias, C., Serra, S. R. Q., Buffagni, A., Cambra, J., Chauvin, C., Delmas, F., Dörflinger, G., Erba, S., Flor, N., Ferréol, M., Germ, M., Mancini, L., Manolaki, P., Marcheggiani, S., Minciardi, M. R., Munné, A., Papastergiadou, E., Prat, N., Puccinelli, C., Rosebery, J., Sabater, S., Ciadamidaro, S., Tornés, E., Tziortzis, I., Urbanič, G., Vieira, C., 2014. Least disturbed condition for European Mediterranean rivers. *Sci. Total Environ.* 476–477:745–756.

Feio, M. J., Aguiar, F. C., Almeida, S. F. P., Ferreira, M. T., 2012. AQUAFLORA: a predictive model based on diatoms and macrophytes for streams water quality assessment. *Ecol. Indic.* 18:586–598.

Feio, M. J., Ferreira, J., Buffagni, A., Erba, S., Dörflinger, G., Ferréol, M., Munné, A., Prat, N., Tziortzis, I., Urbanič, G., 2014. Comparability of ecological quality boundaries in the Mediterranean basin using freshwater benthic invertebrates. Statistical options and implications. *Sci. Total Environ.* 476–477:777–784.

Feio, M. J., Poquet, J. M., 2011. Predictive models for freshwater biological assessment: statistical approaches. Biological elements and the Iberian Peninsula experience: a re- view. *Int. Rev. Hydrobiol.*

Feio, M. J., Viana-Ferreira, C., Costa, C., 2014. Testing a multiple machine learning tool (HYDRA) for the bioassessment of fresh waters. *Freshw. Sci.* 33 (4), 1286–1296.

Ficetola, G. F., Pansu, J., Bonin, A., Coissac, E., Giguet-Covex, C., De Barba, M., Gielly, L., Lopes, C. M., Boyer, F., Pompanon, F., Rayé, G., Taberlet, P., 2015. Replication levels, false pres- ences and the estimation of the presence/absence from eDNA metabarcoding data. *Mol. Ecol. Resour.* 15:543–556.

Ficetola, G. F., Taberlet, P., Coissac, E., 2016. How to limit false positives in environmental DNA and metabarcoding? *Mol. Ecol. Resour.* 16:604–607.

Field C. B., Behrensfield M. J., Randerson J. T. & Falkowski P., 1998. Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *Science*, 281, 237– 240.

Foissner, W., Berger, H., 1996. A user-friendly guide to the ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. *Freshw. Biol.* 35:375–482.

Foote, A. D., Thomsen, P. F., Sveegaard, S., Wahlberg, M., Kielgast, J., Kyhn, L. A., Salling, A. B., Galatius, A., Orlando, L., Gilbert, M. T. P., 2012. Investigating the potential use of environmental DNA (eDNA) for genetic monitoring of marine mammals.

Fornaroli, R., Cabrini, R., Zaupa, S., Bettinetti, R., Ciampittiello, M., Boggero, A., 2016. Quantile regression analysis as a predictive tool for lake macroinvertebrate biodiversity. *Ecol. Indic.* 61:728–738.

Freiberg R, Nõmm M, Tõnno I, Alliksaar T, Nõges T, Kisand A. Dynamics of phytoplankton pigments in water and surface sediments of a large shallow lake. *Estonian Journal of Earth Sciences*. 2011;60(2):91–101.

Furlan, E. M., Gleeson, D., Hardy, C. M., Duncan, R. P., 2016. A framework for estimating the sensitivity of eDNA surveys. *Mol. Ecol. Resour.* 16:641–654.

Garibotti I. A., Vernet M., Kozłowski W. A., Ferrario M. E.. Composition and biomass of phytoplankton assemblages in coastal Antarctic waters: a comparison of chemotaxonomic and microscopic analyses. *Marine Ecology Progress Series*. 2003;247:27–42.

Geiger, M. F., Herder, F., Monaghan, M. T., Almada, V., Barbieri, R., Bariche, M., Berrebi, P., Bohlen, J., Casal-Lopez, M., Delmastro, G.B., Denys, G.P.J., Dettai, A., Doadrio, I., Kalogianni, E., Kärst, H., Kottelat, M., Kovačić, M., Laporte, M., Lorenzoni, M., Marčić, Z., Özuluğ, M., Perdices, A., Perea, S., Persat, H., Porcelotti, S., Puzzi, C., Robalo, J., Šanda, R., Schneider, M., Šlechtová, V., Stoumboudi, M., Walter, S., Freyhof, J., 2014. Spatial heterogeneity in the Mediterranean biodiversity hotspot affects barcoding accuracy of its freshwater fishes. *Mol. Ecol. Resour.* 14:1210–1221.

Geider R.J., Delucia E.H., Falkowski P.G., Finzi A.C. et al., 2001. Primary productivity of planet earth: biological determinants and physical constraints in terrestrial and aquatic habitats. *Global Change Biology*, 7, 849–882.

Gibb S. W., Cummings D. G., Irigoien X., Barlow R. G., Fauzi R., Mantoura C., 2001. Phytoplankton pigment chemotaxonomy of the northeastern Atlantic. *Deep-Sea Res Part II-Top Stud Oceanogr.*; 48(4–5):795–823.

Gibson, J. F., Shokralla, S., Curry, C., Baird, D. J., Monk, W. A., King, I., Hajibabaei, M., 2015. Large-scale biomonitoring of remote and threatened ecosystems via high-throughput sequencing.

Gieskes W. W. C. & Kraay G. W., 1983. Dominance of Cryptophyceae during the phytoplankton spring bloom in the central North Sea detected by HPLC analysis of pigments. *Marine Biology*, 75, 179–185

Giner, C. R., Forn, I., Romac, S., Logares, R., de Vargas, C., Massana, R., 2016. Environmental sequencing provides reasonable estimates of the relative abundance of specific picoeukaryotes. *Appl. Environ. Microbiol.* 82:4757–4766.

Goericke R. & Montoya J. P., 1998. Estimating the contribution of microalgal taxa to chlorophyll a in the field-variations of pigment ratios under nutrient-and light-limited growth. *Marine Ecology Progress Series*, 169, 97–112.

Goldberg, C. S., Strickler, K. M., Pilliod, D. S., 2015. Moving environmental DNA methods from concept to practice for monitoring aquatic macroorganisms. *Biol. Conserv.* 183:1–3.

Goldberg, C. S., Turner, C. R., Deiner, K., Klymus, K. E., Thomsen, P. F., Murphy, M. A., Spear, S. F., McKee, A., Oyler-McCance, S. J., Cornman, R. S., Laramie, M.B., Mahon, A.R., Lance, R. F., Pilliod, D. S., Strickler, K. M., Waits, L. P., Fremier, A. K., Takahara, T., Herder, J. E., Taberlet, P., 2016. Critical considerations for the application of environmental DNA methods to detect aquatic species. *Methods Ecol. Evol.* 7:1299–1307.

Greisberger S., Dokulil M. T., Teubner K., 2008. A comparison of phytoplankton size-fractions in Mondsee, an alpine lake in Austria: distribution, pigment composition and primary production rates. *Aquatic Ecology*;42(3):379–89.

Greisberger S, Teubner K., 2007. Does pigment composition reflect phytoplankton community structure in differing temperature and light conditions in a deep alpine lake? An approach using HPLC and delayed fluorescence techniques. *J Phycol.*;43(6):1108–19.

Groendahl, S., Kahlert, M., Fink, P., 2017. The best of both worlds: a combined approach for analyzing microalgal diversity via metabarcoding and morphology-based methods.

Guardiola, M., Uriz, M.J., Taberlet, P., Coissac, E., Wangenstein, O.S., Turon, X., 2015. Deep-sea, deep-sequencing: metabarcoding extracellular DNA from sediments of marine canyons.

Guiry, M. D., 2012. How many species of algae are there? *Journal of Phycology*; 48 (5), 1057-1063

Guisande C., Barreiro A., Acuna A., Marciales L. J., Hernandez E., Torres A. M., et al., 2008. Testing of the CHEMTAX program in contrasting Neotropical lakes, lagoons, and swamps. *Limnology and Oceanography-Methods*; 6:643–52.

Haase, P., Murray-Bligh, J., Lohse, S., Pauls, S., Sundermann, A., Gunn, R., Clarke, R., 2006. Assessing the impact of errors in sorting and identifying macroinvertebrate samples. *Hydrobiologia* 566:505–521.

Hadziavdic, K., Lekang, K., Lanzen, A., Jonassen, I., Thompson, E.M., Troedsson, C., 2014. Characterization of the 18s rRNA gene for designing universal eukaryote specific primers.

Hajibabaei, M., Shokralla, S., Zhou, X., Singer, G. A. C., Baird, D.J., 2011. Environmental barcoding: a next-generation sequencing approach for biomonitoring applications using river benthos.

Hajibabaei, M., Spall, J. L., Shokralla, S., van Konynenburg, S., 2012. Assessing biodiversity of a freshwater benthic macroinvertebrate community through non-destructive environmental barcoding of DNA from preservative ethanol. *BMC Ecol.* 12:28.

Hänfling, B., Lawson Handley, L., Read, D. S., Hahn, C., Li, J., Nichols, P., Blackman, R. C., Oliver, A., Winfield, I. J., 2016. Environmental DNA metabarcoding of lake fish communities reflects long-term data from established survey methods. *Mol. Ecol.*

Havskum H, Schluter L, Scharek R, Berdalet E, Jacquet S. Routine quantification of phytoplankton groups—microscopy or pigment analyses? *Marine Ecology Progress Series*. 2004;273:31–42.

Heckey R.E. & Kilham P., 1988. Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: a review of recent evidence on the effects of enrichment. *Limnology and Oceanography*, 33, 796–822.

Herbold, C. W., Pelikan, C., Kuzyk, O., Hausmann, B., Angel, R., Berry, D., Loy, A., 2015. A flexible and economical barcoding approach for highly multiplexed amplicon sequencing of diverse target genes. *Front. Microbiol.* 6.

Hering, D., Borja, A., Jones, J. I., Pont, D., Boets, P., Bouchez, A., Bruce, K., Drakare, S., Hänfling, B., Kahlert, M., Leese, F., Meissner, K., Mergen, P., Reyjol, Y., Segurado, P., Vogler, A., Kelly, M., 2018. Implementation options for DNA-based identification into ecological status assessment under the European water framework directive. *Water Res.* 138:192–205.

Hering, D., Feld, C. K., Moog, O., Ofenböck, T., 2006. Cook book for the development of a multimetric index for biological condition of aquatic ecosystems: experiences from the European AQEM and STAR projects and related initiatives. *Hydrobiologia* 566: 311–324.

Higgins W. H., Wright S. W. & Schluter L., 2011. Quantitative interpretation of chemotaxonomic pigment data. In: *Phytoplankton Pigments: Characterization, Chemotaxonomy and Applications in Oceanography* (Eds S. Roy, C.A. Llewellyn, E.S. Egeland & G. Johnsen), pp. 257–313. Cambridge University Press, Cambridge.

Hillebrand H. & Matthiessen B., 2009. Biodiversity in a complex world: consolidation and progress in functional biodiversity research: consolidation and progress in BDEF research. *Ecology Letters*, 12, 1405–1419

Hillebrand H. D., DuÈrselen D., Kirschtel D., Pollinger U. & Zohary T., 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*, 35, 403–424.

Hooker S. B., Clementson L., Thomas C. S., Schluter L., Allerup M., Ras J. et al., 2012. The Fifth SeaWiFS HPLC Analysis Round-Robin Experiment (SeaHARRE-5). NASA Technical Memorandum. NASA Goddard Space Flight Center, Greenbelt.

Hooker S. B., van Heukelem L., Thomas C. S., Claustre H., Ras J., Barlow R. et al., 2005. The Second Sea-WiFS HPLC Analysis Round-Robin Experiment (SeaHARRE-2). NASA Technical Memorandum. NASA Goddard Space Flight Center, Greenbelt.

Hulot F. D., Lacroix G., Lescher-Moutoue F. & Loreau M., 2000. Functional diversity governs ecosystem response to nutrient enrichment. *Nature*, 405, 340–344.

Irigoiien X, Meyer B, Harris R, Harbour D., 2004. Using HPLC pigment analysis to investigate phytoplankton taxonomy: the importance of knowing your species. *Helgoland Marine Research*; 58(2):77–82.

Irigoiien X., Huisman J. & Harris R.P., 2004. Global biodiversity patterns of marine phytoplankton and zooplankton. *Nature*, 429, 863–867.

Jackson, M. C., Weyl, O. L. F., Altermatt, F., Durance, I., Friberg, N., Dumbrell, A. J., Piggott, J. J., Tiegs, S. D., Tockner, K., Krug, C. B., Leadley, P.W., Woodward, G., 2016. Recommendations for the next generation of global freshwater biological monitoring tools. *Advances in Ecological Research*:pp. 615–636.

Jarvinen M., Drakare S., Free G., Lyche-Solheim A., Phillips G., Skjelbred B. et al., 2013. Phytoplankton indicator taxa for reference conditions in Northern and Central European lowland lakes. *Hydrobiologia*, 704, 97–113.

Jeffrey S. W., Humphrey G. F., 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a,b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem Physiol Pflanzen*; 167:191–4.

Jeffrey S. W., Wright S. W., Zapata M., 1999. Recent advances in HPLC pigment analysis of phytoplankton. *Marine and Freshwater Research*; 50(8):879–96.

Jeppesen E., Jensen J. P., Søndergaard M., Lauridsen T. & Landkildehus F., 2000. Trophic structure, species richness and biodiversity in Danish lakes: changes along a phosphorus gradient. *Freshwater Biology*, 45, 201–218.

Johnson, R. K., Sandin, L., 2001. Development of a Prediction and Classification System for Lake (Littoral) and Stream (Riffle) Macroinvertebrate Communities. Stencil. Department of Environmental Assessment, SLU, Uppsala, Sweden.

Jones J. I., Davy-Bowker J., Murphy J. F., Pretty J. L., 2010. Ecological monitoring and assessment of pollution in rivers. In: *Ecology of Industrial Pollution: Remediation, Restoration and Preservation* L. Batty, (CUP).

Jones, F. C., 2008. Taxonomic sufficiency: the influence of taxonomic resolution on freshwater bioassessments using benthic macroinvertebrates. *Environ. Rev.* 16:45–69.

Joy, M. K., Death, R. G., 2004. Application of the index of biotic integrity methodology to New Zealand freshwater fish communities. *Environ. Manag.* 34:415–428.

Kahlert, M., Albert, R. L., Anttila, E. L., Bengtsson, R., Bigler, C., Eskola, T., Gälman, V., Gottschalk, S., Herlitz, E., Jarlman, A., Kasperoviciene, J., Kokociński, M., Luup, H., Miettinen, J., Paunksnyte, I., Piirsoo, K., Quintana, I., Raunio, J., Sandell, B., Simola, H., Sundberg, I., Vilbaste, S., Weckström, J., 2009. Harmonization is more important than experience—results of the first Nordic-Baltic diatom intercalibration exercise 2007 (stream monitoring). *J. Appl. Phycol.* 21:471–482.

Keck, F., Rimet, F., Bouchez, A., Franc, A., 2016. Phylosignal: an R package to measure, test, and explore the phylogenetic signal. *Ecol. Evol.* 6:2774–2780.

- Keck, F., Rimet, F., Franc, A., Bouchez, A., 2016. Phylogenetic signal in diatom ecology: perspectives for aquatic ecosystems biomonitoring. *Ecol. Appl.* 26:861–872.
- Keck, F., Vasselon, V., Tapolczasi, K., Rimet, F., Bouchez, A., 2017. Freshwater biomonitoring in the information age. *Front. Ecol. Environment* 15 (5):266–274.
- Kelly, M., Boonham, N., Juggins, S., Killie, P., Mann, D., Pass, D., Sapp, M., Sato, S., Glover, R., 2018. A DNA based Diatom Metabarcoding Approach for Water Framework Directive Classification of Rivers.
- Kelly, R. P., 2016. Making environmental DNA count. *Mol. Ecol. Resour.* 16:10–12.
- Kelly, R. P., Closek, C. J., O'Donnell, J. L., Kralj, J. E., Shelton, A. O., Samhuri, J. F., 2017. Genetic and manual survey methods yield different and complementary views of an ecosystem. *Front. Mar. Sci.* 3.
- Kelly, R. P., Port, J. A., Yamahara, K. M., Crowder, L. B., 2014. Using environmental DNA to census marine fishes in a large mesocosm. e86175.
- Kelly, R. P., Port, J. A., Yamahara, K. M., Martone, R. G., Lowell, N., Thomsen, P. F., Mach, M. E., Bennett, M., Prahler, E., Caldwell, M. R., Crowder, L. B., 2014. Harnessing DNA to improve environmental management. *Science* 344:1455–1456.
- Kennard, M.J., Pusey, B.J., Arthington, A.H., Harch, B.D., Mackay, S.J., 2006. Development and application of a predictive model of freshwater fish assemblage composition to evaluate river health in eastern Australia. *Hydrobiologia* 572:33–57.
- Kenney, M.A., Sutton-Grier, A.E., Smith, R.F., Gresens, S.E., 2009. Benthic macroinvertebrates as indicators of water quality: The intersection of science and policy. *Terr. Arthropod Rev.* 2:99–128.
- Kermarrec, L., Franc, A., Rimet, F., Chaumeil, P., Frigerio, J.-M., Humbert, J.-F., Bouchez, A., 2014. A next-generation sequencing approach to river biomonitoring using benthic diatoms. *Freshw. Sci.* 33:349–363.
- Kermarrec, L., Franc, A., Rimet, F., Chaumeil, P., Humbert, J.F., Bouchez, A., 2013. Next-generation sequencing to inventory taxonomic diversity in eukaryotic communities: a test for freshwater diatoms. *Mol. Ecol. Resour.* 13:607–619.
- Kernan, M., Ferreira, M. T., Poikane, S., Prat, N., Solheim, A. L., Stroffek, S., Usseglio-Polatera, P., Villeneuve, B., van de Bund, W., 2014. Assessing the ecological status in the context of the European water framework directive: where do we go now? *Sci. Total Environ.* 497–498:332–344.
- Kilham P. & Hecky R.E., 1988. Comparative ecology of marine and freshwater. *Limnology and Oceanography*, 33, 776–795.

- Kimberling, D. N., Karr, J. R., Fore, L. S., 2001. Measuring human disturbance using terrestrial invertebrates in shrub-steppe of eastern Washington (USA). *Ecol. Indic.* 1:63–81.
- Kisand, V., Valente, A., Lahm, A., Tanet, G., Lettieri, T., 2012. Phylogenetic and functional metagenomic profiling for assessing microbial biodiversity in environmental monitoring.
- Knights, D., Costello, E. K., Knight, R., 2011. Supervised classification of human microbiota. *FEMS Microbiol. Rev.* 35:343–359.
- Kolkowitz, R., Marsson, M., 1908. *Okologie der pflanzlichen Saprobien*. Ber. Dtsch. Bot.
- Kovala P. E., Larrance J. D., 1966. Computation of phytoplankton cell numbers, cell volumes, cell surface and plasma volume volume per litre from microscopical counts. *Univ Wash Publ Oceanogr*; 38:1–21.
- Kozlowski WA, Deutschman D, Garibotti I, Trees C, Vernet M., 2011. An evaluation of the application of CHEMTAX to Antarctic coastal pigment data. *Deep-Sea Research Part I-Oceanographic Research Papers*; 58(4):350–64.
- Krebs C., 1999. *Ecological Methodology*. Harper & Row, New York.
- Kumari B., 2005. Comparison of high performance liquid chromatography and fluorometric ocean colour pigments. *Photonirvachak-Journal of the Indian Society of Remote Sensing*; 33(4):541–6.
- Lallias, D., Hiddink, J.G., Fonseca, V.G., Gaspar, J.M., Sung, W., Neill, S.P., Barnes, N., Ferrero, T., Hall, N., Lamshead, P.J.D., Packer, M., Thomas, W.K., Creer, S., 2015. Environmental metabarcoding reveals heterogeneous drivers of microbial eukaryote diversity in contrasting estuarine ecosystems. *ISME J.* 9:1208–1221.
- Landry MR, Ondrusek ME, Tanner SJ, Brown SL, Constantinou J, Bidigare RR, et al., 2000. Biological response to iron fertilization in the eastern equatorial Pacific (IronEx II). I. Microplankton community abundances and biomass. *Marine Ecology Progress Series*; 201:27–42.
- Lanzén, A., Lekang, K., Jonassen, I., Thompson, E.M., Troedsson, C., 2017. DNA extraction replicates improve diversity and compositional dissimilarity in metabarcoding of eu- karyotes in marine sediments. *12:1–18*.
- Laroche, O., Wood, S.A., Tremblay, L.A., Lear, G., Ellis, J.I., Pochon, X., 2017. Metabarcoding monitoring analysis: the pros and cons of using co-extracted environmental DNA and RNA data to assess offshore oil production impacts on benthic communities. *PeerJ* 5, e3347.
- Larras, F., Keck, F., Montuelle, B., Rimet, F., Bouchez, A., 2014. Linking diatom sensitivity to herbicides to phylogeny: a step forward for biomonitoring? *Environ. Sci. Technol.* 48: 1921–1930.

Lassen M. K., Nielsen K. D., Richardson K., Garde K., Schluter L., 2010. The effects of temperature increases on a temperate phytoplankton community - a mesocosm climate change scenario. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 383, 79–88.

Latasa M., 2007. Improving estimations of phytoplankton class abundances using CHEMTAX. *Marine Ecology Progress Series*; 329:13–21.

Lauridsen T.L., Schluter L. & Johansson L.S., 2011. Determining algal assemblages in oligotrophic lakes and streams: comparing information from newly developed pigment/chlorophyll a ratios with direct microscopy. *Freshwater Biology*, 56, 1638–1651.

Leese, F., Bouchez, A., Abarenkov, K., Altermatt, F., Borja, Á., Bruce, K., Ekrem, T., Čiampor Jr., F., Čiamporová-Zaťovičová, Z., Costa, F.O., Duarte, S., Elbrecht, V., Fontaneto, D., Franc, A., Geiger, M.F., Hering, D., Kahlert, M., Stroil, B.K., Kelly, M., Keskin, E., Liska, I., Mergen, P., Meissner, K., Pawlowski, J., Penev, L., Reyjol, Y., Rotter, A., Steinke, D., van der Wal, B., Vitecek, S., Zimmermann, J., Weigand, A.M., 2018. Why we need sustainable networks bridging countries, disciplines, cultures and generations for aquatic biomonitoring 2.0: a perspective derived from the DNAqua-Net COST action. *Adv. Ecol. Res.*

Leibold M.A., 1999. Biodiversity and nutrient enrichment in pond plankton communities. *Evolutionary Ecology Research*, 1, 73–95.

Lejzerowicz, F., Esling, P., Pillet, L., Wilding, T.A., Black, K.D., Pawlowski, J., 2015. High-throughput sequencing and morphology perform equally well for benthic monitoring of marine ecosystems. *Sci. Rep.* 5, 13932.

Leray, M., Knowlton, N., 2015. DNA barcoding and metabarcoding of standardized samples reveal patterns of marine benthic diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 112: 2076–2081.

Leray, M., Yang, J.Y., Meyer, C.P., Mills, S.C., Agudelo, N., Ranwez, V., Boehm, J.T., Machida, R.J., 2013. A new versatile primer set targeting a short fragment of the mitochondrial COI region for metabarcoding metazoan diversity: application for characterizing coral reef fish gut contents. *Front. Zool.* 10.

Litchman E., de Tezanos Pinto P., Klausmeier C.A., Thomas M.K. & Yoshiyama K., 2010. Linking traits to species diversity and community structure in phytoplankton. *Hydrobiologia*, 653, 15–28.

Litchman E., Klausmeier C.A., Schofield O.M. & Falkowski P.G., 2007. The role of functional traits and trade-offs in structuring phytoplankton communities: scaling from cellular to ecosystem level. *Ecology Letters*, 10, 1170–1181.

Lobo, J., Shokralla, S., Costa, M.H., Hajibabaei, M., Costa, F.O., 2017. DNA metabarcoding for high-throughput monitoring of estuarine macrobenthic communities. *Sci. Rep.* 7.

Logez, M., Bady, P., Melcher, A., Pont, D., 2013. A continental-scale analysis of fish assemblage functional structure in European rivers. *Ecography (Cop.)* 36:080–091.

- Lund J. W. G., Kipling G. & Le Creen E.D., 1958. The inverted microscope method of estimating algae numbers and the statistical basis of estimation by counting. *Hydrobiologia*, 11, 143–170.
- Macher, J.N., Zizka, V.M.A., Weigand, A.M., Leese, F., 2017. A simple centrifugation protocol for metagenomic studies increases mitochondrial DNA yield by two orders of magnitude. *Methods Ecol. Evol.*
- Mächler, E., Deiner, K., Spahn, F., Altermatt, F., 2016. Fishing in the water: effect of sampled water volume on environmental DNA-based detection of macroinvertebrates. *Environ. Sci. Technol.* 50:305–312.
- Mächler, E., Deiner, K., Steinmann, P., Altermatt, F., 2014. Utility of environmental DNA for monitoring rare and indicator macroinvertebrate species. *Freshw. Sci.* 33:1174–1183.
- Mack, J.J., 2002. Vegetation Index of Biotic Integrity (I/IBI) for Wetlands. Final Rept. U.S. EPA Grant CD985875-07. Ohio EPA, Division of SurfaceWater, Columbus, OH.
- Mackey D. J., Higgins H. W., Mackey M. D., Holdsworth D., 1998. Algal class abundances in the western equatorial Pacific: Estimation from HPLC measurements of chloroplast pigments using CHEMTAX. *Deep-Sea Research Part I-Oceanographic Research Papers*; 45(9):1441–68.
- Mackey M. D., Higgins H. W., Mackay D. J., Wright S. W., 1997. CHEMTAX User's Manual: A Program for Estimating Class Abundances from Chemical Markers-Application to HPLC Measurements of Phytoplankton Pigments. Report Hobart Australia: CSIRO Marine Laboratories Report 229.
- Mackey M. D., Mackey D.J., Higgins H. W., Wright S. W., 1996. CHEMTAX - a program, for estimating class abundance from chemical markers, application to HPLC measurements of phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series*, 144, 265–283.
- Mahé, F., De Vargas, C., Bass, D., Czech, L., Stamatakis, A., Lara, E., Singer, D., Mayor, J., Bunge, J., Sernaker, S., Siemensmeyer, T., Trautmann, I., Romac, S., Berney, C., Kozlov, A., Mitchell, E.A.D., Seppey, C.V.W., Egge, E., Lentendu, G., Wirth, R., Trueba, G., Dunthorn, M., 2017. Parasites dominate hyperdiverse soil protist communities in Neotropical rainforests. *Nat. Ecol. Evol.* 1:1–8.
- Mahé, F., Rognes, T., Quince, C., De Vargas, C., Dunthorn, M., 2015. Swarm v2: highly-scalable and high-resolution amplicon clustering. *PeerJ* 3, e1420.
- Margalef, R., 1980. *Ecología*. Ediciones Omega, Barcelona.
- Magurran A., 2004. *Measuring Biological Biodiversity*. Blackwell Science Ltd, Oxford.
- Menden-Deuer S. & Lessard E.J. (2000) Carbon to volume relationships for dinoflagellates, diatoms, and other protist plankton. *Limnology and Oceanography*, 45, 569–579.

- Marinho M. M., Rodrigues S.V., 2003. Phytoplankton of an eutrophic tropical reservoir: comparison of biomass estimated from counts with chlorophyll-a biomass from HPLC measurements. *Hydrobiologia*; 505(1–3):77–88.
- Mateo, P., Leganés, F., Perona, E., Loza, V., Fernández-Piñas, F., 2015. Cyanobacteria as bioindicators and bioreporters of environmental analysis in aquatic ecosystems. *Biodivers. Conserv.*
- Menezes, S., Baird, D. J., Soares, A. M. V. M., 2010. Beyond taxonomy: a review of macroinvertebrate trait-based community descriptors as tools for freshwater biomonitoring. *J. Appl. Ecol.*
- Millie D. F., Paerl H. W., Hurley J. P., 1993. Microalgal Pigment Assessments Using High-Performance Liquid Chromatography: A Synopsis of Organismal and Ecological Applications. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*; 50(11):2513–27.
- Miya, M., Sato, Y., Fukunaga, T., Sado, T., Poulsen, J.Y., Sato, K., Minamoto, T., Yamamoto, S., Yamanaka, H., Araki, H., Kondoh, M., Iwasaki, W., 2015. MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *R. Soc. Open Sci.* 2, 150088.
- Morgan, M. J., Chariton, A. A., Hartley, D. M., Court, L. N., Hardy, C. M., 2013. Improved inference of taxonomic richness from environmental DNA.
- Moustaka-Gouni M., 1993. Phytoplankton succession and diversity in a warm monomictic, relatively shallow lake: lake Volvi, Macedonia, Greece. In: *Intermediate Disturbance Hypothesis in Phytoplankton Ecology* (Eds J. Padisak, C.S. Reynolds & U. Sommer), pp. 33–42. Springer, Dordrecht.
- Murphy, J. F., Jones, J. I., Pretty, J. L., Duerdoth, C. P., Hawczak, A., Arnold, A., Blackburn, J. H., Naden, P. S., Old, G., Sear, D. A., Hornby, D., Clarke, R. T., Collins, A. L., 2015. Development of a biotic index using stream macroinvertebrates to assess stress from deposited fine sediment. *Freshw. Biol.* 60:2019–2036.
- Muylaert K., Sabbe K. & Vyverman W., 2009. Changes in phytoplankton diversity and community composition along the salinity gradient of the Schelde estuary (Belgium/The Netherlands). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 82, 335–340.
- Nicklisch A, Woitke P., 1999. Pigment content of selected planktonic algae in response to simulated natural light fluctuations and a short photoperiod. *International Review of Hydrobiology*; 84(5):479–95.
- Nöges T, Arst H, Laas A, Kauer T, Nöges P, Töming K., 2011. Reconstructed long-term time series of phytoplankton primary production of a large shallow temperate lake: the basis to assess the carbon balance and its climate sensitivity. *Hydrobiologia*; 667(1):205–22.

- Nöges T, Nöges P., 2012. Encyclopedia of lakes on reservoirs. In: Bengtsson L, Herschy RW, Fairbridge R, editors. Encyclopedia of Earth Sciences Series: Springer Netherlands; p. 850–60.
- Ofenböck, T., Moog, O., Gerritsen, J., Barbour, M., 2004. A stressor specific multimetric approach for monitoring running waters in Austria using benthic macro-invertebrates. *Hydrobiologia* 516:251–268.
- Olds, B.P., Jerde, C.L., Renshaw, M.A., Li, Y., Evans, N.T., Turner, C.R., Deiner, K., Mahon, A.R., Brueseke, M.A., Shirey, P.D., Pfrender, M.E., Lodge, D.M., Lamberti, G.A., 2016. Estimating species richness using environmental DNA. *Ecol. Evol.* 6:4214–4226.
- Orfanidis, S., Papathanasiou, V., Sabetta, L., Pinna, M., Gigi, V., Gounaris, S., Tsiagga, E., Nakou, K., Theodosiou, T.H., 2007. Benthic macrophyte communities as bioindicators of transitional and coastal waters: relevant approaches and tools. *Trans. Waters Bull.* 1:45–49.
- Padisak J, Borics G, Grigorszky I, Soroczki-Pinter E., 2006. Use of phytoplankton assemblages for monitoring ecological status of lakes within the Water Framework Directive: the assemblage index. *Hydrobiologia*; 553:1–14.
- Pagenkopp Lohan, K.M., Fleischer, R.C., Carney, K.J., Holzer, K.K., Ruiz, G.M., 2016. Amplicon-based pyrosequencing reveals high diversity of protistan parasites in ships' ballast water: implications for biogeography and infectious diseases. *Microb. Ecol.* 71:530–542.
- Pander, J., Geist, J., 2013. Ecological indicators for stream restoration success. *Ecol. Indic.*
- Parmar, T.K., Rawtani, D., Agrawal, Y.K., 2016. Bioindicators: the natural indicator of environmental pollution. *Front. Life Sci.* 9:110–118.
- Pascualt, N., Roux, S., Artigas, J., Pesce, S., Leloup, J., Tadonleke, R.D., Debroas, D., Bouchez, A., Humbert, J.F., 2014. A high-throughput sequencing ecotoxicology study of freshwater bacterial communities and their responses to tebuconazole. *FEMS Microbiol. Ecol.* 90:563–574.
- Pauls, S.U., Lumbsch, H.T., Haase, P., 2006. Phylogeography of the montane caddisfly *Drusus discolor*: evidence for multiple refugia and periglacial survival. *Mol. Ecol.* 15: 2153–2169.
- Pawlowski, J., Esling, P., Lejzerowicz, F., Cedhagen, T., Wilding, T.A., 2014. Environmental monitoring through protist next-generation sequencing metabarcoding: assessing the impact of fish farming on benthic foraminifera communities. *Mol. Ecol. Resour.* 14:1129–1140.
- Pawlowski, J., Esling, P., Lejzerowicz, F., Cordier, T., Visco, J.A., Martins, C.I.M., Kvalvik, A., Staven, K., Cedhagen, T., 2016. Benthic monitoring of salmon farms in Norway using foraminiferal metabarcoding. *Aquac. Environ. Interact.* 8, 371–386.
- Pawlowski, J., Lejzerowicz, F., Apotheloz-Perret-Gentil, L., Visco, J., Esling, P., 2016. Protist metabarcoding and environmental biomonitoring: time for change. *Eur. J. Protistol.* 55, Part A:12–25.

- Pawlowski, J., Lejzerowicz, F., Esling, P., 2014. Next-generation environmental diversity surveys of foraminifera: preparing the future. *Biol. Bull.* 227 (2), 93–106.
- Pérez-Domínguez, R., Maci, S., Courrat, A., Lepage, M., Borja, A., Uriarte, A., Neto, J.M., Cabral, H., St. Raykov, V., Franco, A., Alvarez, M.C., Elliott, M., 2012. Current developments on fish-based indices to assess ecological-quality status of estuaries and lagoons. *Ecol. Indic.*
- Pielou, E. C. C., 1966. The measurement of diversity in different types of biological collections. *J. Theor. Biol.* 13:131–144.
- Pinckney J. L., Millie D. F. & Heukelem L. V., 2011. Update on filtration, storage and extraction solvents. In: *Phytoplankton Pigments: Characterization, Chemotaxonomy and Applications in Oceanography* (Eds S. Roy, C.A. Llewellyn, E.S. Egeland & G. Johnsen), pp. 627–635. Cambridge University Press, Cambridge.
- Pinna, M., Marini, G., Rosati, I., Neto, J.M., Patrício, J., Marques, J.C., Basset, A., 2013. The usefulness of large body-size macroinvertebrates in the rapid ecological assessment of Mediterranean lagoons. *Ecol. Indic.* 29:48–61.
- Piñol, J., Mir, G., Gomez-Polo, P., Agustí, N., 2015. Universal and blocking primer mismatches limit the use of high-throughput DNA sequencing for the quantitative metabarcoding of arthropods. *Mol. Ecol. Resour.* 15:819–830.
- Pochon, X., Wood, S.A., Keeley, N.B., Lejzerowicz, F., Esling, P., Drew, J., Pawlowski, J., 2015. Accurate assessment of the impact of salmon farming on benthic sediment enrichment using foraminiferal metabarcoding. *Mar. Pollut. Bull.* 100:370–382.
- Poff, N. L., Olden, J. D., Vieira, N. K. M., Finn, D.S., Simmons, M. P., Kondratieff, B. C., 2006. Functional trait niches of North American lotic insects: traits-based ecological applications in light of phylogenetic relationships. *J. North Am. Benthol. Soc.* 25: 730–755.
- Poikane S., Alves M. H., Argillier C., Berg M.V.D et al., 2010. Defining chlorophyll-a reference conditions in European lakes. *Environmental Management*, 45, 1286–1298.
- Poikane, S., Johnson, R. K., Sandin, L., Schartau, A. K., Solimini, A. G., Urbanič, G., Arbačiauskas, K. stutis, Aroviita, J., Gabriels, W., Miler, O., Pusch, M.T., Tim, H., Böhmer, J., 2016. Benthic macroinvertebrates in lake ecological assessment: a review of methods, intercalibration and practical recommendations. *Sci. Total Environ.* 543: 123–134.
- Poikane, S., Kelly, M., Cantonati, M., 2016. Benthic algal assessment of ecological status in European lakes and rivers: challenges and opportunities. *Sci. Total Environ.*
- Poikane, S., Zampoukas, N., Borja, A., Davies, S.P., van de Bund, W., Birk, S., 2014. Intercalibration of aquatic ecological assessment methods in the European Union: lessons learned and way forward. *Environ. Sci. Pol.* 44:237–246.

- Pont, D., et al., 2011. Water Framework Directive. Intercalibration Phase 2. River Fish European Intercalibration Group. Final Report to ECOSTAT. p. 105 (coordinateur).
- Preheim, S.P., Perrott, A.R., Martin-Platero, A.M., Gupta, A., Alm, E.J., 2013. Distribution-based clustering: using ecology to refine the operational taxonomic unit. *Appl. Environ. Microbiol.* 79:6593–6603.
- Previšić, A., Graf, W., Vitecek, S., Kučinić, M., Bálint, M., Keresztes, L., Pauls, S.U., Waringer, J., 2014. Cryptic diversity of caddisflies in the Balkans: the curious case of *Ecclisopteryx* species (Trichoptera: Limnephilidae). *Arthropod Syst. Phylogeny* 72, 309–329.
- Ratnasingham, S., Hebert, P. D. N., 2007. BOLD: the barcode of life data system: barcoding. *Mol. Ecol. Notes* 7:355–364.
- Reid F. M. H., 1983. Biomass estimation of components of the marine nanoplankton and picoplankton by the Utermöhl settling technique. *Journal of Plankton Research*; 5(2):235–52.
- Reuss N., Conley D. J., 2005. Effects of sediment storage conditions on pigment analyses. *Limnology and Oceanography-Methods*. 2005;3:477–87.
- Reyjol, Y., Argillier, C., Bonne, W., Borja, A., Buijse, A.D., Cardoso, A. C., Daufresne, M., Reynolds, C. S., Huszar, V., Kruk, C., Naselli-Flores, L., Melo, S., 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *J. Plankton Res.* 24:417–428.
- Reynoldson, T. B., Bailey, R. C., Day, K. E., Norris, R. H., 1995. Biological guidelines for freshwater sediment based on Benthic assessment of sediment (the BEAST) using a multivariate approach for predicting biological state. *Aust. J. Ecol.* 20:198–219.
- Reynoldson, T. B., Norris, R. H., Resh, V. H., Day, K. E., Rosenberg, D. M., 1997. The reference condition: a comparison of multimetric and multivariate approaches to assess water quality impairment using benthic macroinvertebrates. *J. North Am. Benthol. Soc.* 16, 833–852.
- Rimet, F., Abarca, N., Bouchez, A., Kusber, W.H., Jahn, R., Kahlert, M., Keck, F., Kelly, M., Mann, D.G., Piuze, A., Trobajo, R., Tapolczai, K., Vasselon, V., Zimmermann, J., 2018. The Potential of High Throughput Sequencing (HTS) of Natural Samples as a Source of Primary Taxonomic Information for reference libraries of Diatom Barcodes. *Fottea* 18/1.
- Rimet, F., Bouchez, A., 2012. Biomonitoring river diatoms: implications of taxonomic resolution. *Ecol. Indic.* 15:92–99.
- Rimet, F., Chaumeil, P., Keck, F., Kermarrec, L., Vasselon, V., Kahlert, M., Franc, A., Bouchez, A., 2016. R-Syst::diatom: An Open-access and Curated Barcode Database for Diatoms and Freshwater Monitoring. vol. 2016.
- Rimet, F., Trobajo, R., Mann, D. G., Kermarrec, L., Franc, A., Domaizon, I., Bouchez, A., 2014. When is sampling complete? The effects of geographical range and marker choice on perceived diversity in *Nitzschia palea* (Bacillariophyta). *Protist* 165:245–259.

- Rivera, S. F., Vasselon, V., Jacquet, S., Bouchez, A., Ariztegui, D., Rimet, F., 2018. Metabarcoding of lake benthic diatoms: from structure assemblages to ecological assessment. *Hydrobiologia* 807:37–51.
- Rombouts I., Beaugrand G., Artigas L. F., Dauvin J. C., Gevaert F., Goberville E., et al., 2013. Evaluating marine ecosystem health: Case studies of indicators using direct observations and modelling methods. *Ecological Indicators*; 24:353–65.
- Salis, R. K., Bruder, A., Piggott, J. J., Summerfield, T. C., Matthaei, C.D., 2017. High-throughput amplicon sequencing and stream benthic bacteria: identifying the best taxonomic level for multiple-stressor research. *Sci. Rep.* 7.
- Sangiorgio, F., Quintino, V., Rosati, I., Rodrigues, A. M., Pinna, M., Basset, A., 2014. Macrofauna in Mediterranean and Black Sea transitional aquatic ecosystems: a comparative study of the benthic populations sampled by box corer and leaf bags. *Ecol. Indic.* 38: 159–169.
- Sarmiento H. & Descy J.P., 2008. Use of marker pigments and functional groups for assessing the status of phytoplankton assemblages in lakes. *Journal of Applied Phycology*, 20, 1001–1011.
- Schirmer, M., Ijaz, U. Z., D'Amore, R., Hall, N., Sloan, W. T., Quince, C., 2015. Insight into biases and sequencing errors for amplicon sequencing with the Illumina MiSeq platform. *Nucleic Acids Res.* 43.
- Schlüter L., Lauridsen T. L., Krogh G., Jørgensen T., 2006. Identification and quantification of phytoplankton groups in lakes using new pigment ratios – a comparison between pigment analysis by HPLC and microscopy. *Freshwater Biology*, 51, 1474–1485.
- Schlüter L., Møhlenberg F., Havskum H., Larsen S., 2000. The use of phytoplankton pigments for identifying and quantifying phytoplankton groups in coastal areas: testing the influence of light and nutrients on pigment/ chlorophyll a ratios. *Marine Ecology Progress Series*, 192, 49–63.
- Schlüter L., Henriksen P., Nielsen T. G. & Jakobsen H. H., 2011. Phytoplankton composition and biomass across the southern Indian Ocean. *Deep-Sea Research I*, 58, 546– 556.
- Schlüter L. & Møhlenberg F., 2003. Detecting presence of phytoplankton groups with non-specific pigment signatures. *Journal of Applied Phycology*, 15, 465–476.
- Seymour, M., Deiner, K., Altermatt, F., 2016. Scale and scope matter when explaining varying patterns of community diversity in riverine metacommunities. *Basic Appl. Ecol.* 17:134–144.
- Seymour, M., Durance, I., Cosby, B. J., Ransom-Jones, E., Deiner, K., Ormerod, S. J., Colbourne, J. K., Wilgar, G., Carvalho, G. R., de Bruyn, M., Edwards, F., Emmett, B. A., Bik, H. M., Creer, S., 2018. Acidity promotes degradation of multi-species environmental DNA in lotic mesocosms. *Commun. Biol.* 1, 4.

Shannon, C. E., Weaver, W., 1949. *The Mathematical Theory of Information*. Urbana University of Illinois Press.

Shaw, J. L. A., Clarke, L. J., Wedderburn, S. D., Barnes, T. C., Weyrich, L. S., Cooper, A., 2016. Comparison of environmental DNA metabarcoding and conventional fish survey methods in a river system. *Biol. Conserv.* 197:131–138.

Shaw, J. L. A., Weyrich, L., Cooper, A., 2017. Using environmental (e)DNA sequencing for aquatic biodiversity surveys: a beginner's guide. *Mar. Freshw. Res.*

Sherrard N. J., Nimmo M., Llewellyn C. A., 2006. Combining HPLC pigment markers and ecological similarity indices to assess phytoplankton community structure: an environmental tool for eutrophication? *Science of the Total Environment*, 361, 97–110.

Shokralla, S., Spall, J. L., Gibson, J. F., Hajibabaei, M., 2012. Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. *Mol. Ecol.*

Sládeček, V., 1963. A guide to limnosaprobial organisms. *Sci. Pap. Inst. Chem. Technol. Prague, Technol. Water* 7, 543–612.

Smith, M. B., Rocha, A. M., Smillie, C. S., Olesen, S. W., Paradis, C., Wu, L., Campbell, J. H., Fortney, J. L., Mehlhorn, T. L., Lowe, K. A., Earles, J. E., Phillips, J., Techtmann, S. M., Joyner, D. C., Elias, D. A., Bailey, K. L., Hurt, R. A., Preheim, S. P., Sanders, M. C., Yang, J., Mueller, M. A., Brooks, S., Watson, D. B., Zhang, P., He, Z., Dubinsky, E. A., Adams, P. D., Arkin, A. P., Fields, M. W., Zhou, J., Alm, E. J., Hazen, T. C., 2015. Natural bacterial communities serve as quantitative geochemical biosensors. *MBio* 6:1–13.

Søndergaard M., 1991. Phototrophic picoplankton in temperate lakes: seasonal abundance and importance along a trophic gradient. *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, 76, 505–522.

Søndergaard M., Jeppesen E., Jensen J. P., Amsinck S. L., 2005. Water Framework Directive: ecological classification of Danish lakes. *Journal of Applied Ecology*, 42, 616–629.

Sorensen K, Grung M, Roettgers R., 2007. An intercomparison of in vitro chlorophyll alpha determinations for MERIS level 2 data validation. *International Journal of Remote Sensing*; 28(3–4):537–54.

Stockenreiter M., Haupt F., Graber A.-K., Seppala J., Spilling K., Tamminen T. et al., 2013. Functional group richness: implications of biodiversity for light use and lipid yield in microalgae. *Journal of Phycology*, 49, 838–847.

Stoeck, T., Breiner, H.-W., Filker, S., Ostermaier, V., Kammerlander, B., Sonntag, B., 2014. A morphogenetic survey on ciliate plankton from a mountain lake pinpoints the necessity of lineage-specific barcode markers in microbial ecology. *Environ. Microbiol.* 16, 430–444.

Stoeck, T., Frühe, L., Forster, D., Cordier, T., Martins, C.I.M., Pawlowski, J., 2018. Environmental DNA metabarcoding of benthic bacterial communities indicates the benthic footprint of salmon aquaculture. *Mar. Pollut. Bull.* 127:139–149.

Stoeck, T., Kochems, R., Forster, D., Lejzerowicz, F., Pawlowski, J., 2018. Metabarcoding of benthic ciliate communities shows high potential for environmental monitoring in salmon aquaculture. *Ecol. Indic.* 85:153–164.

Stoeckle, M.Y., Soboleva, L., Charlop-Powers, Z., 2017. Aquatic environmental DNA detects seasonal fish abundance and habitat preference in an urban estuary.

Stomp M., Huisman J., de Jongh F., Veraart A.J., Gerla D., Rijkeboer M. et al., 2004. Adaptive divergence in pigment composition promotes phytoplankton biodiversity. *Nature*, 432, 104–107.

Striebel M., Behl S. & Stibor H., 2009. The coupling of biodiversity and productivity in phytoplankton communities: consequences for biomass stoichiometry. *Ecology*, 90, 2025–2031.

Taberlet, P., Bonin, A., Zinger, L., Coissac, E., 2018. *Environmental DNA. For Biodiversity Research and Monitoring.* Oxford University Press.

Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Brochmann, C., Willerslev, E., 2012. Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. *Mol. Ecol.* 21: 2045–2050.

Tamm M., Freiberg R., Tonno I., Noges P. & Noges T., 2015. Pigment-based chemotaxonomy – a quick alternative to determine algal assemblages in large shallow Eutrophic lake? e0122526.

Tapolczai, K., Bouchez, A., Stenger-Kovács, C., Padisák, J., Rimet, F., 2016. Trait-based ecological classifications for benthic algae: review and perspectives. *Hydrobiologia*.

Tapolczai, K., Bouchez, A., Stenger-Kovács, C., Padisák, J., Rimet, F., 2017. Taxonomy- or trait-based ecological assessment for tropical rivers? Case study on benthic diatoms in Mayotte island (France, Indian Ocean). *Sci. Total Environ.* 607–608:1293–1303.

Terlizzi, A., Bevilacqua, S., Frascchetti, S., Boero, F., 2003. Taxonomic sufficiency and the increasing insufficiency of taxonomic expertise. *Mar. Pollut. Bull.*

Thompson, L. R., Sanders, J. G., McDonald, D., Amir, A., Ladau, J., Locey, K. J., Prill, R. J., Tripathi, A., Gibbons, S. M., Ackermann, G., Navas-Molina, J. A., Janssen, S., Kopylova, E., Vázquez-Baeza, Y., González, A., Morton, J. T., Mirarab, S., Zech Xu, Z., Jiang, L., Haroon, M.F., Kanbar, J., Zhu, Q., Jin Song, S., Kosciółek, T., Bokulich, N.A., Lefler, J., Brislawn, C.J., Humphrey, G., Owens, S.M., Hampton-Marcell, J., Berg-Lyons, D., McKenzie, V., Fierer, N., Fuhrman, J. A., Clauset, A., Stevens, R. L., Shade, A., Pollard, K. S., Goodwin, K. D., Jansson, J. K., Gilbert, J. A., Knight, R., 2017. A communal catalogue reveals earth's multiscale microbial diversity. *Nature* 551:457–463.

Thomsen, P. F., Kielgast, J., Iversen, L. L., Møller, P. R., Rasmussen, M., Willerslev, E., 2012. Detection of a diverse marine fish fauna using environmental DNA from seawater samples. *e41732*.

Thomsen, P. F., Møller, P. R., Sigsgaard, E. E., Knudsen, S.W., Jørgensen, O.A., Willerslev, E., 2016. Environmental DNA from seawater samples correlate with trawl catches of subarctic, deepwater fishes.

Torti, A., Lever, M.A., Jørgensen, B.B., 2015. Origin, dynamics, and implications of extracellular DNA pools in marine sediments. *Mar. Genomics*.

Turner, C.R., Uy, K.L., Everhart, R.C., 2015. Fish environmental DNA is more concentrated in aquatic sediments than surface water. *Biol. Conserv.* 183:93–102.

Tuvikene L, Kisand A, Tõnno I, Nõges P., 2004. Chemistry of lake water and bottom sediments. In: Haberman J, Pihu E, Raukas A, editors. *Lake Võrtsjärv*. Tallinn: Estonian Encyclopaedia Publishers; p. 89–102.

United Nations Convention on the Law of the Sea, 1982. www.un.org/depts/los/convention_agreements/texts/unclos/unclos_e.pdf.

Usseglio-Polatera, P., Bournaud, M., Richoux, P., Tachet, H., 2000. Biological and ecological traits of benthic freshwater macroinvertebrates: relationships and definition of groups with similar traits. *Freshw. Biol.* 43:175–205.

Utermohl H., 1958. Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitteilungen der Internationale Verhandlungen für Theoretische und Angewandte Limnologie*, 9, 1–38.

Vadrucci, M.R., Stanca, E., Mazziotti, C., Umani, S.F., Georgia, A., Moncheva, S., Romano, A., Bucci, R., Ungaro, N., Basset, A., 2013. Ability of phytoplankton trait sensitivity to high-light anthropogenic pressures in Mediterranean lagoons: a size spectra sensitivity index (ISS-phyto). *Ecol. Indic.* 34:113–125.

Valentini, A., Taberlet, P., Miaud, C., Civade, R., Herder, J., Thomsen, P.F., Bellemain, E., Besnard, A., Coissac, E., Boyer, F., Gaboriaud, C., Jean, P., Poulet, N., Roset, N., Copp, G.H., Geniez, P., Pont, D., Argillier, C., Baudoin, J.M., Peroux, T., Crivelli, A.J., Olivier, A., Acqueberge, M., Le Brun, M., Møller, P.R., Willerslev, E., Dejean, T., 2016. Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Mol. Ecol.* 25:929–942.

Van Heukelem L. & Thomas C., 2001. Computer assisted high-performance liquid chromatography method development with applications to the isolation and analysis of phytoplankton pigments. *Journal of Chromatography A*, 910, 31–49.

Van Sickle, J., 2008. An index of compositional dissimilarity between observed and expected assemblages. *J. North Am. Benthol. Soc.* 27:227–235.

- Vasselon, V., Bouchez, A., Rimet, F., Jacquet, S., Trobajo, R., Corniquel, M., Tapolczai, K., Domaizon, I., 2018. Avoiding quantification bias in metabarcoding: application of a cell biovolume correction factor in diatom molecular biomonitoring. *Methods Ecol.*
- Vasselon, V., Domaizon, I., Rimet, F., Kahlert, M., Bouchez, A., 2017. Application of high-
Vasselon, V., Rimet, F., Tapolczai, K., Bouchez, A., 2017. Assessing ecological status with diatoms DNA metabarcoding: scaling-up on a WFD monitoring network
- Vierheilig, J., Savio, D., Farnleitner, A.H., Reischer, G.H., Ley, R.E., Mach, R.L., Farnleitner, Visco, J. A., Apothéoz-Perret-Gentil, L., Cordonier, A., Esling, P., Pillet, L., Pawlowski, J., 2015. Environmental monitoring: inferring the diatom index from next-generation sequencing data. *Environ. Sci. Technol.* 49:7597–7605.
- Vierheilig J, et al., 2015. Potential applications of next generation DNA sequencing of 16S rRNA gene amplicons in microbial water quality monitoring. *Water Science and Technology*; 72:1962–1972.
- Vitecek, S., Pauls, S. U., Graf, W., 2017. Barcoding der K.cherfliegen und Steinfliegen Vorarlbergs. *inatura – Forschung online*, 35, 16 S.
- Vivien, R., Ferrari, B. J. D., Pawlowski, J., 2016. DNA barcoding of formalin-fixed aquatic oligochaetes for biomonitoring. *BMC Res. Notes* 9.
- Vivien, R., Lejzerowicz, F., Pawlowski, J., 2016. Next-generation sequencing of aquatic oligochaetes: comparison of experimental communities.
- Vivien, R., Wyler, S., Lafont, M., Pawlowski, J., 2015. Molecular barcoding of aquatic oligochaetes: implications for biomonitoring.
- Wang X. J., Behrenfeld M., Le Borgne R., Murtugudde R., Boss E., 2009. Regulation of phytoplankton carbon to chlorophyll ratio by light, nutrients and temperature in the Equatorial Pacific Ocean: a basin-scale model. *Biogeosciences*; 6(3):391–404.
- Watson S. B., McCauley E., Dowing J. A., 1997. Patterns in phytoplankton taxonomic composition across temperate lakes of different nutrient status. *Limnology and Oceanography*, 42, 487–495.
- Weber, A. A. T., Pawlowski, J., 2014. Wide occurrence of SSU rDNA intragenomic polymorphism in foraminifera and its implications for molecular species identification. *Protist* 165:645–661.
- Weiss, M., Weigand, H., Weigand, A. M., Leese, F., 2018. Genome-wide single-nucleotide polymorphism data reveal cryptic species within cryptic freshwater snail species - the case of the *Ancylus fluviatilis* species complex. *Ecol. Evol.* 8:1063–1072.
- Weithoff G., 2003. The concepts of “plant functional types” and “functional diversity” in lake phytoplankton - a new understanding of phytoplankton ecology? *Freshwater Biology*, 48, 1669–1675.

Wells, E., Wilkinson, M., Wood, P., Scanlan, C., 2007. The use of macroalgal species richness and composition on intertidal rocky seashores in the assessment of ecological quality under the European water framework directive. *Mar. Pollut. Bull.* 55: 151–161.

Wetzel R. G., Likens G. E., 2000. *Limnological Analyses*. Springer-Verlag, New York.

Wilhelm C., Rudolph I., Renner W., 1991. A quantitative method based on HPLC-aided pigment analysis to monitor structure and dynamics of the phytoplankton assemblage—a study from Lake Meerfelder (Eifel, Germany). *Archiv für Hydrobiologie*, 123, 21–35.

Wright S. W., Thomas D. P., Marchant H. J., Higgins H. W., Mackey M. D., Mackey D. J., 1996. Analysis of phytoplankton of the Australian sector of the Southern Ocean: Comparisons of microscopy and size frequency data with interpretations of pigment HPLC data using the 'CHEMTAX' matrix factorisation program. *Marine Ecology Progress Series*. 144(1–3):285–98.

Wright S. W., Jeffrey S. W., 2005. Pigment markers for phytoplankton production. In: *Marine Organic Matter: Biomarkers, Isotopes and DNA. The Handbook of Environmental Chemistry*, Vol. 2, Part N (Ed. J.K. Vilkmán), pp. 71– 104. Springer, Berlin.

Wright S. W., van den Enden R. L., Pearce I, Davidson A. T., Scott F. J., Westwood K. J., 2010. Phytoplankton community structure and stocks in the Southern Ocean (30–80 degrees E) determined by CHEMTAX analysis of HPLC pigment signatures. *Deep-Sea Res Part II-Top Stud Oceanogr.*; 57(9–10):758–78. pmid:20368759

Wright, J. F., Furse, M. T., Armitage, P. D., 1993. RIVPACS - a technique for evaluating the biological quality of rivers in the UK. *Eur. Water Pollut. Control* 3, 15–25.

Yilmaz, P., Yarza, P., Rapp, J.Z., Glöckner, F.O., 2016. Expanding the world of marine bacterial and archaeal clades. *Front. Microbiol.* 6.

Yoder, C.O., Kulik, B.H., 2003. The development and application of multimetric indices for the assessment of impacts to fish assemblages in large rivers: a review of current science and applications. *Can. Water Resour. J. Rev. Can. Resour. Hydriques* 28:301–328.

Yoon, T. H., Kang, H. E., Kang, C. K., Lee, S. H., Ahn, D. H., Park, H., Kim, H. W., 2016. Development of a cost-effective metabarcoding strategy for analysis of the marine phytoplankton community. *PeerJ* 4, e2115.

Yu, D. W., Ji, Y., Emerson, B. C., Wang, X., Ye, C., Yang, C., Ding, Z., 2012. Biodiversity soup: metabarcoding of arthropods for rapid biodiversity assessment and biomonitoring. *Methods Ecol. Evol.* 3:613–623.

Zaiko, A., Samuiloviene, A., Ardura, A., Garcia-Vazquez, E., 2015. Metabarcoding approach for nonindigenous species surveillance in marine coastal waters. *Mar. Pollut. Bull.* 100:53–59.

Zhan, A., He, S., Brown, E. A., Chain, F. J. J., Therriault, T. W., Abbott, C. L., Heath, D. D., Cristescu, M. E., Maclsaac, H. J., 2014. Reproducibility of pyrosequencing data for biodiversity assessment in complex communities. *Methods Ecol. Evol.* 5:881–890.

Zhan, A., Maclsaac, H. J., 2015. Rare biosphere exploration using high-throughput sequencing: research progress and perspectives. *Conserv. Genet.* 16:513–522.

Zhou, X., Li, Y., Liu, S., Yang, Q., Su, X., Zhou, L., Tang, M., Fu, R., Li, J., Huang, Q., 2013. Ultra- deep sequencing enables high-fidelity recovery of biodiversity for bulk arthropod samples without PCR amplification. *Gigascience* 2, 4.

Zimmermann, J., Abarca, N., Enke, N., Enk, N., Skibbe, O., Kusber, W.H., Jahn, R., 2014. Tax- onomic reference libraries for environmental barcoding: a best practice example from diatom research. e108793.

Zimmermann, J., Glöckner, G., Jahn, R., Enke, N., Gemeinholzer, B., 2015. Metabarcoding vs. morphological identification to assess diatom diversity in environmental studies. *Mol. Ecol. Resour.* 15:526–542.

Zimmermann, J., Jahn, R., Gemeinholzer, B., 2011. Barcoding diatoms: evaluation of the V4 subregion on the 18S rRNA gene, including new primers and protocols. *Org. Divers. Evol.* 11:173–192.

Prilog 1: Prikaz preklapanja morfoloških i molekularnih podataka (Narančasto označene vrste koje se u potpunosti preklapaju s vrstama determiniranim mikroskopijom, a plavo one koje su determinirane mikroskopski, ali su druga vrsta ili sp.

Taksonomska klasifikacija OTU-a (NCBI Code nucleotide)

Achnanthes sp CCAC 2681 B 18S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1, partial sequence F1
Achnanthidium minutissimum isolate TCC746 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Adriamonas peritocrescens small subunit ribosomal RNA, complete sequence F1
Alexandrium fundyense clone USC01511-4_15 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Alexandrium tamarense clone NWFSC\419-4 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Amoebophrya sp ex Alexandrium affine strain JH0210a 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Amphidinium carterae small subunit ribosomal RNA gene, complete sequence F1
Amphidinium herdmanii strain CCCM 532 small subunit ribosomal RNA gene, complete sequence F1
Amphikrikos sp Hegewald 1995-26 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Amphora sp TH-2015 strain SY01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Andalucia godoyi strain ATCC PRA-185 mitochondrion, complete genome F1
Anisonema sp W1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Ankistrodesmus bibraianus 18S ribosomal RNA F1
Ankyra lanceolata strain Hg 1998-5 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Anomooneis sphaerophora 18S rRNA gene, strain L1222 F1
Apatococcus lobatus partial 18S rRNA gene, isolate ROS 7/3 F1
Apatococcus sp SAG 2145 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Aphanomyces sp APH2 strain APH2_BRN01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Aphanomyces sp APH3 strain APH3_FAS01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Aplanochytrium blankum 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Asulcocephalium miricentonis genes for 18S rRNA, ITS1, 5 8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, strain: mi11-8kt F1
Asulcocephalium miricentonis genes for 18S rRNA, ITS1, 5 8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, strain: od12-21kt F1
Aulacoseira distans 18S rRNA gene F1
Aulacoseira granulata gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: p778 F1
Azadinium cf poporum HJ-2011 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene F1
Bacillariophyta sp GSL032 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Bacillariophyta sp MBIC10102 gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: MBIC10102 F1
Bacillariophyta sp Z211 clone A1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Baldinia anauniensis greenGS clone 1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Bicosoeca petiolata strain ATCC 50639 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Biecheleriopsis adriatica partial 18S rRNA gene, strain SCCAP K-0968 F1
Bodo caudatus 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Bodo caudatus 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Bodo designis 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Bodo designis strain DH 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Bodo saltans 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Bodo saltans 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Bodo saltans PP5 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Bodo saltans strain Konstanz small subunit ribosomal RNA gene, complete sequence F1
Bodo sorokini strain ATCC 50641 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Bodo sp ATCC 50149 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Bodonidae sp Rag1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Bodonidae sp river Thames 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Bodonidae sp river Thames 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Botrydiopsis intercedens nuclear 18S ribosomal RNA gene F1
Botryococcus braunii genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, culture collection CCAP 807/2 F1
Botryococcus braunii strain AGB-Bb01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Botryococcus braunii strain AICB 860 18S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1, partial sequence F1
Botryococcus sp Tow 9/21 P-16w 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Botryococcus terribilis strain AICB 872 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Bracteacoccus cohaerens strain UTEX 1272 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Bracteacoccus sp CNP1VF2 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Bremia sonchicola voucher KUS-F20061 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5 8S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Cafeteria sp EWM2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Calliacantha sp CEE-2003 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Campylodiscus clypeus isolate nycCA2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Carteria cerasiformis gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence, strain: NIES-425 F1

Carteria eugametos genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, culture collection CCAP 8/3 F1
Carteria radiosa DNA for 18S rRNA, partial sequence F1
Carteria sp KMMCC FC-98 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Ceratium sp HCB-2005 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Ceratium-like dinoflagellate HZ-2004 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Ceratium-like dinoflagellate HZ-2004 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chaetoceros debilis genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, culture collection CCAP 1010/6 F1
Chaetoceros gracilis 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chaetosphaeridium globosum strain SAG 26 98 culture-collection SAG:26 98 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chilomonas sp M1303 18S rRNA gene, strain M1303 F1
Chlamydomonad sp AS9-14 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chlamydomonad sp AS9-14 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chlamydomonad sp Itas 9/21 T-4w 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chlamydomonad sp Pic 9/21 P-2w 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chlamydomonad sp RT1n14cul 18S ribosomal RNA gene, complete sequence F1
Chlamydomonad sp RT1n14cul 18S ribosomal RNA gene, complete sequence F1
Chlamydomonad sp Tow8/18P-7w 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chlamydomonad sp Tow8/18T-1w 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chlamydomonad sp Tow8/18T-1w 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chlamydomonad sp WTwin 8/18 P-5d 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chlamydomonad sp WTwin 8/18 P-5d 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chlamydomonas acidophila partial 18S rRNA gene, strain CCAP 11/137 F1
Chlamydomonas applanata genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, culture collection CCAP 11/9 F1
Chlamydomonas debaryana strain SAG 26 72 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chlamydomonas globosa strain KMMCC 1471 18S ribosomal RNA gene, internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, internal transcribed spacer 2, and 28S ribosomal RNA gene, region F1
Chlamydomonas gloeophila strain UTEX_608 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chlamydomonas marvanii gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: SAG 73 81 F1
Chlamydomonas moewusii genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, culture collection CCAP 11/5D F1
Chlamydomonas neoplanoconvexa gene for 18S rRNA, partial sequence F1
Chlamydomonas pitschmannii 18S rRNA gene, strain DBV 292 F1
Chlamydomonas raudensis strain SAG 49 72 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chlamydomonas reinhardtii genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, culture collection CCAP 11/32CW15 F1
Chlamydomonas reinhardtii genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, culture collection CCAP 11/45 F1
Chlamydomonas reinhardtii strain CC-2343 mt+ mitochondrion, complete genome F1
Chlamydomonas reinhardtii strain RAC 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chlamydomonas sordida gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence F1
Chlamydomonas sp CCAP 11/119 genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, culture collection CCAP 11/119 F1
Chlamydomonas sp CCAP 11/140 genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, culture collection CCAP 11/140 F1
Chlamydomonas sp ICE-L 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chlamydomonas sp NIES-3906 gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence F1
Chlamydomonas splendida strain CCCryo 215-05 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chlamydomonas uva-maris genomic DNA containing 18S rRNA, ITS1, 5 8S rRNA, ITS2 and 28S rRNA, strain SAG 19 89 F1
Chlamydomyxa labyrinthoides 18S rRNA gene, partial F1
Chlorella sp MBIC10057 gene for 18S rRNA, partial sequence F1
Chlorella variabilis 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain CCAP 211/84 F1
Chlorellidium tetrabotrys strain SAG811-1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chlorococcum aquaticum gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: UTEX2222 F1
Chlorococcum minutum strain SAG 213-7 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chloroidium ellipsoideum genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, culture collection CCAP 211/33 F1
Chloroidium saccharophilum genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, culture collection CCAP 211/58 F1
Chloromonas augustae partial 18S rRNA gene, strain SAG 13 89 F1
Chloromonas oogama gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: SAG 9 79 F1
Chloromonas sp NIES-2380 gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence, strain: NIES-2380 F1
Chloromonas subdivisa genomic DNA containing 18S rRNA, ITS1, 5 8S rRNA, ITS2 and 28S rRNA, strain SAG 67 72 F1
Chloromonas tenuis gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence, strain: UTEX SNO132 F1
Chlorophyceae sp VPL9-5 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chlorophyta symbiont of *Baikalospongia* sp isolate B32 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; chloroplast F1
Chlorophyta symbiont of *Baikalospongia* sp isolate B72 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; chloroplast F1
Chlorophyta symbiont of *Lubomirskia* sp isolate R15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; chloroplast F1
Chlorophyta symbiont of *Lubomirskia* sp isolate R54 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; chloroplast F1
Chlorophyta symbiont of *Lubomirskia* sp isolate R62 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; chloroplast F1
Chlorosarcinopsis eremi strain ACSSI 132 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Choanoeca perplexa 18S small subunit ribosomal RNA gene, complete sequence F1
Choricystis parasitica strain SAG 17 98 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Choricystis sp TP-2009 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain UTEX 838 F1
Chromophyton vischeri gene for 18S rRNA, partial sequence F1
Chromulina chionophila small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Chromulina nebulosa small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chroomonas coerulea partial 18S rRNA gene, strain NIES-714 F1
Chroomonas vectensis strain K-0432 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chrysamoeba mikrokonta small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chrysamoeba pyrenoidifera small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chrysocapsa sp UTCC280 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chrysochaete britannica small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chrysochromulina parva gene for 18S rRNA, partial sequence F1
Chrysochromulina trondsenii 18S rRNA gene, strain UIO049 (=K11) F1
Chrysolepidomonas dendrolepidota small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chrysonebula flava strain CCMP2765 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chrysonphele palustris small-subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chrysophyceae sp CCMP2296 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chrysosaccus sp CCMP295 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chrysosphaera parvula small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Chrysosphaerella brevispina partial 18S rRNA gene, strain S 74 D5 F1
Chrysosphaerella longispina partial 18S rRNA gene, strain S 61A B4 F1
Chrysoxys sp CCMP591 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Cladophora coelothrix genomic DNA containing 18S rRNA gene, culture collection CCAP 505/10 F1
Cladophora vagabunda voucher PEUFR:BV2 - Recife (PE) small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Closterium gracile N-90-59 18S ribosomal RNA gene, complete sequence F1
Coccolith green alga Mary 6/3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Coccomyxa parasitica 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Coccomyxa viridis genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene, strain SAG 2104 F1
Cocconeis placentula isolate TCC720 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5 8S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Coelastrum sp BUM11113 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Coelastrum proboscideum var *gracile* strain SAG 217-3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Coenochloris sp KR 2006/325 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Colacium sp Songjiangol033107B 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Cosmarium depressum, partial 18S rRNA gene, internal transcribed spacer 1, 5 8S rRNA gene and internal transcribed spacer 2 F1
Craticula accomoda isolate TCC107 18S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1, partial sequence F1
Craticula cuspidata 18S rRNA gene, strain AT-219 3 F1
Crithidia bombi isolate BomSch7 clone 2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5 8S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Crustomastix stigmatica 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain CCMP 2493 F1
Cryptomonas curvata nucleomorph 18S rRNA gene, strain M1484 F1
Cryptomonas curvata partial 18S rRNA gene, strain CCAC 0080 F1
Cryptomonas curvata strain CNUCRY 121 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Cryptomonas curvata strain CNUCRY 15 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Cryptomonas gyropyrenoidosa partial 18S rRNA gene, strain M1079 F1
Cryptomonas lundii partial 18S rRNA gene, strain CCAC 0107 F1
Cryptomonas marssonii nucleomorph 18S rRNA gene, strain M1475 F1
Cryptomonas marssonii partial 18S rRNA gene, strain CCAC 0103 F1
Cryptomonas marssonii strain WCK01 18S ribosomal RNA gene, complete sequence F1
Cryptomonas obovata strain FACHB-1301 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Cryptomonas ovata nuclear 18S rRNA gene, strain M1171 F1
Cryptomonas ovata nucleomorph 18S rRNA gene, strain CCAC 0064 F1
Cryptomonas ovata nucleomorph 18S rRNA gene, strain M1171 F1
Cryptomonas ovata strain Mukawa100608B 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Cryptomonas paramaecium partial 18S rRNA gene, strain M2452 F1
Cryptomonas parapyrenoidifera voucher HB2012-2pa 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Cryptomonas pyrenoidifera nucleomorph 18S rRNA gene, strain CCAP 979/61 F1
Cryptomonas pyrenoidifera nucleomorph 18S rRNA gene, strain M1077 F1
Cryptomonas pyrenoidifera strain WCK02 18S ribosomal RNA gene, complete sequence F1
Cryptomonas sp *borealis* nuclear 18S rRNA gene, strain SCCAP K-0063 F1
Cryptomonas sp CCAP 979/46 partial 18S rRNA gene, strain CCAP 979/46 F1
Cryptomonas sp Dumo2 100310C 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Cryptomonas sp M0420 nucleomorph 18S rRNA gene, strain M0420 F1
Cryptomonas sp M1094 18S rRNA gene, strain M1094 F1
Cryptomonas sp M420 18S rRNA gene, strain M420 F1
Cryptomonas sp SAG 2013 nucleomorph 18S rRNA gene, strain SAG 2013 F1
Cryptomonas sp Yeonra43011B 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Cryptomonas tetrapyrenoidosa nucleomorph 18S rRNA gene, strain M1092 F1
Cryptomonas tetrapyrenoidosa nucleomorph 18S rRNA gene, strain M1639 F1
Cryptomonas tetrapyrenoidosa partial 18S rRNA gene, strain NIES 279 F1
Cryptomonas tetrapyrenoidosa strain Du-ung 022611D 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Cryptophyta sp CR-MAL01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Cryptophyta sp CR-MAL05 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Cryptophyta sp CR-MAL11 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Cyclostephanos dubius 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Cyclostephanos sp WTC18 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Cyclotella cf *scaldensis* G1W11 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Cyclotella costei isolate TCC353 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Cyclotella cryptica genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, culture collection CCAP 1070/2 F1

Cyclotella distinguenda strain Tiplady 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Cyclotella gamma strain cygamma 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Cyclotella meneghiniana strain LS03-01 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Cyclotella meneghiniana isolate HYK0210-A1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Cyclotella meneghiniana isolate HYK0210-A5 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Cyclotella meneghiniana strain G8W7 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Cyclotella meneghiniana strain SAG 1020-1a small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Cyclotella meneghiniana strain Waco1 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Cyclotella ocellata strain LB8 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Cyclotella sp 119 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Cylindrotheca closterium culture-collection KMMCC-B-119 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Cylindrotheca closterium gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence F1

Cymbella cistuliformis clone 1120 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Cymbella excisa isolate TCC772 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Cymbella lanceolata 18S rRNA gene, strain AT-194Gel07 F1

Desmodesmus armatus genes for 18S rRNA, ITS1, 5 8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, strain: GM4k F1

Desmodesmus armatus genes for 18S rRNA, ITS1, 5 8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, strain: GM4k F1

Desmodesmus communis strain AICB 993 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Desmodesmus communis strain AICB 993 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Desmodesmus intermedius genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, culture collection CCAP 258/38 F1

Desmodesmus sp GM4a genes for 18S rRNA, ITS1, 5 8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence F1

Diacronema vlkianum strain AC67 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Diatoma cf tenuis strain D-45 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Diatoma tenue strain HYNP013 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Dictyochloropsis splendida strain CAUP H8601 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Dictyochloropsis splendida strain SAG 244 80 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Dictyosphaerium sp CCAP 211/101 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Dictyosphaerium sp CCAP 222/41 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Dictyosphaerium sp NIES 453 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Dinobryon bavaricum 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5 8S rRNA gene and ITS2 (partial), strain OE26KV F1

Dinobryon divergens 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5 8S rRNA gene and ITS2 (partial), strain FU28_3 F1

Dinobryon divergens strain FU20_1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5 8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence F1

Dinobryon divergens strain FU29_7 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5 8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence F1

Dinobryon divergens strain GF39_4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5 8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence F1

Dinobryon pediforme strain LO2-26KS 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5 8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence F1

Dinobryon sertularia small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Dinobryon sociale strain FU36_4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; and internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence F1

Dinobryon sociale strain FU40_2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5 8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence F1

Dinobryon sociale strain FU40_8 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5 8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence F1

Dinophyceae sp Bullet 18S small subunit ribosomal RNA gene, complete sequence F1

Dinophyceae sp Bullet 18S small subunit ribosomal RNA gene, complete sequence F1

Dinophyceae sp Cryptoperidiniopsis-C 18S small subunit ribosomal RNA gene, complete sequence F1

Dinophyceae sp NY005 gene for small subunit ribosomal RNA, partial sequence F1

Dinophyta sp NY011 gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence F1

Diplophrys sp ATCC_50360 small subunit ribosomal RNA gene, complete sequence F1

Discostella nipponica genes for 18S rRNA, ITS1, 5 8S rRNA, ITS2 and 28S rRNA, partial sequence F1

Discostella sp HYK0210-A2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Discostella woltereckii gene for 18S rRNA, partial sequence, specimen_voucher: TNS:AL-56492 F1

Durinskia cf baltica HG171 gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence F1

Elliptochloris reniformis partial 18S rRNA gene, strain CAUP H7102 F1

Elliptochloris subsphaerica genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, culture collection CCAP 211/56 F1

Encyonema caespitosum 18S rRNA gene, strain AT-214Gel03 F1

Entomoneis sp CCMP1693 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Eolimna minima partial 18S rRNA gene, isolate SNA15 F1

Epipyxis aurea small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Epipyxis pulchra small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Epithemia turgida gene for 18S rRNA, partial sequence, isolate: ET Lake Saiko F1

Euastrum humerosum partial 18S rRNA gene, strain CAUP K501 F1

Euastrum pectinatum partial 18S rRNA gene, strain SVCK 203 F1
Eudorina elegans gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: NIES-456 F1
Euglena adhaerens strain ASW 08138 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Euglena agilis strain MI71 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Euglena agilis strain Sz061802 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Euglena anabaena strain Jilnal030207G 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Euglena carterae strain SAG 1224-22 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Euglena mutabilis strain New Jersey (NJ) small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Eustigmatophyceae sp Itas 9/21 S-11w 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Eustigmatophyceae sp Itas 9/21 S-8w 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Exanthemachrysis gayraliae strain YP15 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Falcomonas daucooides 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Fallacia sp 33 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Fibrocapsa japonica strain CCMP 1661 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Fistulifera saprophila clone 05DB6_2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Fistulifera saprophila strain BA55 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Fistulifera solaris gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence F1
Follicularia texensis 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Fragilaria capucina strain A-06 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Fragilaria capucina strain D-149 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Fragilaria delicatissima partial 18S rRNA gene, strain At135 13 F1
Fragilaria sp D-47 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Fragilaria sp HGC-2007-1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Fragilaria sp HGC-2007-2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Fragilaria vaucheriae strain L1496 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Fragilariforma virescens 18S rRNA gene, strain V18 F1
Fragilariopsis doliolus isolate TI_851 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Friedmannia israeliensis 18S ribosomal RNA gene F1
Glenodinium sp LaTo3 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Gloeococcus maximus 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Gloeocystis sp BCP-ZNP2-21 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Gloeocystis vesiculosa genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, culture collection CCAP 31/3 F1
Gomphonema micropus clone 06WB3_2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Gomphonema sp 12 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Goniochloris sculpta 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Goniomonas sp SH-8 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Goniomonas truncata 18S ribosomal RNA F1
Gonium pectorale genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, culture collection CCAP 32/29 F1
Gonium pectorale voucher hyx1505g4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Guillardia theta 18S rRNA gene F1
Guillardia theta nucleomorph chromosome 1, complete sequence F1
Gungnir kasakii gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence, strain: NIES-1360 (= KhCl-3) F1
Gungnir neglectum gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence, strain: NIES-439 F1
Gymnodinium aureolum isolate D144 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Gymnodinium breve strain CCMP718 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Gymnodinium dorsalisulcum strain KDAAD 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Gymnodinium galatheanum strain KT-77B 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Gymnodinium palustre gene for 18S rRNA, partial sequence F1
Gymnodinium sp Dino1 partial 18S rRNA gene, ITS1 and partial 5 8S rRNA gene, isolate Dino1 F1
Gymnodinium sp Dino2 partial 18S rRNA gene, ITS1 and partial 5 8S rRNA gene, isolate Dino2 F1
Gymnodinium sp LaTo2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Gymnodinium sp NVA/RUS/2008 clone 44 18S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1, partial sequence F1
Gymnodinium sp NVA/RUS/2008 clone 7 18S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1, partial sequence F1
Gymnodinium sp QZ-2012 voucher HBI:HB201110a small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Gyrodinium aureolum strain KT-77D 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Gyrodinium dominans 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain GDMS0704YD F1
Gyrodinium helveticum gene for 18S rRNA, partial sequence F1
Gyrodinium sp HJ-2011 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene F1
Haematococcus sp KORDI03 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Hafniomonas montana gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: NIES-656 F1
Hafniomonas reticulata gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: Shizuoka F1
Haptoglossa sp SL20 isolate LEV5860 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Haptoglossa sp SL32 isolate LEV5872 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Haslea spicula strain BA28 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Hemidinium nasutum small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Hemistasia phaeocysticola gene for small subunit ribosomal RNA, partial sequence F1
Herdmania litoralis gene for 18S rRNA, partial sequence, clone: 2, collection_date: 19-Sep-2009 F1
Heterocapsa triquetra 18S ribosomal RNA gene, complete sequence F1
Heterococcus caespitosus 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Heterothrix debilis nuclear 18S ribosomal RNA gene F1

Heveochlorella hainangensis strain FGG01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Heynigia riparia strain CCAP 222/47 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Hibberdia magna 16S-like ribosomal RNA, complete F1
Hindakia fallax strain CCAP 222/30 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Hippodonta capitata 18S rRNA gene, strain AT-124 24 F1
Hyaloperonospora parasitica specimen-voucher SMK 18835 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence F1
Hydrodictyon reticulatum 18S rRNA gene (partial), 5 8S rRNA gene, 28S rRNA gene (partial), ITS1 and ITS2, strain M2243 F1
Hydrurus foetidus partial 18S rRNA gene F1
Hyphochytrium catenoides small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Interfilum sp SAG 2147 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Isochrysis sp CCAP 927/14 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Isochrysis sp santou 2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Jadwigia applanata strain CCAC0021 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Karlodinium micrum clone 7540 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Katablepharis japonica gene for SSU rRNA, partial sequence F1
Kirchneriella aperta 18S rRNA gene, strain SAG 2004 F1
Kirchneriella lunaris strain KLL-G007 clone b 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Klebsormidium subtilissimum genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, culture collection CCAP 384/1 F1
Komma caudata nucleomorph partial 18S rRNA gene, strain M1074 F1
Labyrinthula sp ACB-2011b partial 18S rRNA gene, clone SVA05a F1
Labyrinthuloides haliotidis 18S ribosomal RNA, partial sequence F1
Lagenidium sp SLG-2014a culture-collection personal:C Andre Levesque:LEV 6103 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; and 5 F1
Lagerheimia genevensis clone SAG_48_94 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Lagynion scherffelii small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Leonella granifera isolate D002 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Lepidodinium viride 18S ribosomal RNA gene, complete sequence F1
Leptolegnia sp LB-2015 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Lindavia radiosa 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Lobochlamys segnis genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, culture collection CCAP 11/69 F1
Lobomonas monstrosa gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: NIES-474 F1
Lobomonas sphaerica gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: SAG 45-2 F1
Makinoella tosaensis strain SAG B28 97 culture-collection SAG:28 97 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Mallomonas akrokomos 18S small subunit nuclear ribosomal RNA gene F1
Mallomonas akrokomos strain Posan012608J 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Mallomonas alpina strain CCMP2895 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Mallomonas annulata 18S small subunit nuclear ribosomal RNA gene F1
Mallomonas caudata 18S small subunit nuclear ribosomal RNA gene F1
Mallomonas elongata strain Mokji112407C 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Mallomonas sp strain VN828 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Mallomonas tonsurata strain Gungham0728071 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Mallomonas tonsurata strain SAG28 92 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Mamiella gilva 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain PLY 197 F1
Melosira varians 18S rRNA gene F1
Micractinium pusillum 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Micractinium sp KNUA032 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Mischococcus sphaerocephalus 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Monactinus sturmii strain Mj2008/34 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Monactinus sturmii strain Mj2009/284 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Monochrysis sp CCAP 931/2 genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, culture collection CCAP 931/2 F1
Monodopsis sp MarTras 21 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Monodopsis subterranea 18S ribosomal RNA gene, complete sequence F1
Monomastix sp M0722 18S rRNA gene (partial), ITS1 (partial), 5 8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain M0722 F1
Monoraphidium griffithii strain AN7-8 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Monoraphidium pusillum strain Pic 8/18 P-7w 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Monoraphidium sp SM-2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Muriella sp AS 2-4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Mychonastes rotundus strain CCAP 260/14 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Mychonastes sp LbS_7 genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene, isolate LbS_7 F1
Mychonastes zofingiensis strain CCAP 211/14 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Myrmecia sp WJT40VFN15 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Myzocotyopsis glutinospora isolate LEV5871 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Nannochloris bacillaris gene for 18S rRNA, partial sequence F1
Nannochloris maculata gene for 18S rRNA, partial sequence F1
Nannochloris sp MBIC10062 gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: MBIC10062 F1
Nannochloris sp MBIC10596 gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: MBIC10596 F1
Nannochloropsis limnetica strain SAG 18 99 culture-collection SAG:18 99 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Nannochloropsis oceanica isolate CCALA978 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Nanofrustulum shiloi clone P194 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Navicula arenaria 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Navicula diserta 18S rRNA gene, clone p750 F1
Navicula phyllepta strain HP 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Navicula sp 39 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Navicula sp ArM0003 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Navicula sp AT-145 08 18S rRNA gene, strain AT-145 F1
Navicula sp ETS 07 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial) F1
Navicula sp NIES-3965 gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence, strain: NIES-3965 F1
Naviculales sp CCMP2297 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Neobodo borokensis strain B-74 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Neobodo curvifilus strain HFCC37 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Neobodo designis isolate Oxford 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Neobodo designis strain HFCC308 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Neochloris aquatica genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, culture collection CCAP 254/5 F1
Neochloris sp GM4e genes for 18S rRNA, ITS1, 5 8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence F1
Neospongiococcum gelatinosum strain SAG 64 80 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Nephrochlamys subsolitaria genes for 18S rRNA, ITS1, 5 8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, strain: GM4d F1
Nerada mexicana strain ATCC 50535 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Nitzschia amphibia partial 18S rRNA gene, strain FDCC L602 F1
Nitzschia longissima 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Nitzschia palea 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Nuclearia delicatula small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Nuclearia simplex 18S small subunit ribosomal RNA, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S large subunit ribosomal RNA, partial sequence F1
Nuclearia simplex small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Nuclearia sp B3 partial 18S rRNA gene, strain B3 Consensus F1
Nuclearia sp D1 partial 18S rRNA gene, strain D1 F1
Nuclearia sp isolate AP8 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Nuclearia thermophila gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence F1
Nusuttodinium amphidinioides genes for 18S rRNA, ITS1, 5 8S rRNA, ITS2, large subunit ribosomal RNA, partial and complete sequence F1
Oblongichytrium sp PBS03 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Ochromonadaceae sp CCMP2298 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Ochromonas marina strain AC22 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Ochromonas sp aestuarii 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Ochromonas sp CCMP1147 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Ochromonas sp CCMP1149 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Ochromonas sp isolate AP9 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Ochromonas sphaerocystis small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Ochromonas tuberculata small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Ochromonas vasocystis strain CCMP2741 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Ochrosphaera sp MBIC10788 gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: MBIC10788 F1
Oikomonas sp SA-2 2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Olisthodiscus luteus strain NIES-15 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Oocystella oogama strain SAG 3 96 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Oocystis borgei strain NIES-659 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Oocystis heteromucosa strain SAG 1 99 culture-collection SAG:1 99 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Oocystis sp AN 2/29-4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Oocystis sp Tow 6/3 P-10w 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Oxyrrhis marina strain CCAP1133/3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5 8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence F1
Pandorina morum gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: NIES-887 F1
Pandorina morum strain KLL-G031 clone b 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5 8S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Pandorina morum strain KMMCC 1257 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Parachloroidium lobatum partial 18S rRNA gene, strain CAUP H8502 F1
Paralagenidium sp C09-TL95 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Parapediastrium biradiatum strain UTEX 37 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Paraperonospora tanacetii voucher GLM73325 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5 8S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Paraphysomonas bandaiensis 18S small subunit ribosomal RNA gene, complete sequence F1
Paraphysomonas foraminifera 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Paraphysomonas foraminifera gene for small subunit ribosomal RNA F1
Paraphysomonas sp 1 JMS-2012 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Paraphysomonas sp 10 JMS-2012 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Paraphysomonas sp 11 JMS-2012 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Paraphysomonas sp 18S rDNA gene, isolate HD F1
 Paraphysomonas sp 29 JMS-2012 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Paraphysomonas sp GflagA 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Paulschulzia pseudovolvox 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Paulsenella vonstoschii 18S rRNA gene F1
 Pedinella sp squamata gene for small subunit ribosomal RNA, partial sequence F1
 Pedinellales sp CCMP2098 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Pelagodinium sp JD-2012 isolate AC24-2 internal transcribed spacer 1 and 5 8S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Pelagomonas calceolata 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Pentapharsodinium tyrrhenicum 18S ribosomal RNA gene, complete sequence F1
 Peranema trichophorum small subunit ribosomal RNA genes, partial sequence F1
 Peridiniopsis cf kevei diatom endosymbiont gene for 18S rRNA, partial sequence F1
 Peridiniopsis penardii diatom endosymbiont gene for 18S rRNA, partial sequence F1
 Peridiniopsis penardii gene for 18S rRNA, partial sequence F1
 Peridinium balticum endosymbiont partial 18S rRNA gene F1
 Peridinium bipes f globosum strain NIES495 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Peridinium bipes small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Peridinium cinctum strain CCAC0102 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Peridinium foliaceum endosymbiont partial 18S rRNA gene F1
 Peridinium gatunense strain PGDA 1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Peridinium inconspicuum genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, culture collection CCAP 1140/3 F1
 Peridinium polonicum small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Peridinium sociale isolate UTEX1948 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Peridinium willei isolate PWGY-B small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Peridinium willei strain NIES 366 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Peronospora farinosa specimen-voucher SMK 18857 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence F1
 Peronospora sp isolate 15-644 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5 8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence F1
 Peronospora trigonellae 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Petalomonas sphagnophila clone 18S-HF 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Pfiesteria sp B112456 18S ribosomal RNA gene, complete sequence F1
 Pfiesteriaceae sp masanensis isolate VIMS 1050 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Phacotus lenticularis strain 970801-21 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Phacus orbicularis strain NJ04 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Phaeothamnion confervicola strain CCMP637 culture-collection SAG:119 79 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Phaeothamniophyceae sp CCMP2290 gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence F1
 Phaeothamniophyceae sp CCMP2290 gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence F1
 Phalacroma cf rotundatum isolate FTLL10 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Phyllosiphon arisari 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Phytophthora citricola isolate HRVA1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Phytophthora rosacearum isolate 52 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Picochlorum maculatum 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Picocystis salinarum isolate IM214 18S small subunit ribosomal RNA gene, complete sequence F1
 Pinnularia cf interrupta 18S rRNA gene, strain TE1 F1
 Pinnularia sp U-strain clone BH18 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Pirsonia formosa partial 18S rRNA gene, strain 99-1, isolate P841 F1
 Plagiomonas amylosa 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Plagioselmis nannoplantica partial 18S rRNA gene, strain N750301 F1
 Planctonema lauterbornii gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence, strain: NIES-514 F1
 Planothidium lanceolatum 18S rRNA gene, strain L1249 F1
 Plasmopara nivea voucher H Voglmayr H V F1 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Pleurococcus sp WJT43VFNP24 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Pleurosigma sp 102 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Polarella glacialis 18S ribosomal RNA gene, complete sequence F1
 Poterioochromonas malhamensis 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5 8S rRNA gene and ITS2 (partial), strain DS F1
 Prorocentrum minimum 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Prorocentrum rathymum 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene, strain PRJJ3 F1
 Prorocentrum triestinum isolate UTEX1657 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Protodesmus globulifer gene for 18S rRNA, partial sequence F1
 Protodinium simplex clone 3922 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Prymnesium sp MBIC10533 gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: MBIC10533 F1
 Pseudogomphonema sp p382 18S rRNA gene, clone p382 F1
 Pseudomuriella sp Itas 9/21 14-1d 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Pseudo-nitzschia heimii isolate NWFSC205 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
 Pseudopedinella elastica 18S small-subunit rRNA gene F1
 Pseudopedinella sp HSY-2011 culture CCMP:3052 18S ribosomal RNA (ssu) gene, partial sequence F1
 Pseudoperonospora cubensis isolate WAY-12-7 18S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1, partial sequence F1
 Pseudopleurococcus sp SAG 36 98 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Pseudotetraedriella kamillae strain SAG 2056 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Pyramimonas olivacea partial 18S rRNA gene, strain M1668 F1

Pyrobotrys stellata gene for 18S rRNA, partial sequence F1

Pythiaceae sp PHY1 strain PHY1_HEI01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Pythiaceae sp PHY2 strain PHY2_BRN01+02 clone 3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Pythiaceae sp PHY2 strain PHY2_PIL01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Pythium aphanidermatum 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Pythium deliense strain CBS 314 33 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Pythium grandisporangium strain CBS 286 79 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Pythium monospermum voucher CBS15873 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Pythium plurisporium strain CBS 100530 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Pythium porphyrae strain CBS 369 79 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Pythium rostratum strain CBS 533 74 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Pythium sp CHE-287 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Pythium volutum strain CBS 699 83 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Radiococcus polycoccus Kr2000/2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Raphidocelis subcapitata strain MDL 1/12-3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Reclinomonas americana small subunit ribosomal RNA gene, complete sequence F1

Rhabdonema adriaticum isolate Coz3Rhabdo 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Rhizochromulina cf marina 18S small-subunit rRNA gene F1

Rhodomonas duplex genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene, strain NIES-765 F1

Rhodomonas sp 08C1 genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene, strain 08C1, clone C F1

Rhodomonas sp CCMP767 genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene, strain CCMP767, clone D F1

Rhodomonas sp M1480 18S rRNA gene, strain M1480, strain M1480 F1

Rhodomonas sp M1480 nucleomorph 18S rRNA gene, strain M1480 F1

Rhodomonas sp NIES-3921 gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence F1

Rhynchobodo sp Hamilton Lake 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Rhynchobodo sp HFCC304 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Rhynchomonas nasuta 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Rhynchomonas nasuta 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Rhynchomonas nasuta strain BSZ1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Rhynchomonas nasuta strain HFCC319 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Rhynchopus sp ATCC 50229 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Rictus luteus strain PC1206 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Roombia truncata small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Salpingoeca fusiformis 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Saprolegnia australis 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Saprolegnia parasitica gene for 18S rRNA, partial cds, strain: NJM8604 F1

Saprolegnia sp SAP1 strain SAP1_BRN01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Saprolegnia sp SAP1 strain SAP1_ZEL02 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Saprolegnia sp SAP1 strain SAP1_ZEL03+04 clone 2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Saprolegnia sp SAP2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Saprolegnia sp SAP4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Scenedesmaeaceae sp Tow 2/24 P-8w 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Scenedesmus acutus strain LRB-AZ414 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Scenedesmus acutus strain LRB-AZ414 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Scenedesmus armatus var subalternans genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, culture collection CCAP 276/4A F1

Scenedesmus incrassatulus genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, culture collection CCAP 276/43 F1

Scenedesmus sp I122 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Scenedesmus sp SEV3VF49 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Scherffelia dubia 18S rRNA gene (partial), 5 8S rRNA gene, 28S rRNA gene (partial), ITS1 and ITS2, strain SAG 17 86 F1

Scrippsiella sp CCAP1134/9 genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, culture collection CCAP 1134/9 F1

Scrippsiella sp HZ-2005 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Selenastrum capricornutum small subunit ribosomal RNA gene, complete sequence F1

Sellaphora auldreekie clone DUN1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Sellaphora capitata 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and 26S rRNA gene (partial), clone PUR9c F1

Sellaphora cf seminulum clone TM37 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Sellaphora pupula clone THR14 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1

Skeletonema pseudocostatum genes for 5 8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, strain: CCMP 2472 F1
Sphaeroeca leprechaunica 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Sphaeroeales sp KF-2013b strain BCP-WJT54VFN11 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spiniferodinium galeiforme 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spirogyra sp GRS1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spirogyra sp ZIP2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spirotaenia alpina partial 18S rRNA gene, strain Kies 2686 b F1
Spongiococcum tetrasporum strain ACSSI 120 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spumella danica 18S rDNA gene F1
Spumella sp 18S rDNA gene, isolate 37G F1
Spumella sp TGS4 gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence F1
Spumella-like flagellate 391f 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spumella-like flagellate JBAF33 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spumella-like flagellate JBAS36 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spumella-like flagellate JBAS37 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spumella-like flagellate JBC07 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spumella-like flagellate JBC13 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spumella-like flagellate JBC22 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spumella-like flagellate JBC29 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spumella-like flagellate JBM/S11 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spumella-like flagellate JBM06 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spumella-like flagellate JBM08 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spumella-like flagellate JBM09 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spumella-like flagellate JBM18 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spumella-like flagellate JBM19 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spumella-like flagellate JBNA46 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Spumella-like flagellate JBNZ43 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Staurastrum maamense, partial 18S rRNA gene, internal transcribed spacer 1, 5 8S rRNA gene and internal transcribed spacer 2, strain SVCK377 F1
Stausosira cf *mutabilis* partial 18S rRNA gene, strain p1407 F1
Stausosira sp I-141 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Stausosirella sp D-35 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Stephanodiscus minutulus strain Y98-1 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Stephanodiscus parvus isolate TCC355 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Stephanopyxis nipponica small subunit ribosomal RNA, complete sequence F1
Stephanopyxis turris gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: p121 F1
Stigeoclonium sp CCAC 1904 partial 18S rRNA gene, strain CCAC 1904 B F1
Stoeckeria sp SSSC09 genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene, strain SSSC09 F1
Stramenopile sp MAST-12 KKT5_D3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Suessiaceae sp YY1405 partial 18S rRNA gene, strain YY1405 F1
Suigetsumonas clinomigrationis gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence F1
Surirella sp CCAP 1071/2 genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2, culture collection CCAP 1071/2 F1
Symbiochloris symbiontica strain SAG 2099 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Symbiodinium sp ex *Amphisorus hemprichii* clone 311 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Symbiodinium sp ex *Leptastrea purpurea* isolate P66_8 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5 8S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Symbiodinium sp Kokubu1c genes for 18S rRNA, ITS1, 5 8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence F1
Synedra sp NTDMN01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Synedra sp p517 18S rRNA gene, clone p517 F1
Synedra ulna strain D-32 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Synura bjoerkii strain SC57A6 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Synura curtispina strain SAG29 92 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Synura multidentata strain S90C11 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Synura petersenii strain ACO11707 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Synura sphagnicola strain CCMP2897 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Synura spinosa strain S74D2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Syssomonas multiformis strain Colp-12 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Teleaulax amphioxeia 18S rRNA gene, strain K-0434 F1
Teleaulax amphioxeia partial 18S rRNA gene, strain SCCAP K-0434 F1
Telonema antarcticum 18S rRNA gene F1
Tessellaria volvocina 18S small subunit nuclear ribosomal RNA gene F1
Tetraena socialis gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: NIES-571 F1
Tetracystis pulchra strain SAG 97 80 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Tetracystis sp 14601-7 1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 F1
Tetranephris brasiliensis genes for 18S rRNA, ITS1, 5 8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, strain: GS3j F1
Tetraselmis cordiformis 18S rRNA gene (partial), 5 8S rRNA gene, 28S rRNA gene (partial), ITS1 and ITS2, strain SAG 26 82 F1

Tetrastelmis striata 18S rRNA gene (partial), 5 8S rRNA gene, 28S rRNA gene (partial), ITS1 and ITS2, strain SAG 41 85 F1
Thalassionema bacillare strain WK54 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Thalassionema frauenfeldii strain WK5 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Thalassiosira anguste-lineata strain BEN02-30 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Thalassiosira guillardii 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Thalassiosira minima strain CCMP 991 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Thalassiosira pseudonana strain NEPC709 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Thalassiosira sp. CCAP 1085/17 genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene, strain CCAP 1085/17 F1
Thalassiosira tenera partial 18S rRNA gene, type strain MHtt1 F1
Thalassiosira weissflogii strain CCMP 1050 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Thalassiothrix longissima gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: p441 F1
Theleodinium calcisporum strain MP69 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Thraustochytriidae sp. SEK 690 gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence F1
Thraustochytrium aureum gene for 18S rRNA F1
Trachelomonas scabra strain NJ T235 16S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; chloroplast F1
Trachydiscus minutus strain CCALA 838 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Trachydiscus sp. LCR-Awa-9-2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Trebouxia arboricola clone RHC_L2_H3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Trebouxia impressa gene encoding 18S ribosomal RNA F1
Trebouxia jamesii (UBT-86 132E2) 5 F1
Trebouxia sp. P-304-Ia 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and 26S rRNA gene (partial), isolate P-304-Ia F1
Trebouxia sp. P-360-I partial 18S rRNA gene, ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and partial 26S rRNA gene, isolate P-360-I F1
Trebouxiophyceae sp. VPL1-3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Trentepohlia sp. Cyeb2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5 8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence F1
Trentepohlia sp. SAG 117 80 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Tribonema aequale 16S ribosomal (small subunit) RNA F1
Tribonema ulotrichoides partial 18S rRNA gene, strain SAG 21 94 F1
Trichonympha sp. 2 ERJ-2013 clone WG5 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Tryblionella apiculata strain UTEX FD465 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Trypanoplasma borreli 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5 8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Ulothrix zonata UTEX 745 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
unclassified coccolithophorid CCMP 300 18S rRNA gene F1
UNVERIFIED: *Paraphysomonas longispina* strain NFBC 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Urgorri complanatus strain Cr1EHU 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Uroglena americana small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Uroglena americana strain CCMP2769 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Uronema minutum partial 18S rRNA gene, strain CCAP 386/1 F1
Urosolenia eriensis strain Y98-8 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Vacuolaria virescens strain SAG B 1195-1 18S ribosomal RNA gene, complete sequence F1
Vacuoliviride crystalliferum gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence, strain: NIES-2860 F1
Vitreochlamys fluviatilis gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: NIES-879 F1
Volvox rousseletii 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5 8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence F1
Willea rectangularis 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Wislouchiella planctonica 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Woloszynskia cincta 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5 8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain Nam Seon Kang F1
Woloszynskia cincta strain RCC2013 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Woloszynskia leopoliensis small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Woloszynskia pascheri strain CCAC0075 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Cyclotella ocellata
Dangeardinia desmidii gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: UTEX 2733 F1
Decastava edaphica strain CCAP 1265/2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Desmarella moniliformis 18S ribosomal RNA gene, partial sequence F1
Dysmorphococcus globosus 18S ribosomal RNA gene F1
Myrmecia biatorellae (UTEX 907) rRNA for nuclear encoded small subunit ribosomal RNA F1
Spirogyra sp. metagenome genome assembly, chromosome: I F1