

Mikrobiološko stanje estuarija rijeke Mirne

Kodela Pacenti, Ivan

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Pula / Sveučilište Jurja Dobrile u Puli**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:137:438552>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-19**



Repository / Repozitorij:

[Digital Repository Juraj Dobrila University of Pula](#)



SVEUČILIŠTE JURJA DOBRILE U PULI
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ ZNANOST O MORU

IVAN KODELA PACENTI

MIKROBIOLOŠKO STANJE ESTUARIJA RIJEKE MIRNE
ZAVRŠNI RAD

Pula, 2020.

Sveučilište Jurja Dobrile u Puli
Preddiplomski studij Znanost o Moru
Pula

IVAN KODELA PACENTI

MIKROBIOLOŠKO STANJE ESTUARIJA RIJEKE MIRNE

Završni rad

JMBAG: 0303053753, redoviti student

Studijski smjer: Znanost o moru

Kolegij: Sanitarna kontrola mora

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Interdisciplinarno

Znanstvena grana: Znanost o moru

Mentor: doc.dr.sc. Paolo Paliaga

Komentor: doc.dr.sc. Gioconda Millotti

Pula, 2020.



IZJAVA O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, dolje potpisani IVAN KODELA PACENTI, kandidat za prvostupnika ZNANOSTI O MORU ovime izjavljujem da je ovaj Završni rad rezultat isključivo mogega vlastitog rada, da se temelji na mojim istraživanjima te da se oslanja na objavljenu literaturu kao što pokazuju korištene bilješke i bibliografija. Izjavljujem da niti jedan dio Završnog rada nije napisan na nedozvoljeni način, odnosno da je prepisan iz kojega necitiranog rada, te da ikoji dio rada krši bilo čija autorska prava. Izjavljujem, također, da nijedan dio rada nije korišten za koji drugi rad pri bilo kojoj drugoj visokoškolskoj, znanstvenoj ili radnoj ustanovi.

Student

U Puli, 29. travnja 2020. godine



IZJAVA
o korištenju autorskog djela

Ja, IVAN KODELA PACENTI dajem odobrenje Sveučilištu Jurja Dobrile u Puli, kao nositelju prava iskorištavanja, da moj Završni rad pod nazivom MIKROBIOLOŠKO STANJE ESTUARIJA RIJEKE MIRNE koristi na način da gore navedeno autorsko djelo, kao cjeloviti tekst trajno objavi u javnoj internetskoj bazi Sveučilišne knjižnice Sveučilišta Jurja Dobrile u Puli te kopira u javnu internetsku bazu završnih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice (stavljanje na raspolaganje javnosti), sve u skladu sa Zakonom o autorskom pravu i drugim srodnim pravima i dobrom akademskom praksom, a radi promicanja otvorenoga, slobodnoga pristupa znanstvenim informacijama.

Za korištenje autorskog djela na gore navedeni način ne tražim nikakvu naknadu.

U Puli, 29. travnja 2020.

Potpis

ZAHVALA

Veliko hvala mom mentoru i profesoru, doc.dr.sc. Paolu Paliaga na savjetima, podršci i povjerenju koje mi je pružao pri izradi ovog rada, kao i tokom cijelog mog studiranja.

Hvala i komentorici doc.dr.sc. Giocondi Millotti na ukazanoj dobroj volji i stručnim savjetima.

Zahvaljujem se Centru za istraživanje mora u Rovinju na ustupljenim prostorijama i opremi potrebnoj za izradu ovog rada, kao i svim djelatnicima koji rade tamo.

Hvala mojoj obitelji koja je bila uz mene od prvog dana, koji su me savjetovali kroz život i bili podrška u svakom trenutku. Hvala im i što su mi omogućili studirati ono što volim.

Za kraj bih se zahvalio prijateljima i prijateljicama koji su vjerovali da ću završiti ovaj studij.

Sadržaj

1. Uvod	7
2. Ciljevi istraživanja	9
3. Literaturni pregled.....	10
3.1. Sanitarna kakvoća mora	10
3.2. Indikatorski mikroorganizmi u sanitarnoj kakvoći mora.....	11
3.2.1. Fekalni streptokoki (FS)	12
3.2.2. Ukupni koliformi (UK)	12
3.2.3. Fekalni koliformi (FK)	13
3.2.4. Omjer FK:FS	13
3.3. Promatrane bakterijske zajednice.....	13
3.3.1. Heterotrofne bakterije (HB)	13
3.3.2. Heterotrofni nanoflagelati (HNF)	14
3.3.3. Cijanobakterije (CB).....	15
4. Materijali i metode	16
4.1. Područje istraživanja	16
4.2. Terensko uzorkovanje	17
4.2.1. Hidrografski uvjeti	17
4.3. Određivanje sanitarne kakvoće mora	17
4.3.1. <i>Escherichia coli</i> i fekalni koliformi	18
4.3.2. Fekalni streptokoki	18
4.4. Brojnost HB, HNF i CB	19
5. Rezultati	21
6. Rasprava	31
7. Zaključak	34
8. Literatura	35
8.1. Literatura	35
8.2. Popis slika	39
8.3. Popis tablica.....	40
Prilog	41

1. Uvod

Estuarij (lat. *aestuarium*, „nisko riječno ušće“) je naziv za riječno ušće oblikovano poput lijevka. Estuariji su rjeđi od ušća u obliku delte. Takav oblik ušća imaju na primjer rijeke: Temza, Laba, Ob, Jenisej. U Hrvatskoj prevladavaju jako stratificirani estuarij. To znači da površinski sloj niskog saliniteta je jasno odvojen od pridnenoga sloja visoka saliniteta. Primjeri takvih rijeka u Hrvatskoj su rijeke Krka i Zrmanja (Hrvatska enciklopedija - Estuarij, 2019.). Pritchard je 1967. godine prvi put definirao estuarije kao područja gdje slatkovodna riječna masa ima trajnu vezu sa morskom masom, unutar kojeg je voda mjerljivo slabijeg saliniteta.

Estuarij su donji dijelovi riječnih dolina koji su izloženi utjecaju plime i oseke. Razlikuju se od plitkih uvala i zaljeva zbog izrazitog utjecaja slatke vode. Miješanje slatke i slane vode, te smanjeno strujanje na nekim mjestima u estuariju uzrokuju taloženje sedimenta: pijeska i mulja. Deponirani sedimenti mogu formirati deltu na ušću, primjer takve delte u Hrvatskoj ima rijeka Neretva. Podtip estuarija karakterističan za Hrvatsku jest tip estuarija krških rijeka koji je nastao nakon otapanja ledenjaka i dizanja morske razine nakon zadnjeg ledenoga doba (Paliaga i Iveša 2019.).

Rijeke su ključna komponenta transporta materijala sa kopna u priobalno more. Procijenjeno je da putem rijeka godišnje u more ulazi oko 35 000 km³ vode koja sa sobom nosi suspendirane čestice i otopljene tvari procijenjene mase između 20-22 × 10⁹ tona (Milliman, 2001.). Prevelik unos anorganskih soli može narušiti ravnotežu hranidbene mreže, može doći do eutrofikacije i hipoksije, te u ekstremnim slučajevima anoksije (Howarth i sur., 2011.). Rijeke, osim soli donose i organski materijal u kojem se nalaze i tvari fekalnog porijekla koje se mogu direktno ispustiti putem kanalizacije ili indirektno unositi ispiranjem tla i gradskih površina koje gravitiraju na slijev rijeke. Fekalni donos može utjecati na sanitarnu kvalitetu vode unutar rijeke kao i u njenom estuariju, te može predstaviti potencijalni rizik od infekcija i bolesti kod ljudi koji koriste ta područja za rekreaciju i kupanje, kao i kod onih koji konzumiraju morsku hranu koja se uzgaja ili lovi na takvim područjima (Krstulović i Šolić, 2006.).

Rijeka Mirna je najduža rijeka u Istri, dužine 53 km, a njeno porječje obuhvaća 458 km² (Hrvatska enciklopedija – Mirna, 2019.). Prema Istarskoj enciklopediji njezin

izvorišni dio je u jugozapadnom dijelu Ćićarijskoga pobrđa u flišnim, pretežno nepropusnim naslagama. Razgranato izvorište je na visini od 250 m u usječenim jarcima, nešto južnije od Huma i zaseoka Erkovičići. Nakon 11 km u smjeru Buzeta njezin gornji, kanjonski tok spušta se u dolini ispod grada na 49 m nadmorske visine. Od Buzeta do ušća u Jadransko more u zaljevu kraj Novigrada tok rijeke ima vrlo blagi pad pa je za srednjega vodostaja razmjerno miran, po čemu je vjerojatno rijeka dobila ime (Bertoša i Matijašić, 2005.).

Mogući izvori onečišćenja rijeke su kanalizacijske vode gradova koji leže uz porječje. Veća naselja koji leže uz rijeku, ili na brežuljcima uz rijeku, su Buzet, Grožnjan, Motovun, Oprtalj, Livade. Donji tok rijeke Mirne zbog plodne zemlje i obilja vode je pogodno za uzgoj žitarica, kukuruza, paradajza, salata, te raznog voća (Šegota, 1955.). Zbog gnojiva i hranjivih soli koji se koriste poljoprivrednim zemljištima postoji mogućnost eutrofikacije u uvali, ispiranjem hranjivih soli (prvenstveno nitrata i fosfata). Plodno tlo stvara i pašnjake pogodne za uzgoj ovaca i krava, koje svojim fekalijama mogu narušiti sanitarnu kakvoću uvale. Obzirom na blizinu autokampa Lanterna, postojećih i budućih planiranih hotela, te kupališta kod Novigrada, praćenje kakvoće mora na tom području je važno zbog sve većeg broja ljudi koji boravi tamo.

2. Ciljevi istraživanja

Cilj ovog istraživanja je bio odrediti brojnost glavnih komponenti mikrobne zajednice u estuariju rijeke Mirne i Tarske vale tijekom ljeta i zime 2016. godine. Drugi cilj ovog rada je bio ispitati sanitarnu kakvoću mora u estuariju rijeke Mirne i Tarske vale tijekom ljeta i zime.

3. Literaturni pregled

3.1. Sanitarna kakvoća mora

Sanitarna kakvoća mora omogućuje procjenu potencijalnog rizika zaraze patogenim mikroorganizmima, odnosno ukazuje da li broj prisutnih patogena predstavlja neprihvatljiv rizik za zdravlje (Krstulović i Šolić, 2006.). Sanitarna kakvoća mora se provodi na plažama na kojima se očekuje veliki broj kupaća, a za koju nije izdana trajna zabrana kupanja (Narodne novine, 2008.). Patogeni mikroorganizmi dospijevaju u more putem ispiranja tla, donosa rijekama, kanalizacijskim vodama, te balastnim vodama. Brojnosti *Escherichia coli* i crijevnih enterokoka su najviše korišteni pokazatelji mikrobiološkog stanja u moru. Njihove vrijednosti po kojima se ocjenjuje kakvoća plaža se nalaze u Tablici 1.

Sanitarna kakvoća mora u Republici Hrvatskoj je određena Uredbom o kakvoći mora za kupanje (NN 73/08) (Narodne novine, 2008.) i EU direktivom o upravljanju kakvoćom vode za kupanje (br. 2006/7/EZ). HRN EN ISO, ili hrvatski normativni dokument, je određena metoda prema kojoj se nešto ispituje, u ovom slučaju brojnost crijevnih enterokoka i *E.coli*. Dokumente određuje i ažurira Hrvatski zavod za norme (eng. *Croatian Standards Institute*).

Tablica 1. Standardi za ocjenu kakvoće mora nakon svakog ispitivanja

Pokazatelj	Kakvoća mora			Metoda ispitivanja
	Izvrсна	Dobra	Zadovoljavajuća	
Crijevni enterokoki (bik*/100 ml)	<60	61-100	101-200	HRN EN ISO 7899-1 ili HRN EN ISO 7899-2
<i>Escherichia coli</i> (bik*/100 ml)	<100	101-200	201-300	HRN EN ISO 9308-1 ili HRN EN ISO 9308-3

*bik – broj izraslih kolonija (eng. CFU – *Colony forming unit*)

3.2. Indikatorski mikroorganizmi u sanitarnoj kakvoći mora

Indikatori se mogu definirati kao pokazatelji potencijalnog rizika od infekcija kod ljudi prilikom njihovog korištenja morskog okoliša, bilo za kupanje bilo za konzumaciju morske hrane (Krstulović i Šolić, 2006.). Indikatorski organizmi nisu pokazatelji stvarnog stanja i broja svih patogenih mikroorganizama, no njihovom korelacijom sa patogenim organizmima ukazuju na opće stanje.

Kako bi neki organizam mogao koristiti kao indikator, treba zadovoljavati slijedeće osobine: brojnost organizma se može brzo i jeftino odrediti; organizam ne smije biti patogen za ljude; mora biti prisutan u koncentracijama proporcionalnim koncentracijama patogenih organizama; mora biti prisutan i mjerljiv u svim tipovima medija (vodeni stupac, sediment, organizmi) (Carignan i Villard, 2001; Krstulović i Šolić, 2006.). Idealan indikator ne postoji, stoga se indikatorski organizam bira ovisno o tome šta se želi mjeriti.

Klasični indikatori fekalnog onečišćenja mora su:

- Fekalni streptokoki (FS)
- Ukupni koliformi (UK)
- Fekalni koliformi (FK)

Preživljavanje tih mikroorganizama u morskom okolišu je veoma kratko obzirom da uvjeti u kojima oni žive se jako razlikuju od uvjeta u morskom okolišu. Razlog tome je razlika u abiotičkim i biotičkim čimbenicima. Ti indikatori žive u crijevima toplokrvnih životinja, te ljudi. Abiotički uvjeti u crijevima su: anaerobni; nema svjetla; viša temperatura nego u vodenom stupcu; znatno niži salinitet; niži pH. Zbog stresa uzrokovano promjena u okolišu, indikatorski organizmi se inaktiviraju, odnosno gube sposobnost rasta i razmnožavanja. Najveći utjecaj na inaktivaciju alohtonih organizama ima svjetlost; što je svjetlost jača i izloženost dulja, to se više organizama inaktivira (Gameson i Gould, 1975.). Ljetno vrijeme preživljavanja koliforma T_{90} (vrijeme za koje se broj bakterija smanji na 90% početnog broja) može biti samo 20 minuta (Gameson i Gould, 1975.). Što se tiče biotičkih uvjeta alohtoni organizmi u vodenom okolišu postaju dio hranidbene mreže, te sami mogu biti plijen predacije ili biti u kompeticiji za hranu sa drugim organizmima. Organizmi koji žive u

vodi su adaptirani na taj okoliš pa tako kad alohtoni organizam uđe u morski okoliš on je najčešće plijen protista koji u njoj žive (McCambridge i McMeekin, 1980.).

3.2.1. Fekalni streptokoki (FS)

Fekalni streptokoki su Gram-pozitivni koki koji dolaze u parovima (diplokoki) ili u lancima (streptokoki). Oni žive u crijevima toplokrvnih životinja i ljudi te uz fekalne koliforme se koriste kao pokazatelji fekalnog onečišćenja (Sinton i sur., 1993.). Vrsta *Streptococcus faecalis* se nalazi u ljudima (Batley i Slanetz, 1960.), dok vrste kao *Streptococcus equinus* i *Streptococcus bovis* primjeri specifičnih indikatora fekalnog onečišćenja konja i goveda. *S.bovis* ima sposobnost hidrolize škroba, te fermentira rafinozu i laktozu (Bartley i Slanetz, 1960.). Fekalni streptokoki su izdržljivije bakterije od fekalnih koliforma, te ukazuju na starije ili daljnje fekalno onečišćenje.

3.2.2. Ukupni koliformi (UK)

Ukupni koliformi su Gram-negativne anaerobne i fakultativno anaerobne bakterije, fermentiraju laktozu na 35 °C te proizvode kiselinu i plin. Rodovi bakterija koji spadaju pod ukupne koliforme su *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* te *Klebsiella*. Koliformi se oslobađaju u okoliš preko fekalija ljudi u koncentraciji od oko 10^7 stanica/g ili 10^9 stanica dnevno (Krstulović i Šolić, 2006.). Koliformi su pokazatelji fekalnog onečišćenja, i to primarno ljudskog, no u slučaju kiše velik broj njih se može isprati kroz zemlju u kojoj mogu duže preživjeti. Poželjno bi bilo da nije pala kiša 3 do 4 dana prije uzorkovanja kako bi izmjerene brojnosti ukazale na stvarno stanje. Obzirom da ukupni koliformi preživljavaju kratko u morskom okolišu oni ukazuju na nedavno fekalno onečišćenje.

3.2.3. Fekalni koliformi (FK)

Fekalni koliformi spadaju pod ukupne koliforme, oni su Gram-negativne anaerobne i fakultativno anaerobne bakterije. Za razliku od ukupnih koliforma, fekalni koliformi fermentiraju laktozu na 44.5 °C te proizvode kiselinu i plin. Fekalni koliformi imaju veći stupanj inaktivacije od ukupnih koliforma, što znači da jako mali broj njih se može razmnožiti. Najveći utjecaj za inaktivaciju fekalnih koliforma ima vidljiv dio sunčeve svjetlosti, čiji T_{90} može biti čak 0.96h (Šolić i Krstulović, 1992.). Fekalni koliformi su indikatori svježeg fekalnog onečišćenja mora, a najzastupljenija vrsta je *Escherichia coli* tip I, koja se može zasebno koristiti kao indikator onečišćenja.

Poželjno je da kiša nije padala nekoliko dana prije uzorkovanja jer fekalni koliformi mogu duže preživjeti u tlu, pogotovo na mjestima na kojima se uzgaja stoka. Takvo uzorkovanje, neposredno poslije kiše, bi pokazalo „lažno“ stanje zone. Rijeke koje prolaze kroz farme, kao što je u ovom slučaju rijeka Mirna, će uvijek imati povećanu brojnost koliforma (George i sur., 2004.)

3.2.4. Omjer FK:FS

Omjer između fekalnih koliforma i fekalnih streptokoka (FK:FS) se može koristiti kao pokazatelj izvora fekalnog onečišćenja mora. FK:FS omjer koji je manji od 0.7 pokazatelj je životinjskog porijekla, dok FK:FS omjer veći od 4.0 pokazatelj je ljudskog porijekla fekalnog materijala, s tim da ovi odnosi vrijede isključivo za sviježi fekalni otpad, odnosno ne stariji od 24 sata (Krstulović i Šolić, 2006.).

3.3. Promatrane bakterijske zajednice

3.3.1. Heterotrofne bakterije (HB)

Heterotrofne bakterije čine najbrojniju skupinu unutar pikoplanktona (frakcija 0,2 – 2 µm), te najviše doprinose u ciklusu ugljika i nutrijenata (Fogg, 1995.). Taksonomska podjela heterotrofnih bakterija je opisana u Bergeyevom priručniku za sistematiku bakterija (Williams i sur., 1989.). Prema njemu prokarioti su raspoređeni u ekološke skupine u suglasju s filogenetskim osobinama, s bojenjem po Gramu, oblikom stanica, njihovim rasporedom, zahtjevom za kisikom, pokretljivošću, te metaboličkim i prehrambenim osobinama (Krstulović. Šolić, 2006.).

Heterotrofne bakterije koriste organsku tvar kao hranu u svom rastu (Fukami i sur., 1983.). Brojnost bakterija je korelirana sa količinom otopljene organske tvari – DOM (eng. *Dissolved organic matter*), što više DOM-a ima to više bakterija ima. Isto tako količina partikulirane organske tvari – POM (eng. *Particulated organic matter*) ima pozitivnu korelaciju sa brojnošću bakterija. Količina DOM-a i POM-a u otvorenom moru je manja nego u priobalnom moru pa je očekivan veći broj bakterija uz obalu (Fukami i sur., 1983.). Glavna komponenta DOM-a i POM-a čini ugljik u reduciranim oblicima, odnosno otopljeni organski ugljik (DOC – eng. *Dissolved organic carbon*) i partikulirani organski ugljik (POC – eng. *Particulated organic carbon*). U slučaju manjka DOC-a heterotrofne bakterije su u kompeticiji za nitratima sa fitoplanktonom (Jumars i sur., 1989.).

Brojnost heterotrofnih bakterija ovisi o dostupnosti i kvaliteti otopljene organske tvari, o temperaturi, o proizvodnji i biomasi fitoplanktona i raspoloživosti hranjivih soli dušika i fosfora. Na njihovu brojnost utječu i interakcije s ostalim mikroorganizmima poput predacije od strane heterotrofnih nanoflagelata (Tophøj i sur., 2018.) i parazitizam od strane morskih virusa. Sastav heterotrofnih bakterija u površinskim vodama sjevernog Jadrana se mijenja sezonski, a najveći udio (između 52-100%) imaju Gram-negativne bakterije (Zaccone i sur., 2002.).

3.3.2. Heterotrofni nanoflagelati (HNF)

Heterotrofni nanoflagelati su eukariotski jednostanični mikroorganizmi koji se po veličini svrstavaju u nanoplankton (2 – 20 µm). Heterotrofni nanoflagelati se hrane bakterijama i ostalim pikoplanktonskim komponentama mikrobne zajednice, dok su

zajedno s nanoplanktonskim autotrofima i sami plijen cilijata i drugih mikroplanktonskih predatora (Krstulović i Šolić, 2006.). Važnu ulogu imaju kao bakterijski predatori, odnosno jedu bakterije i time kontroliraju brojnost unutar mikrobne hranidbene mreže (Tophøj i sur., 2018.). Osim heterotrofnih bakterija HNF se hrane i cijanobakterijama, kao što su to *Synechococcus* i *Prochlorococcus*, no to je dva reda veličine manja ishrana od ishrane heterotrofnim bakterijama. Biomasa ugljika koju HNF dobivaju iz bakterija iznosi oko 30% dok iz cijanobakterija 0.8% - 19% (Christaki i sur., 2001.).

3.3.3. Cijanobakterije (CB)

Cijanobakterije čine najveću, najrazličitiju i najrašireniju skupinu fotosintetskih prokariota (Stanier i Cohen-Bazire 1977.). Prokarioti veličinskom frakcijom spadaju pod pikoplankton (0.2 – 2 µm). Nosioци su fotosinteze u moru pri kojoj se stvara kisik u uvjetima svjetla, uz korištenje molekule vode kao davaoca elektrona (Krstulović i Šolić, 2006.). Imaju i važnu ulogu u ciklusu dušika budući da su glavni fiksatori ovog elementa i pretvaraju ga u kemijske oblike koji su iskoristivi od strane drugih mikroorganizama. Od fotosintetskih pigmenata sadrže klorofil a i fikobiline. Fikobilini su u pravilu njihov glavni fotosintetski pigment (Kraus, 2010.). Sadrže plinske vakuole koje imaju funkciju lebdenja u vodenom stupcu. Postoje pokretne i nepokretne cijanobakterije, no ako su pokretne nikada se ne pokreću bičevima već klize po površini na kojoj se nalaze do maksimalnih brzina od 10 µm/s (McBride, 2001.).

Imaju tri osnovna morfološka oblika:

- Jednostanični štapići i koki (rodovi *Synechococcus* i *Synechocystis*)
- Filamenti (rod *Trichodesmium*)
- Filamenti s heterocistama (rod *Nostoc*)

4. Materijali i metode

4.1. Područje istraživanja

Uzorkovanje za ispitivanje sanitarne kakvoće mora i za analizu mikrobne zajednice provedeno je u zimskoj i ljetnoj sezoni u Tarskoj uvali, estuariju rijeke Mirne te u samoj rijeci (1 postaja). Uzorci s tog područja uzeti su sa 12 postaja. Koordinate postaja se nalaze u Prilogu u Pomoćnoj tablici 1., dok satelitski prikaz postaja i njihova imena su prikazane u slici 1.



Slika 1. Satelitska snimka područja s imenima postaja (Preuzeto i prilagođeno sa web-stranice Geoportal DGU - <https://geoportal.dgu.hr/>)

Tarska uvala je uvučeni plitki zaljev uz ušće rijeke Mirne na zapadnoj obali Istre. Prema podacima DGU geoportala uvala skupa s estuarijem zauzima površinu od oko 4.58 km², te ima dužinu obale od oko 14.63 km. Najveća dubina je 8 metara.

4.2. Terensko uzorkovanje

Uzorci su skupljeni u zimskoj i ljetnoj sezoni 2016. godine, 20.2.2016. i 28.8.2016. Prikupljeni su u prozirnim sterilnim staklenim bocama od 500 ml na dubini od 20 cm. Paralelno tome su se prikupili uzorci za brojnost mikrobne zajednice u polietilenskim bočicama od 20 ml. Ti uzorci su se odmah na terenu fiksirali dodavanjem 1 ml 36% formaldehida pomoću pipete.

Kako bi uzorci ostali sačuvani, odnosno da ne bi bili izloženi temperaturnim promjenama i svjetlu, stavljeni su u prijenosni hladnjak sve dok nisu stigli u laboratorij. Uzorci su obrađeni u laboratoriju za morsku mikrobnu ekologiju Centra za istraživanje mora Instituta Ruđer Bošković u Rovinju.

4.2.1. Hidrografski uvjeti

Hidrografski uvjeti koji su mjereni su salinitet i temperatura. Salinitet je izmjeren u laboratoriju. Odvojeno je 250 ml uzorka zatim je salinitet istog izmjeren vodljivošću salinometrom. Temperatura je izmjerena na terenu pomoću termometra.

4.3. Određivanje sanitarne kakvoće mora

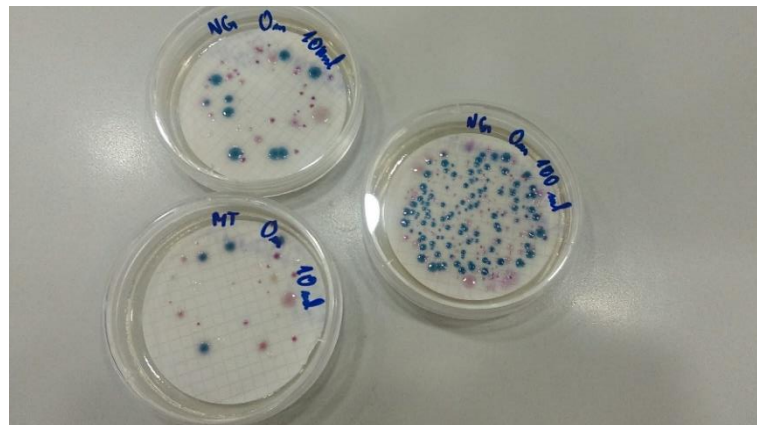
Sanitarna kakvoća mora je određena na temelju brojnosti kolonija vrste *Escherichia coli* i fekalnih streptokoka metodom membranske filtracije, dok se brojnost fekalnih koliforma iskoristila za računanje omjera FK:FS.

Kroz membranske filtre veličine 47 mm i širinom pora od 0.45 µm filtriran je svaki uzorak dva puta. Poduzorci su bili volumena 100 ml i od 10 ml. Ako je postaja procijenjena kao jako onečišćena filtriran je dodatno i manji poduzorak volumena 1 ml.

Dva dana unaprijed su pripremljene tri vrste selektivnih hranjivih podloga: *Chromogenic coliform agar*, *Bile aesculin agar* te *Slanetz-Bartley agar*. Otopine agara su stavljene u petrijeve zdjelice, te su se spremile do dana uzorkovanja.

4.3.1. *Escherichia coli* i fekalni koliformi

Za uzgoj, a zatim određivanje *E.coli* i fekalnih koliforma membranski filteri su postavljeni na hranjive podloge *Chromogenic coliform agar*. Petrijeve zdjelice sa uzorcima su stavljene u inkubator kroz slijedeća 24 sata na temperaturi od 44.5 °C. Kolonije *E.coli* su poprimili plavu boju (slika 2.). Brojanje se odradilo pod svjetlosnom lupom. Nakon brojanja svakog razrjeđenja izračunala se srednja vrijednost, te se rezultat izrazio kao broj izraslih kolonija po 100 ml uzorka (CFU/100ml).

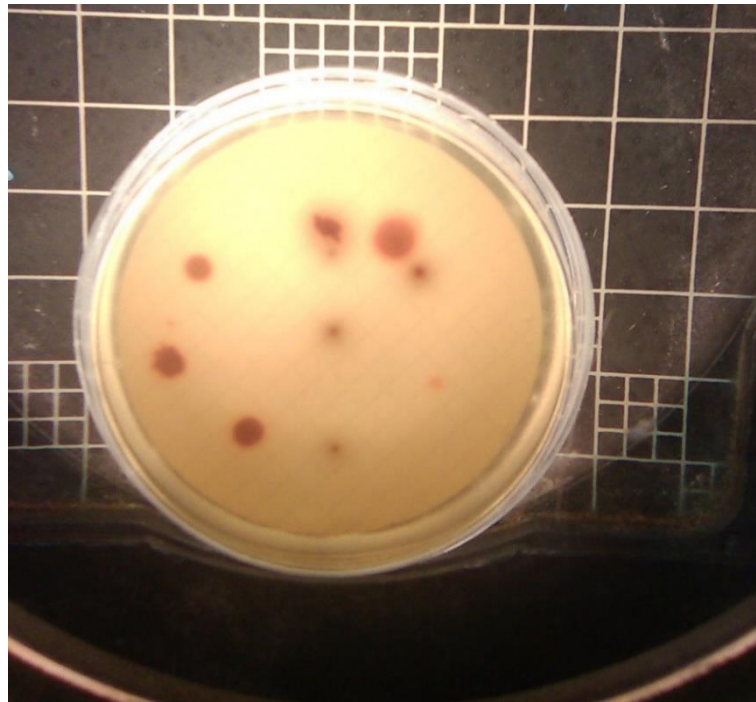


Slika 2. Izrasle kolonije *E.coli* i fekalnih koliforma

4.3.2. Fekalni streptokoki

Kako bi se odredili fekalni streptokoki membranski filteri su stavljene u petrijeve zdjelice sa *Slanetz-Bartley agarom*. Petrijeve zdjelice su stavljene u inkubator 48 sati na temperaturi od 36 °C. Nakon tog vremena inkubiranja petrijeve zdjelice u kojima su

vidljivo izrasle crvene kolonije su premještene u petrijeve zdjelice sa *bile aesculin agar*-om, kako bi se potvrdilo da su izrasle kolonije fekalni streptokoki. Te petrijeve zdjelice su stavljene u inkubator dodatna 2 sata na temperaturi od 44.5 °C. Izrasle kolonije su poprimile tamno crvenu boju ili su oko sebe stvorile zatamnjeni krug. Kolonije su izbrojane pod svjetlosnom lupom (slika 3.). Nakon što su sva razrjeđenja izbrojana izračunata je srednja vrijednost, te su rezultati izraženi kao broj izraslih kolonija po 100 ml uzorka (CFU/100ml).



Slika 3. Hranjiva podloga s kolonijama fekalnih streptokoka

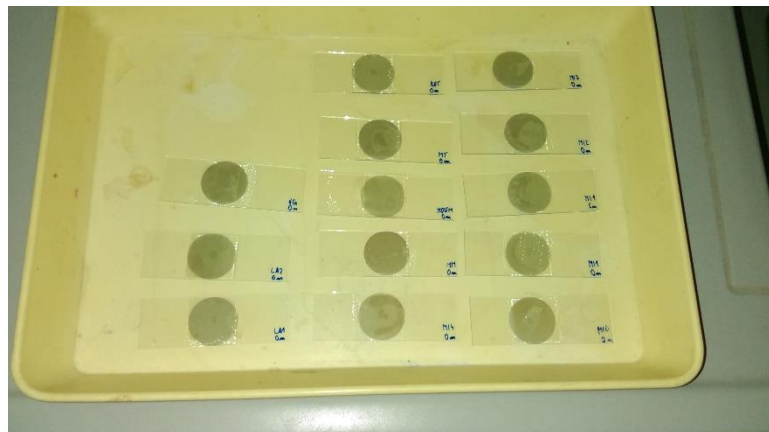
4.4. Brojnost HB, HNF i CB

Kako bi se odredila brojnost heterotrofnih bakterija, pipetom je odvojeno 2 ml uzorka iz polietilenskih bočica. U te uzorke je dodano 100 µl DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) boje. DAPI boja prodire kroz staničnu i jezgenu membranu te se veže za lance DNK. Taj proces je gotov za 15 minuta. Uzorci su filtrirani kroz polikarbonatne filtere promjera 25 mm s porama širine 0,2 µm. Filteri su postavljeni na predmetno stakalce, te je dodano imerzijsko ulje i pokrovno stakalce.

Kako bi se odredila brojnost heterotrofnih nanoflagelata pipetom je odvojeno 2 ml uzorka. Tim uzorcima je dodano 100 μ l DAPI boje. Nakon vremenskog perioda od 15 minuta uzorci su filtrirani kroz polikarbonatne filtere promjera 25 mm s porama širine 0,4 μ m. Filteri su postavljeni na predmetno stakalce, te je dodano imerzijsko ulje i pokrovno stakalce.

Kako bi se odredila brojnost cijanobakterija nije potrebno dodavati DAPI boju obzirom da cijanobakterije sadržavaju fotosintetske pigmente koji prirodno fluoresciraju kad su izloženi zelenom fluorescentom svjetlu. 2 ml uzorka iz bočica je profiltrirano kroz polikarbonatne filtere promjera 25 mm s porama širine 0,4 μ m. Filteri su postavljeni na predmetno stakalce, te je dodano imerzijsko ulje i pokrovno stakalce.

Pripremljeni uzorci (slika 4.) su promatrani pod epifluorescentnim mikroskopom. Uzorci heterotrofnih bakterija i heterotrofnih nanoflagelata su osvijetljeni UV-svjetlom što je uzrokovalo DAPI boju da emitira plavu boju, dok su uzorci cijanobakterija osvijetljeni zelenim fluorescentnim svjetlom što je ekscitiralo fotosintetske pigmente da emitiraju narančasto-crvenu boju. Za svaki uzorak su izbrojana tri vidna polja mikroskopa, pod povećanjem od 1000x, te je izračunata srednja vrijednost. Ta srednja vrijednost je pomnožena sa specifičnim faktorom konverzije mikroskopa kako bi se dobila krajnja vrijednost brojnosti mikroorganizama po 1 ml morske vode.



Slika 4. Preparati s polikarbonatnim filterima

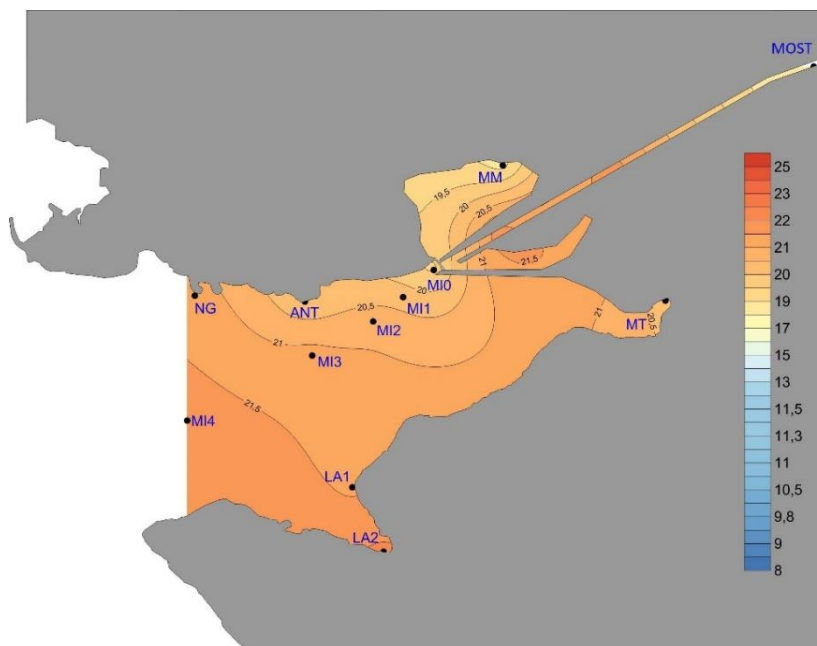
5. Rezultati

U veljači 2016. godine tokom zimskog uzorkovanja temperaturni minimum iznosio je 10.8 °C na postaji MOST, a temperaturni maksimum iznosio je 11.9 °C na postaji LA2. Srednja vrijednost temperature iznosila je 11.3 °C. Nisu zabilježena značajna kolebanja u površinskim temperaturama. Temperatura je postepeno rasla od ušća prema otvorenom moru, kako Mirna nosi najhladniju vodu. Ostale površinske vode su bile malo hladnije na području Novigrada, Antenala i unutrašnjosti vane, dok su toplije vode bile u močvari i kod Lanterne (slika 5).



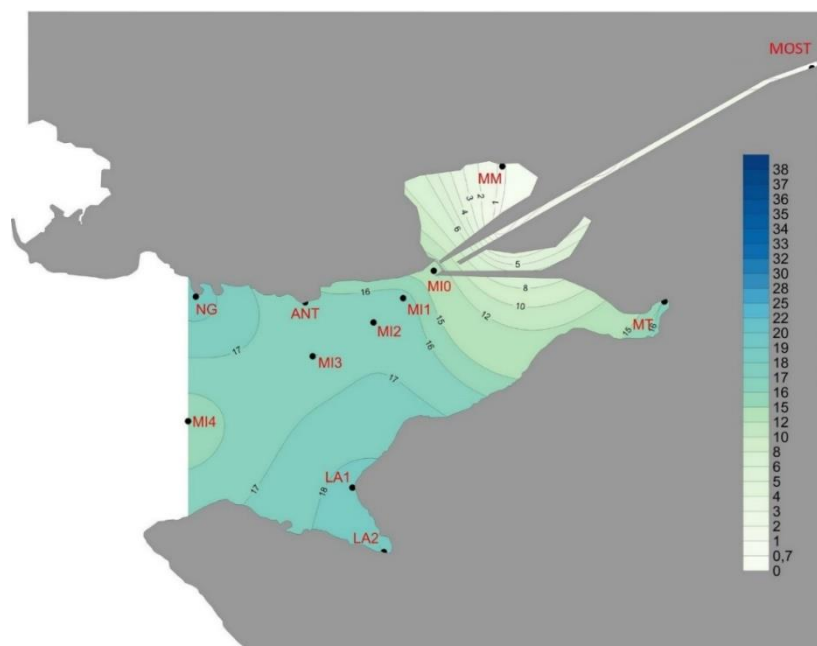
Slika 5. Raspodjela temperature ($T/^{\circ}\text{C}$) u površinskom sloju u veljači 2016.

U kolovozu 2016. godine tokom ljetnog uzorkovanja temperaturni minimum iznosio je 18.1 °C na postaji MOST, a temperaturni maksimum iznosio je 21.7 °C na postaji MI4. Srednja vrijednost temperature iznosila je 20.4 °C. Ljeti je jače bio istaknut utjecaj Mirne na površinske temperature. Kao i zimi temperature su rasle od ušća prema otvorenom moru, no za razliku od zime na području močvare na postaji MM je temperatura bila slična temperaturi Mirne (slika 6).



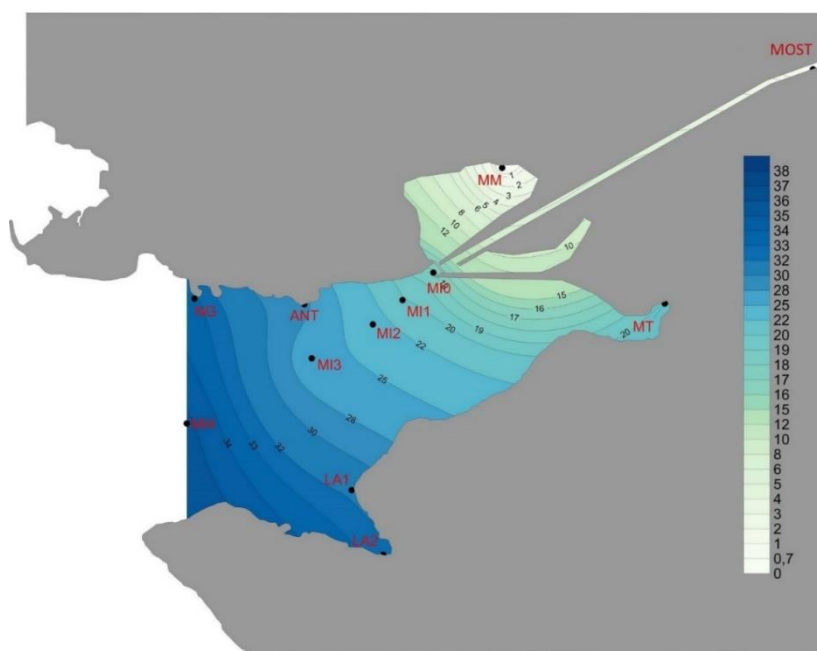
Slika 6. Raspodjela temperature ($T/^{\circ}\text{C}$) u površinskom sloju u kolovozu 2016.

U veljači 2016. godine tokom zimskog uzorkovanja minimum saliniteta je iznosio 0 na postaji MOST, a maksimum saliniteta iznosio je 18.67 na postaji NG. Srednja vrijednost saliniteta iznosila je 13.89. Slatkovodna masa iz rijeke ima utjecaj na cijelu valu koja radi nje ima smanjen salinitet, i na samu močvaru, čija je vodena masa bila strogo slatkovodna (slika 7).



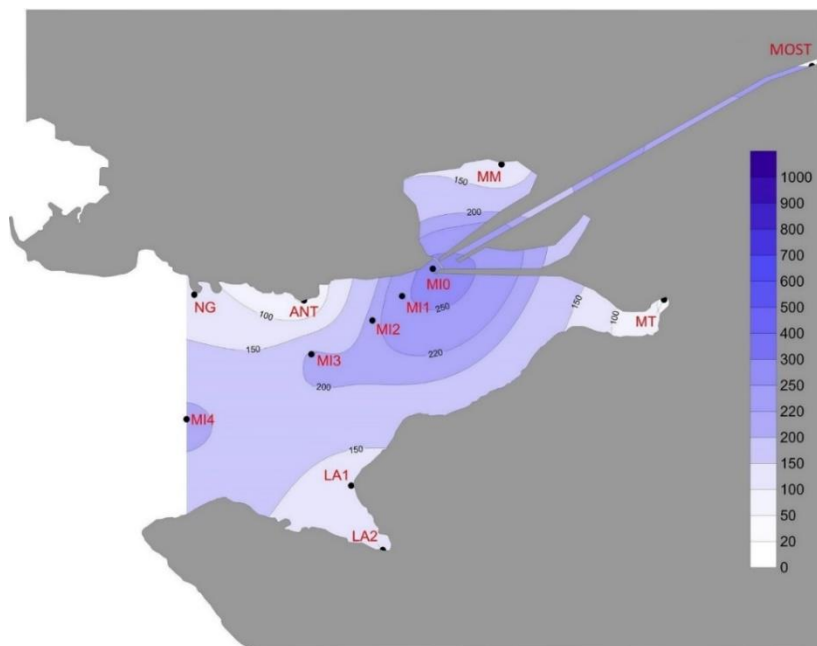
Slika 7. Raspodjela saliniteta u površinskom sloju u veljači 2016.

U kolovozu 2016. godine tokom ljetnog uzorkovanja minimum saliniteta iznosio je 0 na postaji MOST, a maksimum saliniteta iznosio je 35.3 na postaji MI4. Srednja vrijednost saliniteta iznosila je 22.43. Iako postoji utjecaj rijeke Mirne vrijednosti saliniteta ljeti brže rastu od ušća prema otvorenom moru, te već na 2km od ušća (postaja MI4) vrijednost saliniteta iznosila je 35.3. Na području močvare ljeti kao i zimi vodena masa je bila slatkovodna (slika 8).



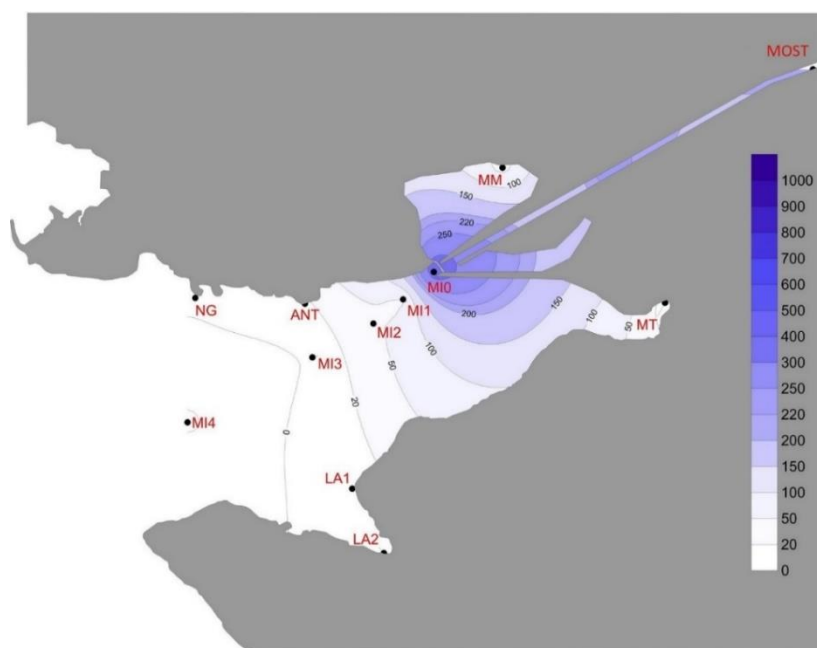
Slika 8. Raspodjela saliniteta u površinskom sloju u kolovozu 2016.

U veljači 2016. godine tokom zimskog uzorkovanja najmanja koncentracija *E. coli* iznosila je 39 CFU/100ml na postaji ANT, a najveća koncentracija iznosila je 267 CFU/100ml na postaji MI0. Srednja vrijednost koncentracija je iznosila 157,75 CFU/100ml. Koncentracija *E.coli* se udaljavanjem od ušća postepeno smanjivala, no bilo je vidljivo kako Mirna nosi bakterije i u otvoreno more (slika 9).



Slika 9. Raspodjela koncentracije *E.coli* (CFU/100ml) u veljači 2016.

U kolovozu 2016. godine tokom ljetnog uzorkovanja najmanja koncentracija *E. coli* iznosila je 1 CFU/100ml na postaji MI4, a najveća koncentracija iznosila je 340 CFU/100ml na postaji MI0. Srednja vrijednost koncentracija je iznosila 60.83 CFU/100ml. U Mirni se *E.coli* nalazila u velikim koncentracijama sa maksimumom na samom ušću, no ulaskom u more koncentracija je drastično pala, te su bakterije jedva bile prisutne u ostatku uvale (slika 10).



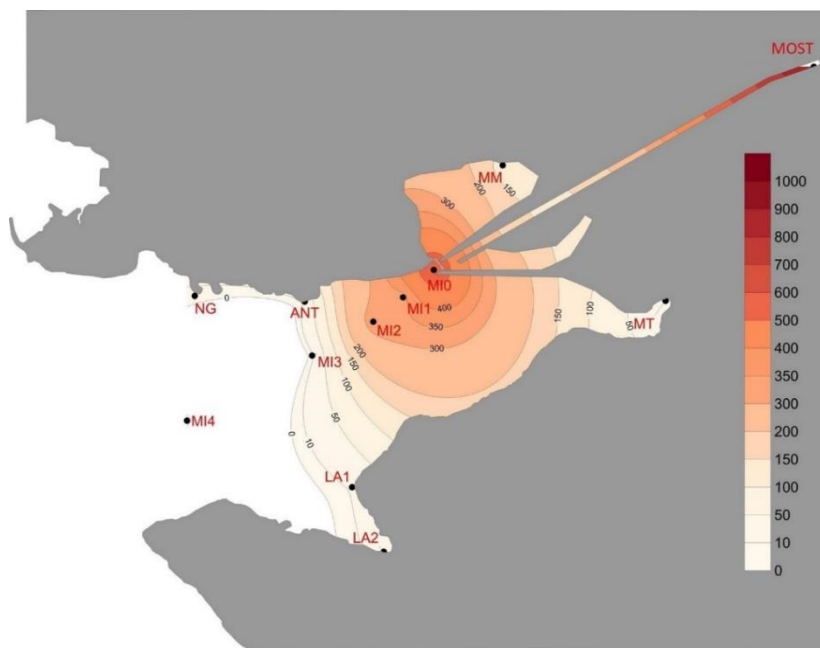
Slika 10. Raspodjela koncentracije *E.coli* (CFU/100ml) u kolovozu 2016.

U veljači 2016. godine najniže izmjerena koncentracija fekalnih streptokoka iznosila je 31 CFU/100ml na postaji LA2, a najveća koncentracija iznosila je 264 CFU/100ml. Srednja vrijednost koncentracija fekalnih streptokoka je iznosila 130.17 CFU/100ml. Veće koncentracije streptokoka koje su se nalazile u Mirni nošene su bile u more, sve do udaljenosti od 1 km, odnosno postaje MI3. Od tuda koncentracije povećanjem daljine od ušća su se smanjivale. U uvučenim dijelovima uvale su koncentracije bile minimalne, postaje LA2 i MT (slika 11).



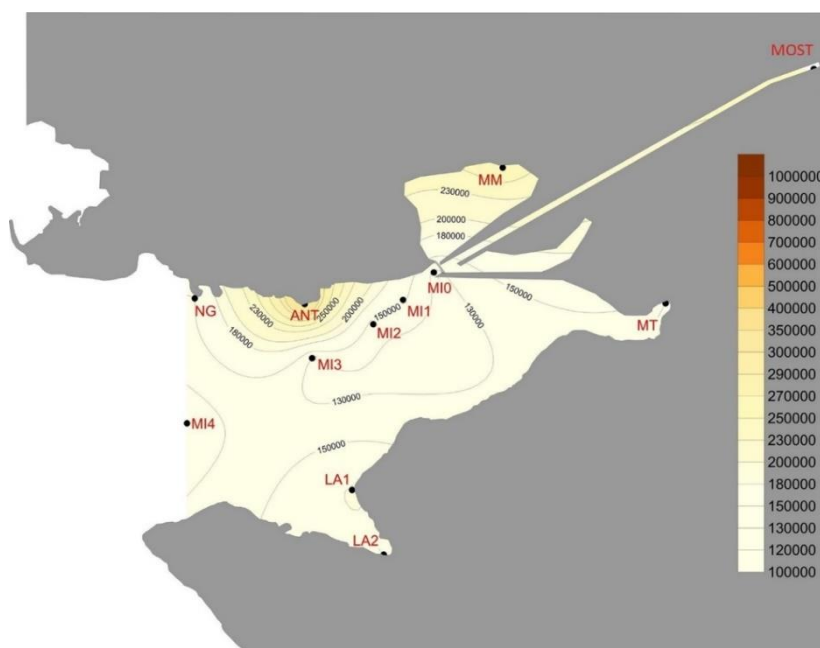
Slika 11. Raspodjela koncentracije fekalnih streptokoka (CFU/100ml) u veljači 2016.

U kolovozu 2016. godine najmanje izmjerena koncentracija fekalnih streptokoka iznosila je 2 CFU/100ml na postaji MI4, a najveća koncentracija iznosila je 906 CFU/100ml na postaji MOST. Srednja vrijednost koncentracija fekalnih streptokoka iznosila je 197.25 CFU/100ml. Zbog stočarstva u dolini te ispiranja tla u rijeku koncentracije fekalnih streptokoka su bile daleko iznad granice dozvoljenih, no ulaskom u more koncentracije su drastično pale. Već na MI3 (1 km od ušća) koncentracije su bile minimalne i u oba močvarna područja uvale bakterije su bile u normalnim granicama.



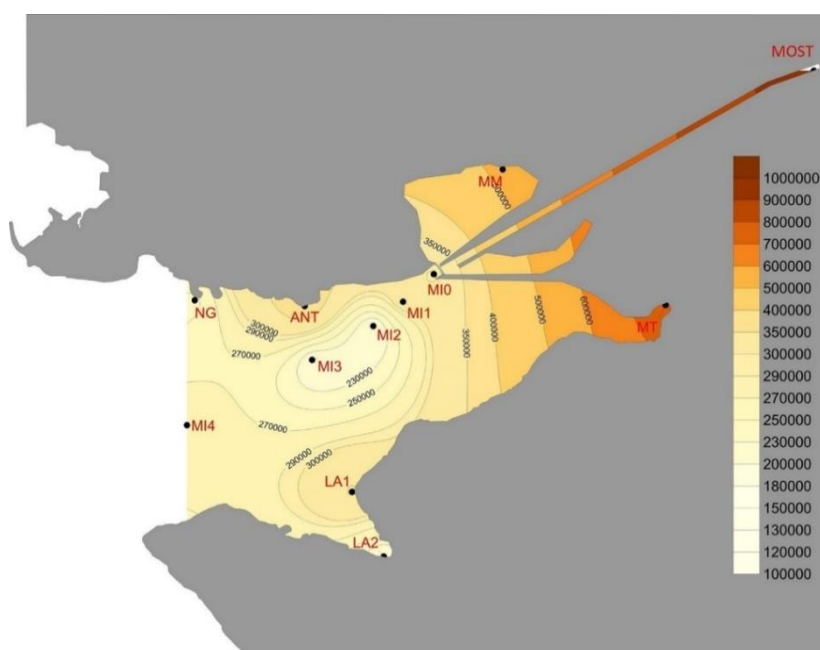
Slika 12. Raspodjela koncentracije fekalnih streptokoka (CFU/100ml) u kolovozu 2016.

U veljači 2016. godine najmanje izmjerena koncentracija heterotrofnih bakterija iznosila je $0,12 \times 10^6$ stanica/ml na postaji MI4, a najveća izmjerena koncentracija iznosila je $0,34 \times 10^6$ stanica/ml na postaji ANT. Srednja vrijednost koncentracija iznosila je $0,18 \times 10^6$ stanica/ml. Nisu postojala kolebanja u vrijednostima koncentracija heterotrofnih bakterija. Izmjerene vrijednosti u rijeci i u ostatku uvale su bile slične, isticala se samo postaja ANT sa višim vrijednostima u odnosu na ostale tog dana (slika 13).



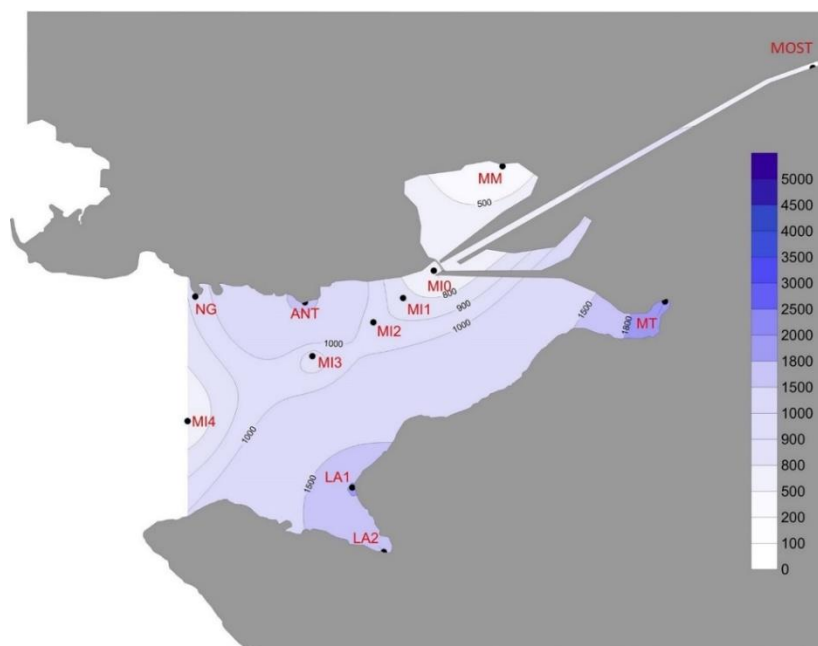
Slika 13. Raspodjela koncentracija heterotrofnih bakterija (stanica/ml) u veljači 2016.

U kolovozu 2016. godine najmanja izmjerena koncentracija heterotrofnih bakterija iznosila je $0,2 \times 10^6$ stanica/ml na postaji MI2, a najveća izmjerena koncentracija iznosila je $0,96 \times 10^6$ stanica/ml na postaji MOST. Srednja vrijednost koncentracija iznosila je $0,399 \times 10^6$ stanica/ml. Rijeka je nosila puno veće količine HB nego u zimskom uzorkovanju. Koncentracije u ostatku uvale su bile malo veće nego zimi. U oba močvarna područja, postaje MM i MT, koncentracije su bile više nego u ostatku uvale (slika 14).



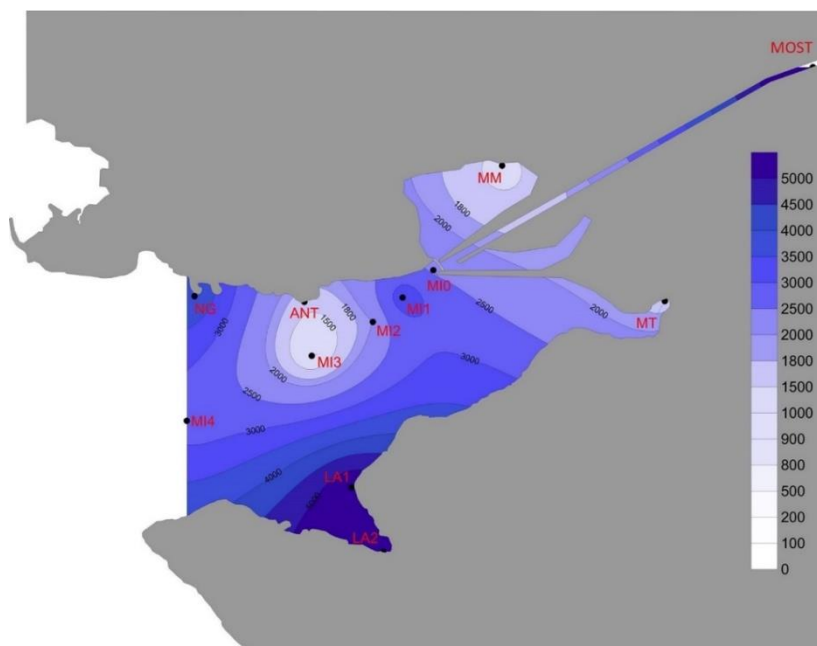
Slika 14. Prikaz koncentracija heterotrofnih bakterija (stanica/ml) u kolovozu 2016.

U veljači 2016. godine najmanja izmjerena koncentracija heterotrofnih nanoflagelata iznosila je 312 stanica/ml na postaji MM, a najveća izmjerena koncentracija iznosila je 2007 stanica/ml na postaji MT. Srednja vrijednost izmjerenih koncentracija iznosila je 1061 stanica/ml. Rijeka nije nosila HNF u more, te je bila vidljiva smanjena koncentracija na postajama MI1, MI2, MI3 u odnosu na rubne dijelove uvale gdje su koncentracije bile veće, odnosno na području postaje MT, ANT te kod autokampa Lanterna (LA1 i LA2). Kod močvarnog dijela Mirne (MM) koncentracija HNF-a je bila mala (slika 15).



Slika 15. Raspodjela koncentracija heterotrofnih nanoflagelata (stanica/ml) u veljači 2016.

U kolovozu 2016. godine najmanja izmjerena koncentracija heterotrofnih nanoflagelata iznosila je 1071 stanica/ml na postaji MI3, a najveća koncentracija iznosila je 6022 stanica/ml na postaji MOST. Srednja vrijednost izmjerenih koncentracija iznosila je 3118 stanica/ml. Ljeti je rijeka unosila u uvalu najveće koncentracije HNF-a, koji je bio neravnomjerno raspoređen po uvali. Najmanje koncentracije su se nalazile na močvarnim područjima (MM i MT), te ispred kamenoloma na postajama ANT i MI3. U uvali najveće koncentracije su se nalazile kod kupališta autokampa (LA1 i LA2) te kod kupališta u Novigradu (NG) (slika 16).



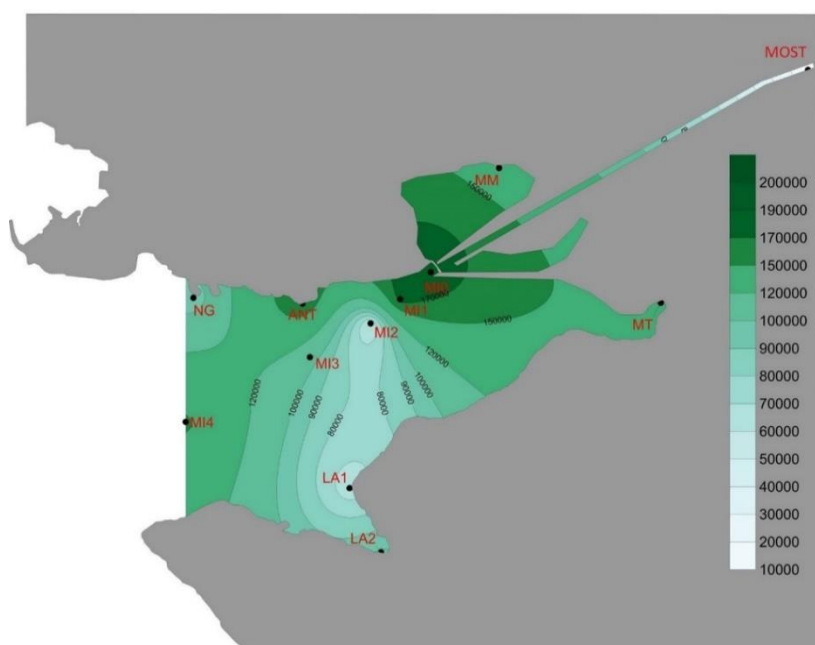
Slika 16. Raspodjela koncentracija heterotrofnih nanoflagelata (stanica/ml) u kolovozu 2016.

U veljači 2016. godine najmanja izmjerena koncentracija cijanobakterija iznosila je 615 stanica/ml na postaji MM, a najveća izmjerena koncentracija iznosila je 3212 stanica/ml na postaji MI4. Srednja vrijednost izmjerenih koncentracija iznosila je 2056 stanica/ml. Izmjerene vrijednosti zimi su bile ujednačene. Koncentracije su se povećavale prema otvorenom moru, te na području postaje MT, dok u drugoj močvari su vrijednosti bile najniže (slika 17).



Slika 17. Raspodjela koncentracija cijanobakterija (stanica/ml) u veljači 2016.

U kolovozu 2016. godine najmanja izmjerena koncentracija cijanobakterija iznosila je $0,012 \times 10^6$ stanica/ml na postaji MOST, a najveća koncentracija iznosila je $0,18 \times 10^6$ stanica/ml na postaji MI0. Srednja vrijednost izmjerenih koncentracija iznosila je $0,12 \times 10^6$ stanica/ml. Rijeka nije unosila cijanobakterije u uvalu, najveće koncentracije su se nalazile kod kamenoloma na postaji ANT te na samom ušću, od kojeg prema ostatku uvale su se koncentracije smanjivale. Najniže koncentracije su izmjerene na području autokampa, na postaji LA1 (slika 18).



Slika 18. Raspodjela koncentracija cijanobakterija (stanica/ml) u kolovozu 2016.

Sve izmjerene vrijednosti se nalaze u Prilogu. U Pomoćnoj tablici 2. se nalaze podaci za zimsko uzorkovanje, te u Pomoćnoj tablici 3. se nalaze podaci za ljetno uzorkovanje.

6. Rasprava

Izmjerene temperature su bile u skladu sa tipičnim vrijednostima za tu sezonu. Prema podacima Kakvoće mora u Republici Hrvatskoj za 2016-u godinu (Kakvoća mora u Republici Hrvatskoj, 26.11.2019.) srednja temperatura ljeti je bila 22.5 °C u Novigradu i 23 °C na području autokampa Lanterna. Prema podacima 'Seawater temperature' (Seawater temperature, 26.11.2019.) temperatura mora u veljači je bila između 10 i 11 °C. U ljetnom uzorkovanju je vidljiv utjecaj hladnije vode Mirne koja stiže u more, pa tako u močvarnom području estuarija i ispod mosta Antenal na postaji M10 temperatura je 2-3 °C niža od temperature mora u Tarskoj uvali.

Salinitet se jako razlikuje među postajama uzorkovanja. Vidljiv je utjecaj rijeke Mirne na cijelom području: u zimskom uzorkovanju salinitet u uvali ne prelazi vrijednost od 20 ‰, zbog veće količine vode koja Mirna nosi (oborine) i zbog manje evaporacije mora; dok je ljeti obrnuto, već na postaji M14, koja se nalazi 2 km od samog ušća, salinitet ima vrijednost od 35,3 ‰. Salinitet Jadranskog mora varira između 34-38 ‰, s tim što zbog rijeke Po sjeverni Jadran ljeti ima salinitet oko 35 ‰ (Lipizer i sur., 2014).

Na temelju brojnosti *E.coli* i crijevnih enterokoka ocijenjena je sanitarna kakvoća mora prema Uredbi o kakvoći mora za kupanje (NN 73/08). Granične vrijednosti po kojima se vršilo ocjenjivanje se nalaze u Tablici 1.

Sanitarni uvjeti tijekom zime su bili lošije kvalitete u odnosu na ljeto, iz razloga što zbog jačih sezonskih padalina je ispiranje tla i protok rijeke bio veći i omogućio je pojačani transport alohtonih organizama do mora. Uz to, zimi, uvjeti za preživljavanje *E.coli* su povoljniji jer ugibanje alohtonih bakterija odvija se sporije u hladnim vodama i s manje sunčevog dnevnog svjetla (Krstulović i Šolić, 2006.). Samo 3 postaje su ocijenjene izvrsno, a to su ANT, MM i MT, dok nijedna postaja nije bila nezadovoljavajuća. U ljetnoj sezoni su sve postaje ocijenjene izvrsno osim postaje MOST, koja je ocijenjena kao zadovoljavajuća, te M10 čija ocjena nije bila zadovoljavajuća (s koncentracijom *E.coli* 340 CFU/100ml). U oba slučaja je vidljivo da rijeka Mirna donosi velike količine *E.coli*. Vjerojatno postoje kanalizacijski ispusti gradova u gornjem toku rijeke ili kuća i farmi u samoj dolini koji se izljevaju u rijeku bez predhodnog tretmana i utječu na brojnost *E.coli*.

Što se tiče fekalnih streptokoka u zimskom uzorkovanju postaje su većinom ocjenjene dobro i zadovoljavajuće, dok su 2 postaje imale veće količine CFU/100ml streptokoka od zadovoljavajućih, a to su MI2, MI3. Zbog svoje daljine i dužeg preživljavanja streptokoka od *E.coli*, oni su stigli na veće udaljenosti od ušća Mirne, što ukazuje na prisutnost starijeg onečišćenja na tom području, obzirom da je rijeka Mirna glavni izvor fekalnih streptokoka u uvali. U ljetnom uzorkovanju vrijednosti streptokoka su bile minimalne. Odstupa najviše postaja MOST koja ima 906 CFU/100ml (ta vrijednost je 4.5 puta veća od maksimalne zadovoljavajuće), postaja se nalazi u samoj rijeci što ukazuje da uzgajanje domaćih životinja u dolini znatno utječe na kakvoću vode. Rijeka Mirna unosi u more te količine streptokoka, stoga postaje MI0, MI1 i MI2 isto tako mjere količine streptokoka koje prelaze vrijednost od 200 CFU/100ml koja je maksimalna vrijednost kako bi postaja bila ocjenjena zadovoljavajućom ocjenom.

Omjeri FK:FS pokazuju da su zimi fekalni indikatori imali uglavnom životinjsko porijeklo. Ljeti je vidljivo kako su na postajama NG, MT i LA1 dospjele bakterije bile ljudskog porijekla (omjer FK:FS je veći od 4.0), najvjerojatnije zbog samih kupača, no količine bakterija su ipak bile minimalne, pa su postaje ocjenjene izvrsnim.

Brojnosti heterotrofnih bakterija dobivenim u ovom istraživanju slične su vrijednostima koje su izmjerili Zacccone i suradnici (2002.). U sjevernom Jadranskom moru brojnosti bakterija u površinskom sloju variraju između $0,23 \times 10^6$ i $0,56 \times 10^6$ stanica/ml, dok ljeti i u listopadu dostižu maksimalne vrijednosti preko 10^6 stanica/ml (Zacccone i sur., 2002.). Ljeti je brojnost heterotrofnih bakterija bila najveća na postaji MOST vjerojatno zbog stočarstva u dolini rijeke i mogućih nesaniranih otpadnih i kanalizacijskih voda koje se ulijevaju u rijeku Mirnu.

Izmjerene vrijednosti cijanobakterija su u zimskom uzorkovanju bile niže uobičajenih vrijednosti za sjeverni Jadran koje su u svom radu prikazali autori Ivančić i sur. (2010.), dok su ljeti bile unutar graničnih vrijednosti rada. U ovom kao i u spomenutom radu je vidljiv utjecaj rijeke na brojnost cijanobakterija unutar promatranog područja. Povećana brojnost cijanobakterija oko samog ušća u kolovozu, osim zbog prirodno veće brojnosti nego zimi, ukazuje na mogućnost povećanog donosa hranjivih soli iz Mirne koje pogoduju rastu i razmnožavanju cijanobakteria. Zatim se šire preko cijele uvale, no brojnosti su bile smanjene na mjestima di su brojnosti HNF-a bile veće. Smanjena brojnost na postaji MOST se desila vjerojatno jer

je voda iz rijeke mutna pa svjetlost ne dopire do cijanobakterija (fotosintetska aktivnost je smanjena).

Izmjerene vrijednosti HNF-a su pokazale sličnost u sezonskim kolebanjima s onima koje spominju autori Šestanović i sur. (2004), odnosno kako su zimi brojnosti manje dok su ljeti veće. Konkretno u brojkama vrijednosti se razlikuju u ljetnoj sezoni. Autori su dobili zimske vrijednosti ispod $2,5 \times 10^3$ stanica/ml, dok su ljetne vrijednosti prelazile 8×10^3 stanica/ml. Ljetne vrijednosti u ovom radu su niže vjerojatno jer količina heterotrofnih bakterija manja, time je i brojnost HNF-a manja. U ljetnom uzorkovanju je vidljivo kako brojnosti HNF-a u uvali su bile manje na mjestima di su kombinirano smanjene brojnosti heterotrofnih bakterija i cijanobakterija. Njihova brojnost je korelirana sa količinom hrane koja im je na raspolaganju (Caron i sur., 1991). Najveću brojnost HNF-a je bila na postaji MOST zbog velikih količina heterotrofnih bakterija, iako na toj postaji je bio minimum cijanobakterija.

7. Zaključak

Na temelju provedenog istraživanja može se zaključiti kako je sanitarna kakvoća mora u Tarskoj uvali zadovoljavajuća u veljači, dok je ljeti izvrsna. Pažnju treba skrenuti na pojedine postaje, na MOST, MI0, gdje ribari često (pogotovo ljeti) love raznu ribu, najviše ciple (lat. *Mugil cephalus*) i ponekad izlovljuju dagnje (lat. *Mytilus galloprovincialis*) zato što na tim lokacijama vrijednosti fekalnih indikatora prelaze sigurnosnu propisanu granicu, te ribe i dagnje s tog mjesta mogu potencijalno biti štetne za ljudsko zdravlje. Preporučuje se uvođenje redovitog monitoringa i eventualni preventivni prekid ribolova u uvjetima pogoršanog sanitarnog stanja voda.

Koncentracija mikrobne zajednice je u većini postaja bila unutar normalnih granica. Očekivano, ljeti mikrobna zajednica je bila brojnija zbog pojačane primarne proizvodnje. Brojnost heterotrofnih bakterija ljeti na postaji MOST je najveća najvjerojatnije iz razloga što rijeka ispire tlo, a vjerojatno ima i otpadnih voda. Ti faktori uzrokuju pojavu velike količine organske tvari, koja, služeći im kao hrana, igra veliku ulogu u njihovoj brojnosti.

8. Literatura

8.1. Literatura

Bartley C. H., Slanetz L. W., 1960. Types and sanitary significance of fecal streptococci isolated from feces, sewage, and water, *American Journal of Public Health and the Nations Health* 50(10), 1545-1552

Bertoša M., Matijačić R. (ur.) 2005. Istarska enciklopedija, Leksikografski zavod Miroslav Krleža, Zagreb

Carignan V., Villard M.-A., 2002. Selecting indicator species to monitor ecological integrity: a review, *Environmental monitoring and assessment* 78(1), 45-61

Caron D. A., Lin Lim E., Miceli G. Waterbury J. B., Valios F. W., 1991. Grazing and utilization of chroococoid cyanobacteria and heterotrophic bacteria by protozoa in laboratory cultures and coastal plankton community, *Marine Ecology Progress Series* 76, 205-217

Christaki U., Giannakourou A., Van Wambeke F., Grégory G., 2001. Nanoflagellate predation on auto- and heterotrophic picoplankton in the oligotrophic Mediterranean Sea, *Journal of plankton Research* 23(11), 1297-1310

Fogg G. E., 1995. Some comments on picoplankton and its importance in the pelagic ecosystem, *Aquatic Microbial Ecology* Vol. 9

Fukami K., Murata N., Morio Y., Nishijima T., 1996. Distribution of heterotrophic nanoflagellates and their importance as the bacterial consumer in a eutrophic coastal water, *Journal of Oceanography* 52(4), 399-407

Fukami K., Simidu U., Taga n., 1983. Distribution od heterotrophic bacteria in relation to the concentration of particulate organic matter in seawater, *Canadian Journal of Microbiology* 29(5), 570-575

Gameson A. L. H., Gould D. J., 1975. Effects of solar radiation on the mortality of some terrestrial bacteria in sea water, *Discharge of sewage from sea outfalls*, 209-219

Geoportal DGU, 2019. Internet, raspoloživo na <https://geoportal.dgu.hr/> pristupljeno 20.10.2019.

George I., Anzil A., Servais P., 2004. Quantification of fecal coliform inputs to aquatic systems through soil leaching, *Water Research* 38(3), 611-618

Howarth R., Chan F., Conley D.J., Garnier J., Doney S.C., Marino R., Billen G., 2011. Coupled biogeochemical cycles: eutrophication and hypoxia in temperate estuaries and coastal marine ecosystems, *Frontiers in Ecology and the Environment* 9(1), 18-26

Hrvatska enciklopedija, 2019. Estuarij, Internet, raspoloživo na <https://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=18450> pristupljeno 16.8.2019

Hrvatska enciklopedija, 2019. Mirna, Internet, raspoloživo na <https://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=41151> pristupljeno 5.12.2019.

Ivančić I., Fuks D., Najdek M., Blažina M., Devescovi M., Šilović T., Paliaga P., Orlić S., 2010. Long-term changes in heterotrophic abundance and growth characteristics in the northern Adriatic Sea, *Journal of Marine Systems* 82(4), 206-216

Jumars P. A., Pentry D. L., Baross J. A., Perry M. J., Frost B. W.B., 1989. Closing the microbial loop: dissolved carbon pathway to heterotrophic bacteria from incomplete ingestion, digestion and absorption in animals, *Deep Sea Research Part A., Oceanographic Research Papers* 36(4), 483-495

Kakvoća mora u Republici Hrvatskoj, 2019. Internet, raspoloživo na http://baltazar.izor.hr/plazepub/kakvoca_detalji10, pristupljeno 26.11.2019.

Kraus R., 2010. Algologija 3 – Odjel *Cyanophyta* i *Prochlorophyta*, Algologija, predavanje, Znanost o moru, Odjel za prirodne i zdravstvene studije, Sveučilište Jurja Dobrile u Puli

Krstulović N., Šolić M., 2006. Mikrobiologija mora, Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split

Lipizer M., Partescano E., Rabitti A., Giorgetti A., Crise A., 2014. Qualified temperature, salinity and dissolved oxygen climatologies in a changing Adriatic Sea, *Ocean Science* 10(5), 771-797

Milliman J.D., 2001. River inputs, *Encyclopedia of Ocean Sciences*, 2419-2427

McBride M. J., 2001. Bacterial gliding motility: multiple mechanisms for cell movement over surfaces, *Annual Review of Microbiology* 55(1), 49-75

McCaughey J., McMeekin T. A., 1980. Relative effects on bacterial and protozoan predators on survival of *Escherichia coli* in estuarine water samples, *Applied and Environmental Microbiology* 40(5), 907-911

Narodne Novine, 2008. Uredba o kakvoći mora za kupanje, Narodne novine d.d., 73/2008., Internet, raspoloživo na https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2008_06_73_2426.html, pristupljeno 7.8.2019.

Paliaga P., Iveša N., 2019. Morska staništa u Hrvatskoj, Održivo upravljanje morskim resursima, predavanje, Znanost o moru, Odjel za prirodne i zdravstvene studije, Sveučilište Jurja Dobrile u Puli

Pritchard D. W., 1967. What is an estuary: physical viewpoint. *American Association for the Advancement of Science*, Washington DC, Vol. 1, 149-176

Seawater temperature – Svjetske temperature mora: Novigrad, 2019. Internet, raspoloživo na <https://seatemperature.info/february/novigrad-water-temperature.html> pristupljeno 26.11.2019.

Sinton L. W., Donnison A. M., Hastie C. M., 1993. Faecal streptococci as faecal pollution indicators: A review. Part I: Taxonomy and enumeration, *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 27(1), 101-115

Stanier R. Y., Cohen-Bazire G., 1977. Phototrophic prokaryotes: The Cyanobacteria, *Annual Review of Microbiology* 31(1), 225-274

Šegota J., 1955. Kolonat u Bujštini – s osvrtom na poljoprivredu i poljoprivredno zadržavanje danas, *Agronomski glasnik: Glasilo Hrvatskog agronomskog društva*, Vol. 5 Br. 11-12

Šestanović S., Šolić M., Krstulović N., Ninčević Ž., 2004. Seasonal and vertical distribution of planktonic bacteria and heterotrophic nanoflagellates in the middle Adriatic Sea, *Helgoland Marine Research*, 58(2), 83-92

Šolić M., Krstulović N., 1992. Separate and combined effects of solar radiation, temperature, salinity and pH on the survival of faecal coliforms in seawater, *Marine Pollution Bulletin* 24(8), 411-416

Tophøj J., Dam Wollenberg R., Sondergaard T. E., Eriksen N. T., 2018. Feeding and growth of marine heterotrophic nanoflagellates, *Procryptobia sorokini* and *Paraphysomonas imperforata* on a bacterium, *Pseudoalteromonas* sp. with an inducible defence against grazing, PLoS ONE 13(4)

Williams S. T., Sharpe M. E., Holt J. G. (ur.) 1989. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 1st ed., vol. 4, Williams and Wilkins, Baltimore

Zaccone R., Caruso G., Calì C., 2002. Heterotrophic bacteria in the northern Adriatic Sea: seasonal changes and ectoenzyme profile, Marine Environmental Research 54(1), 1-19

Zoom Earth – satelitska snimka Zemlje, 2019. Internet, raspoloživo na <https://zoom.earth/> pristupljeno 16.8.2019.

8.2. Popis slika

Slika 1., Satelitska snimka područja s imenima postaja (Preuzeto i prilagođeno sa web-stranice Geoportal DGU – <https://geoportal.dgu.hr/>)

Slika 2., Izrasle kolonije *Escherichia coli* i fekalnih koliforma, autorska fotografija

Slika 3., Hranjiva podloga s kolonijama fekalnih streptokoka, autorska fotografija

Slika 4., Preparati s polikarbonatnim filterima, autorska fotografija

Slika 5., Raspodjela temperature ($T/^{\circ}\text{C}$) u površinskom sloju u veljači 2016.

Slika 6., Raspodjela temperature ($T/^{\circ}\text{C}$) u površinskom sloju u kolovozu 2016.

Slika 7., Raspodjela saliniteta u površinskom sloju u veljači 2016.

Slika 8., Raspodjela saliniteta u površinskom sloju u kolovozu 2016.

Slika 9., Raspodjela koncentracije *E.coli* (CFU/100ml) u veljači 2016.

Slika 10., Raspodjela koncentracije *E.coli* (CFU/100ml) u kolovozu 2016.

Slika 11., Raspodjela koncentracije fekalnih streptokoka (CFU/100ml) u veljači 2016.

Slika 12., Raspodjela koncentracije fekalnih streptokoka (CFU/100ml) u kolovozu 2016.

Slika 13., Raspodjela koncentracije heterotrofnih bakterija (stanica/ml) u veljači 2016.

Slika 14., Raspodjela koncentracije heterotrofnih bakterija (stanica/ml) u kolovozu 2016.

Slika 15., Raspodjela koncentracija heterotrofnih nanoflagelata (stanica/ml) u veljači 2016.

Slika 16., Raspodjela koncentracija heterotrofnih nanoflagelata (stanica/ml) u kolovozu 2016.

Slika 17., Raspodjela koncentracija cijanobakterija (stanica/ml) u veljači 2016.

Slika 18., Raspodjela koncentracija cijanobakterija (stanica/ml) u kolovozu 2016.

8.3. Popis tablica

Tablica 1., Standardi za ocjenu kakvoće mora za kupanje nakon svakog ispitivanja

Prilog

Pomoćna tablica 1. - Koordinate postaja korištenih u radu

POSTAJA	E (HTRS96/TM)	N (HTRS96/TM)
MI0	272113	5023630
MI1	271897	5023438
MI2	271689	5023268
MI3	271262	5023030
MI4	270387	5022575
NG	270441	5023448
ANT	271210	5023408
MM	272594	5024363
MOST	274769	5025053
MT	273732	5023414
LA1	271541	5022108
LA2	271762	5021656

Pomoćna tablica 2. – Izmjerene vrijednosti zimskog uzorkovanja

Postaja	Dubina	Datum	Temp	Sal	FK	FS	<i>E. coli</i>	FK/FS	HB	HNF	CYB
MI0	0m	20.2.2016	11,2	14,01	1137	189	267	0,17	125351	651	1685
MI1	0m	20.2.2016	11,3	16,44	805	162	245	0,20	153893	841	1225
MI2	0m	20.2.2016	11,3	16,94	606	238	212	0,39	140211	924	2415
MI3	0m	20.2.2016	11,6	16,28	720	264	209	0,37	127129	819	2465
MI4	0m	20.2.2016	11,8	15,19	492	96	212	0,20	120438	691	3212
NG	0m	20.2.2016	11	18,67	356	63	115	0,18	148545	923	2858
ANT	0m	20.2.2016	11	16,00	100	51	39	0,51	341024	1683	2587
MM	0m	20.2.2016	11,4	0,28	809	162	96	0,20	267640	312	615
MOST	0m	20.2.2016	10,8	0,00	1448	200	241	0,14	238741	506	1210
MT	0m	20.2.2016	11	16,19	162	43	41	0,27	147202	2007	2814
LA1	0m	20.2.2016	11,8	18,41	234	63	114	0,27	183412	1844	1541
LA2	0m	20.2.2016	11,9	18,32	429	31	102	0,07	175087	1531	2042

Temp – temperatura izražena u °C

Sal - salinitet

FK, FS, *E.coli* – vrijednosti izražene mjernom jedinicom CFU/100ml

HB, HNF, CYB – vrijednosti izražene mjernom jedinicom stanica/ml

Pomoćna tablica 3. – Izmjerene vrijednosti ljetnog uzorkovanja

Postaja	Dubina	Datum	Temp	Sal	FK	FS	<i>E. coli</i>	FK/FS	HB	HNF	CYB
MI0	0m	28.8.2016	19,4	18,41	580	593	340	0,98	292174	2409	183333
MI1	0m	28.8.2016	20,3	20,05	145	330	44	0,44	323601	3346	178427
MI2	0m	28.8.2016	20,8	23,1	152	346	50	0,44	199943	2007	56316
MI3	0m	28.8.2016	21,2	25,9	6	4	2	1,50	205847	1071	106100
MI4	0m	28.8.2016	21,7	35,3	2	2	1	1,00	289943	2676	153893
NG	0m	28.8.2016	21,3	33,2	18	4	2	4,50	243106	4015	91165
ANT	0m	28.8.2016	20,1	28,7	24	11	16	2,18	406144	1593	168948
MM	0m	28.8.2016	18,8	0,0	63	128	31	0,49	524407	1338	137166
MOST	0m	28.8.2016	18,1	0	950	906	212	1,05	963504	6022	11877
MT	0m	28.8.2016	20,3	20,2	45	10	8	4,50	777494	1673	145864
LA1	0m	28.8.2016	21,4	31,7	53	12	9	4,42	358638	5576	62728
LA2	0m	28.8.2016	21,1	32,6	61	21	15	2,90	202698	5687	101703

Temp – temperatura izražena u °C

Sal – salinitet

FK, FS, *E.coli* – vrijednosti izražene mjernom jedinicom CFU/100ml

HB, HNF, CYB – vrijednosti izražene mjernom jedinicom stanica/ml