

# Mikrobna zajednica u sedimentu lokva jugozapadne Istre i bočate močvare Palud

---

**Frković, Tibor**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2022**

*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:137:891638>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-11**



*Repository / Repozitorij:*

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



**Sveučilište Jurja Dobrile u Puli**

**Fakultet Prirodnih znanosti**

**Sveučilišni preddiplomski studij Znanost o moru**

**TIBOR FRKOVIĆ**

**MIKROBNA ZAJEDNICA U SEDIMENTU LOKVA JUGOZAPADNE  
ISTRE I BOČATE MOČVARE PALUD**

Završni rad

Pula, lipanj 2022

Sveučilište Jurja Dobrile u Puli

Fakultet Prirodnih znanosti

Sveučilišni preddiplomski studij Znanost o moru

**TIBOR FRKOVIĆ**

**MIKROBNA ZAJEDNICA U SEDIMENTU LOKVA JUGOZAPADNE  
ISTRE I BOČATE MOČVARE PALUD**

Završni rad

JMBAG: 0303084071

Studijski smjer: Znanost o moru

Predmet: Mikrobiologija

Mentor: doc.dr.sc. Paolo Paliaga

Komentor: dr.sc Neven Iveša

Pula, lipanj 2022.



## IZJAVA O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, dolje potpisan Tibor Frković, 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 to pokazuju korištene bilješke i bibliografija. Izjavljujem da niti jedan dio Završnog rada nije napisan na nedozvoljen 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 iskorišten za koji drugi rad pri bilo kojoj drugoj visokoškolskoj, znanstvenoj ili radnoj ustanovi.

Student: Tibor Frković

---

U Puli, 2022. godine.



## **IZJAVA**

### **o korištenju autorskog djela**

Ja, Tibor Frković dajem odobrenje Sveučilištu Jurja Dobrile u Puli, kao nositelju prava iskorištavanja, da moj završni rad pod nazivom „Mikrobna zajednica u sedimentu lokva jugozapadne Istre i bočate močvare Palud“ 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 potražujem naknadu.

U Puli, 2022. godine.

Potpis

---

## Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Ciljevi i hipoteze .....	3
3. Materijali i metode .....	4
3.1 Opis lokacija .....	4
3.1.1 Barbariga.....	4
3.1.2 Cisterna .....	5
3.1.3 Cocaletto .....	5
3.1.4 Greco .....	6
3.1.5 Palud.....	7
3.1.6 Pili .....	8
3.2 Uzorkovanje .....	9
3.3 Analiza sedimenta.....	9
3.3.1 Hidrografski uvjeti .....	9
3.3.2 Kisik (O <sub>2</sub> ), sumporovodik (H <sub>2</sub> S) i redoks potencijal (E <sub>h</sub> ).....	9
3.3.3 Brojnost heterotrofnih prokariota (HP), heterotrofnih nanoflagelata (HNF) i cijanobakterija (CB) u sedimentu .....	10
3.3.4 Sanitarna kvaliteta sedimenta .....	10
3.3.5 Organska tvar u sedimentu .....	11
4. Rezultati.....	12
4.1 Hidrografski uvjeti.....	12
4.1.1 Temperatura vode .....	12
4.1.2 Salinitet.....	12
4.2 Kisik u sedimentu .....	13
4.3 Organska tvar .....	15
4.4 Sumporovodik u sedimentu .....	15
4.5 Redoks potencijal.....	17
4.6 Heterotrofni prokarioti sedimenta.....	19
4.7 Sanitarna kvaliteta sedimenta .....	21
5. Diskusija .....	23
6. Zaključci.....	27
7. Popis literature.....	28
8. Popis slika .....	31
9. Popis tablica.....	32
10. Sažetak.....	33
11. Summary .....	34

## 1. Uvod

Unutar Europe, Sredozemlje je specifičan prostor koji predstavlja poseban i kompleksan mozaik staništa bogate bioraznolikosti, pejzažne i kulturne vrijednosti. Sredozemlje je obilježeno mediteranskom klimom koja je karakterizirana suhim ljetnim periodima. Stoga močvare i lokve u tom biomu svojom zalihom vode kroz dulji dio godine imaju temeljnu ekološku funkciju (Balbo i sur., 2017).

Istarski poluotok je zahvaljujući svojem reljefu i klimatskim uvjetima od davnina obilježen močvarnim područjima i privremenim lokvama (Balbo i sur., 2017) koje su prirodnog, poluprirodnog ili umjetnog porijekla (Radošević, 2013). Ova staništa su doživjela u zadnjim stoljećima brojne velike promjene poput isušivanja, kontaminacije zbog upotrebe larvicida, a ponekad i salinizacije uslijed njihovog povezivanja s morem u pokušaju suzbijanja malarije (Radošević, 2013).

U odnosu na prethodna stoljeća i dalje se očituje značajan sinergistički antropogeni utjecaj na lokve i močvare u obliku otpadnih voda iz kućanstava, industrijskih postrojenja te voda zagađenih ispranim sadržajem s urbanih i obradivih površina. Takve vode mogu znatno promijeniti kemijski sastav vodenih sustava u koji dospijevaju. Štetne promjene se ukazuju kroz izmjene pH vrijednosti, promjene u redoks potencijalu te unošenje stranih štetnih tvari poput teških metala, endokrinih ometača, pesticida itd. Komunalne vode, prehrambene industrije te isprane obradive površine ispuštaju velike količine hranjivih tvari u vodene sustave. Višak nutrijenata dovodi do naglog porasta mikrobiološke zajednice koja daljnjom razgradnjom troši kisik te može dovesti do hipoksičnih ili čak anoksičnih uvjeta (Brönmark i Hansson, 2002).

Teški metali su prirodne tvari koje u štetnim količinama za okoliš dospijevaju u vodene sustave antropogenim industrijskim aktivnostima kao što su rudarstvo, taljenje, spaljivanje fosilnih goriva i spaljivanje otpada. Njihova problematičnost leži u dugom vijeku trajanja te se vežu za čestice koje tonu iz vodenog stupca prema sedimentu, gdje se ugrađuju. Zbog toga su organizmi koji žive u sedimentima izloženiji kontaminaciji. Obradive površine zajedno s fekalnim vodama također mogu sadržavati razne štetne endokrine ometače. Naime, endokrini ometači se pojavljuju u nizu proizvoda kao kontracepcijskim lijekovima te pesticidima koji negativno utječu na reproduktivne sposobnosti organizama (Brönmark i Hansson, 2002). Herbicidi,

odnosno pesticidi namijenjeni za korove, koji se također mogu naći na obradivim površinama, obavljaju svoju funkciju vezanjem za klorofil te smanjivanjem efikasnosti fotosinteze. Iako herbicidi nisu namijenjeni za fitoplankton, oni svejedno imaju negativan utjecaj, što se negativno odražava na cijeli ekosustav (Villeneuve i sur., 2011).

Močvare i lokve predstavljaju žarišta bioraznolikost jer podržavaju vrste prilagođene kako kopnenim tako i vodenim ekosustavima (Balbo i sur., 2017). Specifični uvjeti ovih staništa pogoduju velikom rasponu biljnih i životinjskih vrsta, mnoge od kojih su endemske, rijetke i/ili na crvenoj listi ugroženih vrsta. Vrste koje često nastanjuju močvarna područja su veliki kralježnjaci poput ptica, insekti, vodozemci te razni mikroorganizmi (Zacharias, 2010).

Mikroorganizmi čine sveprisutnu i nezamjenjivu komponentu vodenih sustava te posebice sedimenta koji čini značajan dio bentosa takvih vodenih tijela. Oni obavljaju ključne funkcije za ekosustav kroz primarnu proizvodnju, razgradnju i kruženje nutrijenata (Villeneuve i sur., 2011) te su bitni kao precizni pokazatelji stanja okoliša. Takva procjena stanja okoliša omogućava uvidjeti negativne učinke uništavanja i degradacije ranjivih specijaliziranih staništa koji mogu dovesti do urušavanja okolnih ekosustava. Sakupljanjem podataka o ekosustavima lokvi i močvara poboljšava se razumijevanje uvjeta i dinamike svih, pa tako i istarskih vodenih tijela. Takve informacije naposljetku predstavljaju stručan temelj potreban za njihovu zaštitu i za sprječavanje negativnih antropogenih pritisaka (Song, 2015).



## **2. Ciljevi i hipoteze**

Ciljevi ovog istraživanja bili su otkrivanje sezonske dinamike kvantifikacijom autohtone i fekalne mikrobne zajednice u sedimentu istarskih lokva i jedne slane močvare te procjena ekološkog stanja uzorkovanih lokacija pomoću dobivenih parametara. Sve u svrhu prepoznavanja potencijalnih rizika za ekosustave i daljnjeg predlaganja mjera za zaštitu ovih područja.

Hipoteza pretpostavlja da brojnost i dinamika autohtone i fekalne mikrobne zajednice te razina degradacije ovisi o sezonskim promjenama temperature, saliniteta, sadržaju organske tvari u sedimentu, razini raspoloživog kisika, ali i o antropogenim utjecajima poput stočarstva, poljoprivrede, cestovnog prometa i otpadnih voda obližnjih naselja.

### 3. Materijali i metode

#### 3.1 Opis lokacija

Područje istraživanja obuhvaća jugozapadni dio Istarskog poluotoka. Kraški teren i karbonatne stijene obilježavaju teren. Prostor je siromašan rijekama i većim jezerima, stoga male privremene i stalne lokve predstavljaju većinu vodenih površina.

##### 3.1.1 Barbariga

Lokva Barbariga (Slika 1) nalazi se neposredno blizu mora malo zapadnije od istoimenog naselja. Obilježena je bujnom vegetacijom unutar i oko nje te raznolikom faunom. Salinitet joj je viši pri usporedbi s ostalim slatkovodnim sustavima zahvaljujući njenom položaju, dok joj je temperatura niža u odnosu na druge lokacije zbog sjene okolnog drveća. Razina lokve pokazuje značajne oscilacije, s maksimalnim dubinama od oko 70 cm tijekom hladnijeg dijela godine i 20 cm tijekom ljeta.



Slika 1. Lokva Barbariga



### 3.1.2 Cisterna

Lokva Cisterna (Slika 2) je locirana blizu plaže istoimene uvale, južno od grada Rovinj-Rovigno. Radi se o umjetnom vodenom tijelu opasanom zidinama sagrađenim u doba antike s funkcijom prikupljanja i pohrane vode za potrebe stočarstva. Lokva je prisutna kroz cijelu godinu s dubinom koja se kreće od 10 do 40 cm. Danas se lokva i dalje koristi za napajanje stoke s obližnjih livada, a za to ima i povijesno-estetsku vrijednost koja obogaćuje turistički sadržaj Rovinjskog priobalja.



**Slika 2. Lokva Cisterna**

### 3.1.3 Cocaletto

Lokva Cocaletto (Slika 3) nalazi se jugoistočno od grada Rovinj-Rovigno, u blizini istoimenog naselja. Iako se radi o plitkom vodenom tijelu koje dostiže najveću dubinu od oko 50 cm, ono ne pokazuje velike sezonske oscilacije razine (oko 15 cm) zbog čega ne dolazi do presušivanja ljeti. Oblik joj je eliptičan, a područje lokve je djelomično ispunjeno vegetacijom. Obale i dno same lokve su stjenovitog tipa sa značajnom akumulacijom mrtvog biljnog materijala koji stvara površinski dio bentosa. Također, prisutan je snažan antropogeni utjecaj radi državne ceste na samom rubu

lokve i obližnjem naselju, koje upotrebljava septičke jame zbog manjka kanalizacije. Lokva se nalazi otprilike 1 m ispod razine državne ceste te prima njene oborinske vode s poljoprivrednih polja smještenih na drugoj strani ceste putem jarka koji prolazi ispod ceste.



**Slika 3. Lokva Cocaletto**

#### **3.1.4 Greco**

Lokva Greco (Slika 4) smještena je u blizini prometne ceste na lokaciji između grada Bale i grada Rovinj-Rovigno. Kao i u slučaju lokve Cocaletto i lokva Greco se nalazi niže u odnosu na cestu, čak 3 m. Međutim, za razliku od nje odvojena je od prometnice putem zemljanog i stjenovitog nasipa koji sprječava direktno slijevanje voda s ceste prema lokvi. Okružuje ju vegetacija i zidani blokovi koji joj daju ovalan oblik. Lokva Greco posjeduje visoku prozornost u odnosu na ostale promatrane lokve te ima veću dubinu (oko 1,5 m). Sezonske oscilacije razine vode kreću se između 10 i 30 cm. U prošlosti se često koristila za napajanje stoke što se i danas ponekad može vidjeti.





**Slika 4. Lokva Greco uz mjerenje dubine i prozirnosti vode**

### **3.1.5 Palud**

Močvara Palud (Slika 5) smještena je jugozapadno od grada Rovinj-Rovigno. Prirodna je depresija koja je stvorila specifičnu vlažnu mikroklimu povoljnu za velik broj biljnih i životinjskih vrsta, a pogotovo ptica. Zahvaljujući tome, Palud je svrstan pod poseban ornitološki rezervat te spada pod područja očuvanja značajnih za ptice (POV) prema Naturi 2000. Najdublji dio močvare ima oko 50 cm, a oscilacije razine vode kreću se u rasponu od oko 30 cm. Iako je močvara imala limitiranu prirodnu podzemnu komunikaciju s morem, ona je postala izuzetno značajna 1906. godine kada je prokopan kanal prosječne dubine od 50 cm i dužine 200 metara. Kanal je prokopan s namjerom podizanja saliniteta kako bi se suzbilo razmnožavanje komaraca koji su bili glavni prijenosnici malarije. Danas je Palud važna turistička destinacija koja je pod strogim monitoringom kako bi se spriječio jači antropogeni učinak (Pokrajac, 2002).



**Slika 5. Močvara Palud**

### **3.1.6 Pili**

Lokva Pili (Slika 6) je locirana na jugozapadnom ulazu u grad Rovinj-Rovigno. Lokacija je pod umjerenim antropogenim utjecajem u prvom redu zbog poljoprivrede, stočarstva, ali je manje zahvaćena utjecajem obližnjih naselja ili turistički atraktivnih područja. U odnosu na ostale promatrane lokve, Pili je u prosjeku najplića lokva, koja se značajno smanjuje tijekom ljeta kada gubi više od 85% svoje površine. Također, usporedbom s ostalim analiziranim lokvama njena prozirnost je najmanja. Tijekom ljeta lokva je fragmentirana na više manjih vodenih tijela (~5). Fragmenti imaju površinu oko 10 m<sup>2</sup> te najveću dubinu od 40 cm.





**Slika 6. Lokva Pili**

### **3.2 Uzorkovanje**

Uzorkovanje je obavljeno na šest različitih lokacija (pet slatkovodnih lokvi i jednoj bočatoj močvari) na području jugozapadne Istre. Jednom tijekom zime (16. ožujka) te jednom tijekom ljeta (22. kolovoza) 2019. godine.

### **3.3 Analiza sedimenta**

#### **3.3.1 Hidrografski uvjeti**

Mjerenja temperature i saliniteta obavljena su *in situ* pomoću pomoću sonde (pIONneer 65, Radiometer analytical, Copenhagen).

#### **3.3.2 Kisik (O<sub>2</sub>), sumporovodik (H<sub>2</sub>S) i redoks potencijal (E<sub>h</sub>)**

Vertikalni profil za kisik i sumporovodik izmjereni su u sedimentnim korerima uz motorizirani mikromanipulatorni sustav (MMS9083) opremljen specifičnim mikrosenzorima (OX-100 i H<sub>2</sub>S-200, Unisense A/S, Denmark). Mikrosenzori su kalibrirani prema uputama proizvođača. Sonda OX-100 kalibrirana je pomoću dvije točke; anoksija i potpuna saturacija O<sub>2</sub>. Sonda H<sub>2</sub>S-200 kalibrirana je na 8 točaka pomoću svježih otopina Na<sub>2</sub>S [1-300 μM u de-oksigeniranom kalibracijskom puferu (NaAc/HAc, pH < 4)].

Vertikalni profil redoks potencijala odrađen je *in situ* vertikalnim unosom sonde u svježe izvađen sediment. Vrijednosti redoks potencijala izmjerene su na svakom cm do dubine od 10 cm. Sonda je prethodno bila kalibrirana u laboratoriju koristeći dvije točke u posebnom puferu (eng. *quinhydrone redox solution*) na pH 4 i pH 7 pripremljene prema Metrohm (Switzerland) metodi.

### **3.3.3 Brojnost heterotrofnih prokariota (HP), heterotrofnih nanoflagelata (HNF) i cijanobakterija (CB) u sedimentu**

Uzorci sedimenta (2 g) prikupljeni su iz vertikalnih korera (sržnika) u slojevima od 0-2 cm, od 4-6cm i od 8-10 cm. Uzorci su smješteni u plastične tubice volumena 50 ml uz dodatak 30 ml filtrirane morske vode (veličine pora 0,22  $\mu\text{m}$ ) radi razrjeđenja i formaldehida do završne koncentracije od 4% zbog konzerviranja. U laboratoriju uzorcima je dodano Tween 80 (50  $\mu\text{L}$ ) ulje kako bi se pospješilo odvajanje mikroorganizama od čestica sedimenta, nakon toga je uslijedila ultrasonikacija u trajanju od 15 minuta (Epstein i Rossel, 1995). Nakon ultrasonikacije prikupljen je 1 ml supernatanta kojem je dodan 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI boja) do završne koncentracije od 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Nakon 15 minuta uslijedila je filtracija kroz crne polikarbonatne filtere (Whatman, Nuclepore, veličine pora 0,22  $\mu\text{m}$ ) te brojanje skupina mikroorganizama: HP, HNF i CB pomoću epifluorescentnog mikroskopa (Zeiss Axio Imager Z1) uz povećanje 1000x (Porter i Feig, 1980). Rezultat brojanja je izražen kao koncentracija stanica po gramu suhog sedimenta.

### **3.3.4 Sanitarna kvaliteta sedimenta**

Sanitarna kvaliteta sedimenta procijenjena je pomoću bakterijskih fekalnih indikatora. Fekalni koliformi (FC) i fekalni streptokoki (FS) određeni su metodom najvjerojatnijeg broja (eng. „*MPN method*“) (WHO, 1994). Uzorci (5 g) površinskog sloja sedimenta (0-2cm) prikupljeni su i razrijeđeni 10 puta u fosfatnom puferu uz dodatak 0,25 ml ulja Tween 80. Nakon razrjeđenja, uzorci su homogenizirani 3 puta u ultrasoničnoj kupelji u sljedovima po 3 minute. Dodatna razrjeđenja uzoraka napravljena su na isti način uz fosfatni pufer, no bez dodatka Tween 80 ulja.

Kvantifikacija FC napravljena je testiranjem 5 replikata za 3 serije razrjeđenja (10, 1 i 0,1 ml). Svaki je replikat inokuliran u zasebnoj epruveti koja je sadržavala hranjivu podlogu „Lactose broth“ te inkubiran na temperaturi od 35 °C kroz 24 sata. Pozitivne kulture koje su pokazale proizvodnju plina, dalje su analizirane potvrdnim



testom inokulacije na selektivnoj podlozi „MacConkey broth“ i daljnjom inkubacijom na 44,5 °C kroz 24 sata. Pozitivne kulture požutile su u odnosu na početnu blago ljubičastu boju.

Za kvantifikaciju FS-a testiranje je provedeno s replikatima i razrjeđenjima slično onom za FC s razlikom da je prva inokulirana podloga bila „Azide dextrose broth“ na temperaturi inkubacije 35 °C i trajanjem više od 48 sati. Pozitivne kulture karakterizirala je pojava turbiditeta te su dodatno testirane inokulacijom na selektivnoj podlozi „Ethyl violet azide broth“ i inkubirane na 35 °C kroz 24 sata. Pozitivne kulture su pokazale pojavu ljubičastog taloga ili povećanog turbiditeta.

Pozitivna očitavanja na potvrdnim podlogama za FC i FS su zabilježena i uspoređena s MPN indeksom (WHO, 1994) kako bi se dobio najvjerojatniji broj te je koncentracija FC i FS izražena kao MPN/100 g sedimenta.

### **3.3.5 Organska tvar u sedimentu**

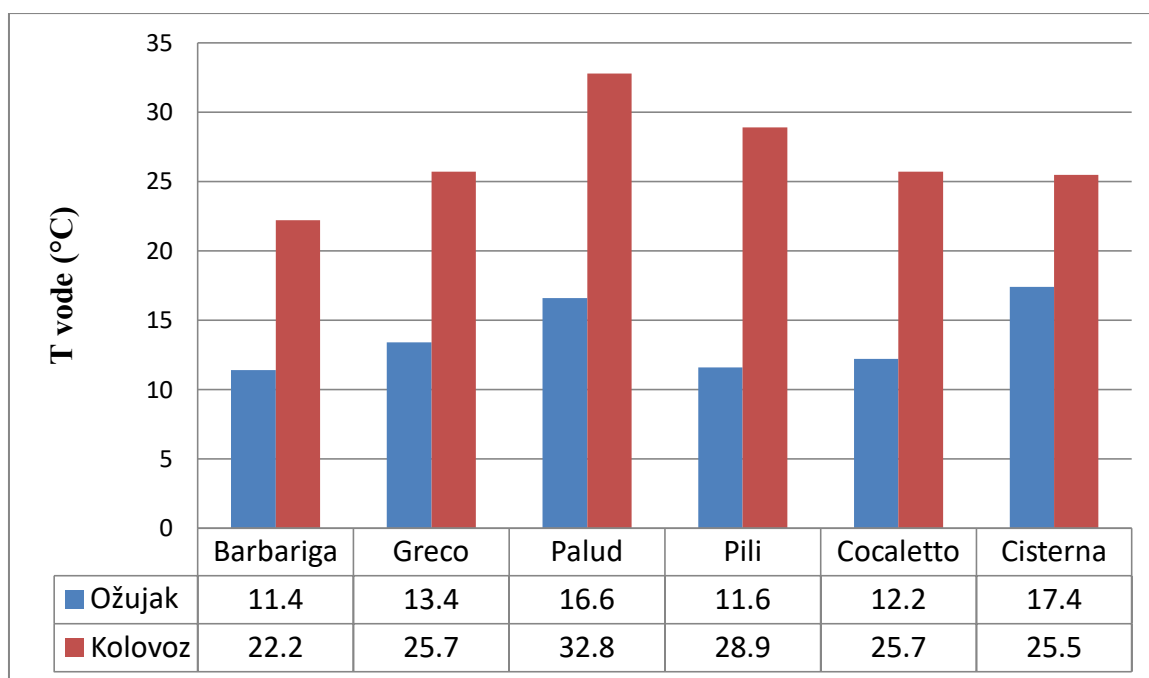
Površinski sloj sedimenta (0-2 cm) prikupljen je korerom. Organska tvar je određena metodom gubitka žarenjem (eng. *Loss of ignition*, LOI). Sediment se najprije osuši u peći na 105 °C, te izvaže kao suhi sediment, nakon toga se žari na 450 °C kroz 8 sati. Vaganje se ponovi i nakon ovog žarenja. Razlika težine prije i poslije žarenja daje organski sadržaj sedimenta.

## 4. Rezultati

### 4.1 Hidrografski uvjeti

#### 4.1.1 Temperatura vode

Prosječna temperatura lokvi u ožujku iznosila je 13,8 °C, prilikom čega je najviša temperatura izmjerena u Cisterni (17,4 °C), a najniža u Barbarigi (11,4 °C). U kolovozu prosječna temperatura svih lokvi je porasla na 26,8 °C, a najviša temperatura zabilježena je u Paludu (32,8 °C), dok je najniža zabilježena u Barbarigi (22,2 °C) (Slika 7).

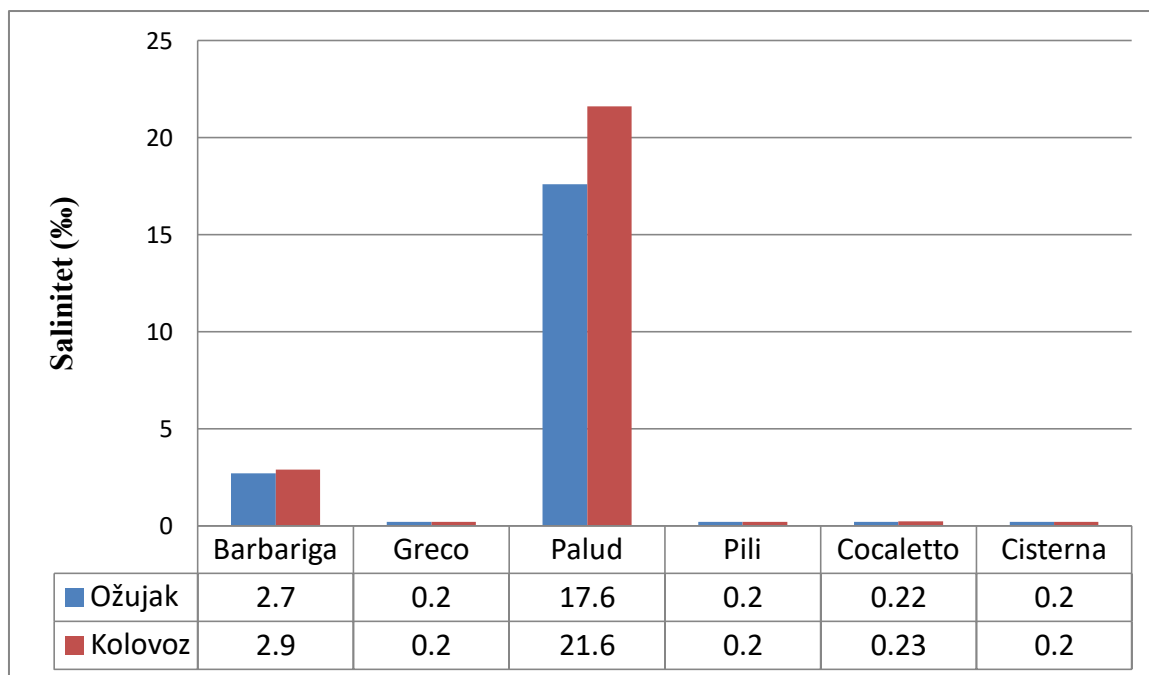


Slika 7. Temperature (°C) na svim lokacijama tijekom ožujka i kolovoza

#### 4.1.2 Salinitet

Salinitet se nije značajno razlikovao tijekom sezona za lokve Cocaletto, Cisterne, Greco i Pili, koje su imali vrijednosti vrlo blizu 0,2 (vrlo niska slanost). Lokva Barbariga imala je veću slanost u usporedbi s prethodno navedenim lokvama, ali relativno sličnu slanost u obje sezone (2,7 zimi i 2,9 ljeti). Močvara Palud, koja ima nekoliko velikih umjetnih i manjih prirodnih veza s morem te je pokazala znatno veći salinitet u odnosu na ostale lokve, a isti se kretao između 17,6 tijekom zime (kada ima više padalina) i 21,6 ljeti. Prosječna vrijednost za zimu bila je 0,21, a za ljeto 0,215 i nije postojala statistički značajna razlika između sezona jer su uspoređivane

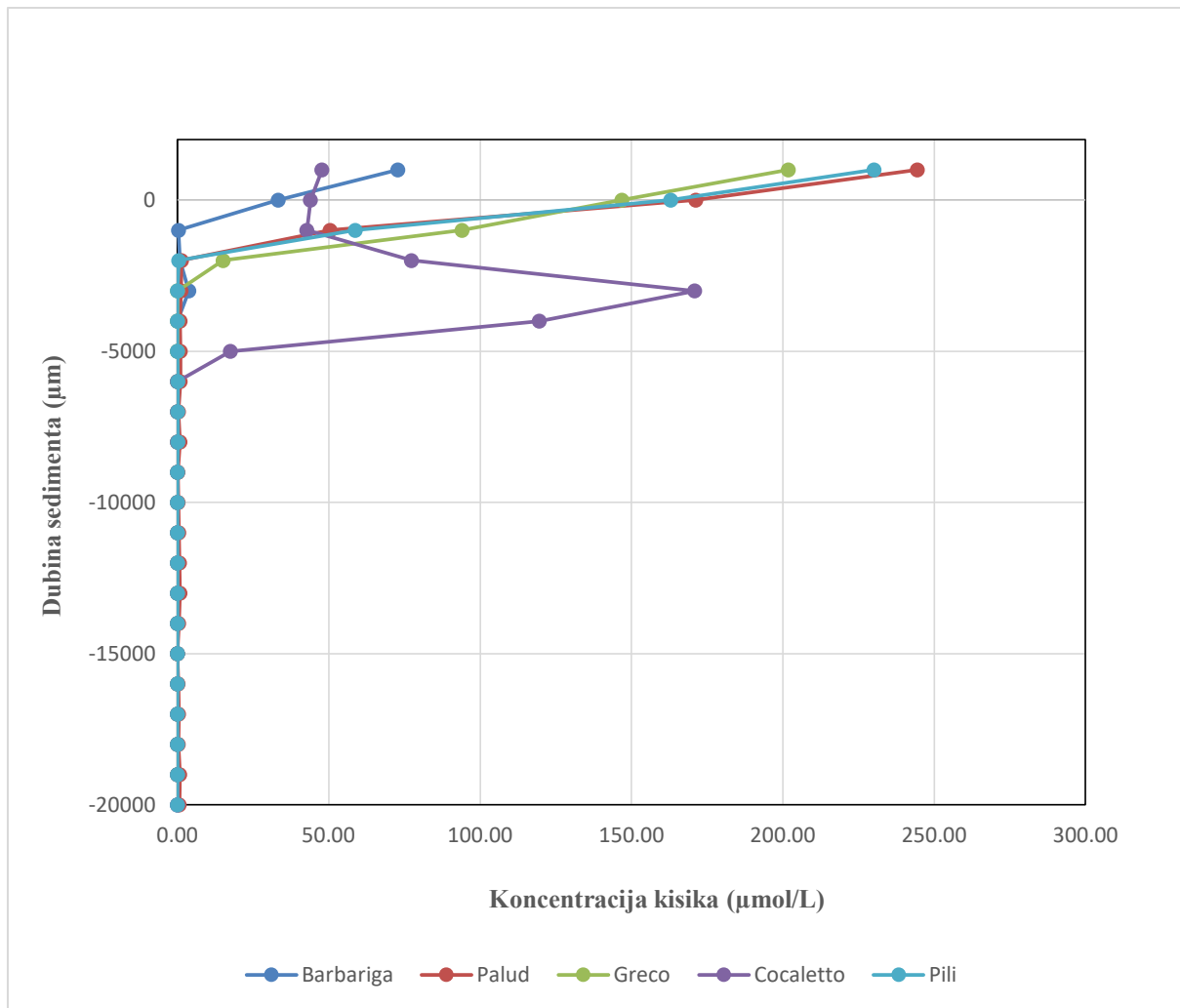
pomoću neparametrijskog Wilcoxon-Mann-Whitneyova testa zbroja rangiranih uzoraka od dva uzorka ( $U = 16,5$ ,  $n$  Zima =  $n$  Ljeto = 6,  $\alpha = 0,05$ ) (Slika 8).



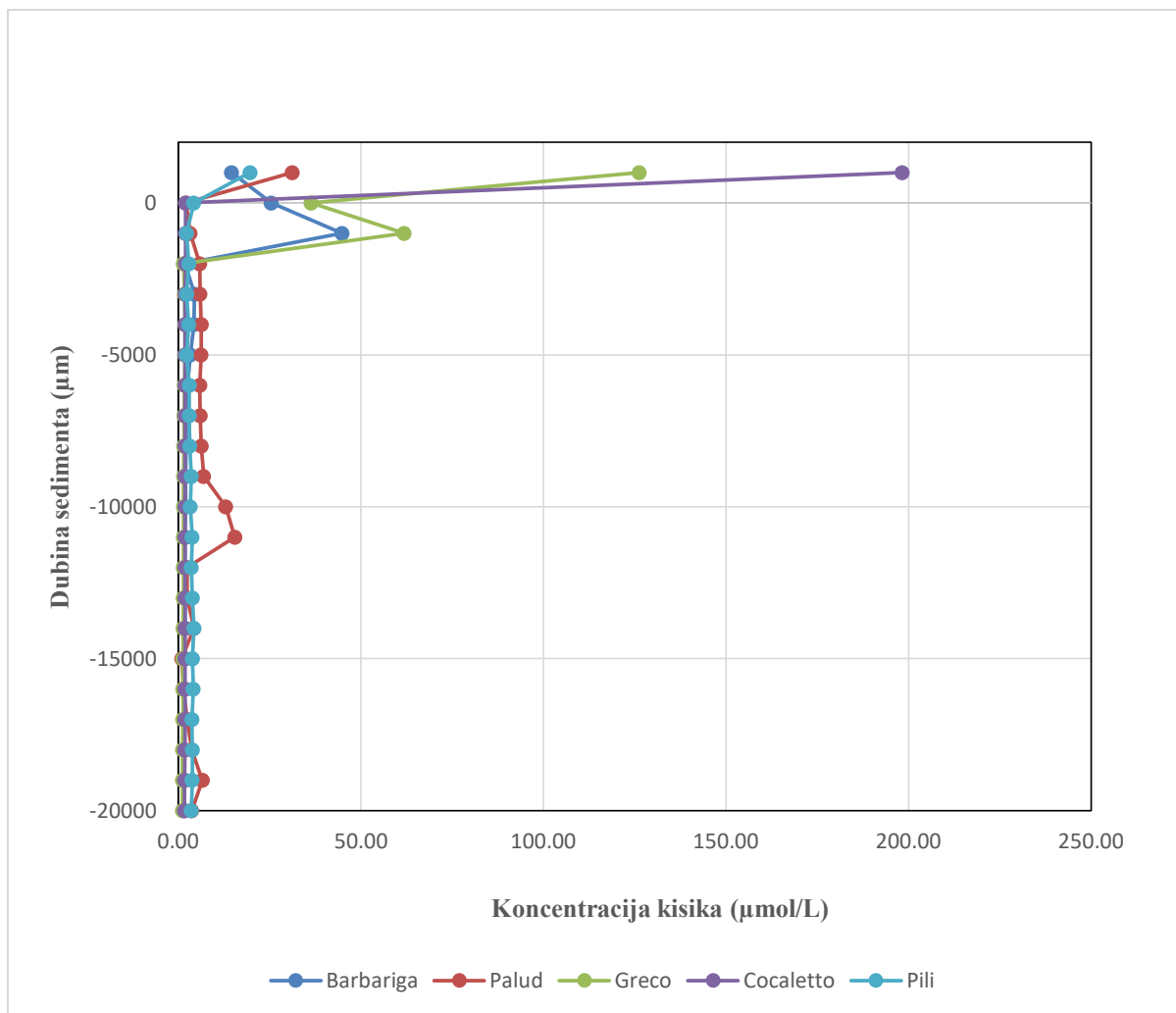
**Slika 8. Salinitet (‰) na svim lokacijama tijekom ožujka i kolovoza**

#### 4.2 Kisik u sedimentu

Koncentracija kisika u nižim slojevima vodenog stupca (1 cm iznad sedimenta) varirala je u širokom rasponu tijekom zime i ljeta (47,72-244,47  $\mu\text{M}$  u ožujku te 14,55-198,28  $\mu\text{M}$  u kolovozu). U prosjeku je viša u hladnijim dijelovima godine. Maksimalna dubina na kojoj je zabilježen kisik ovisi o koncentraciji kisika u nižim slojevima vodenog stupca te je dosta ograničena tijekom oba godišnja doba. Između 2 i 20 mm postaje zanemariva. Ljeti je na svih 6 lokacija zabilježena snažna hipoksija  $\text{O}_2 \leq 62,5 \mu\text{M}$  (Vaquer-Sunyer & Duarte 2008), dok je zimi snažna hipoksija zabilježena samo na površini sedimenta u Barbarigi. Na ostalim lokacijama hipoksija se pojavila nešto dublje (1 mm u Paludu, 2 mm u Greco i Pili te 5 mm u Cocalettu) (Slika 9 i 10).



Slika 9. Koncentracija kisika (µmol/L) po dubini (µm) u ožujku



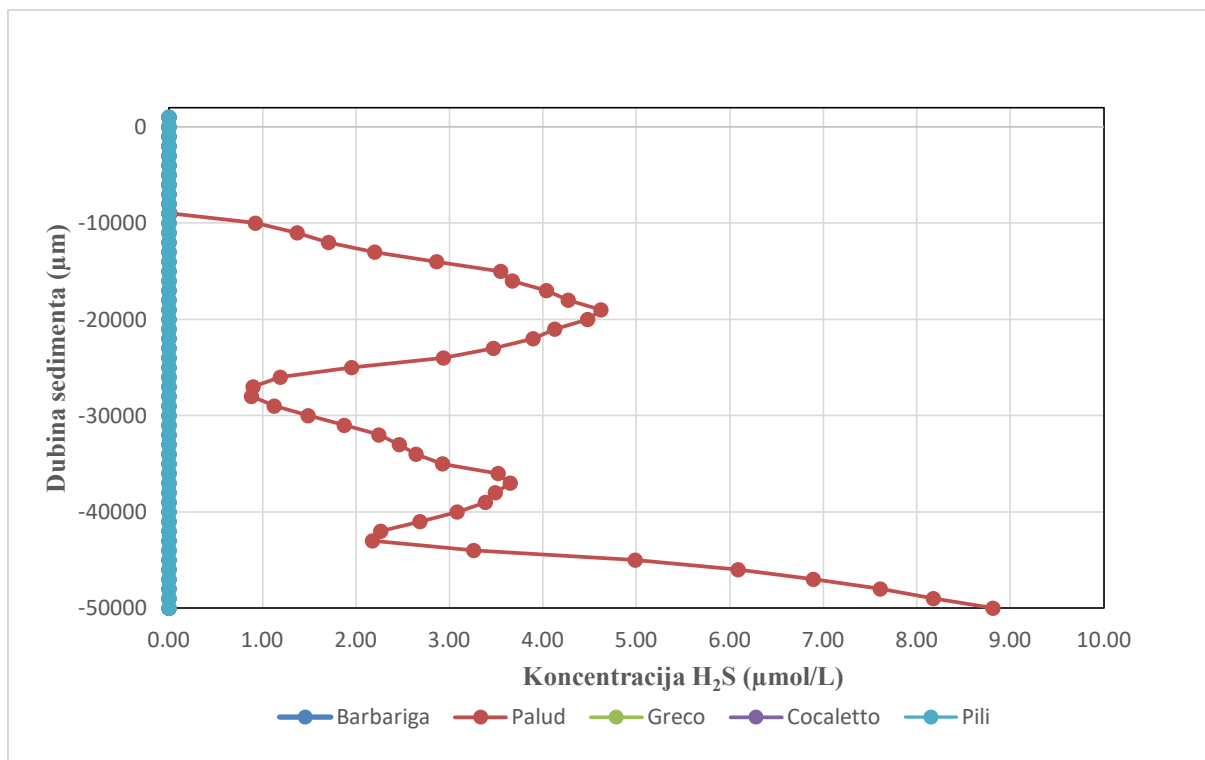
**Slika 10. Koncentracija kisika ( $\mu\text{mol/L}$ ) po dubini ( $\mu\text{m}$ ) u kolovozu**

### 4.3 Organska tvar

Sadržaj organske tvari u sedimentu bio je znatno različit među lokacijama uzorkovanja. Najviši prosječni postotak organskog sadržaja za cijeli sediment zabilježen je u močvari Palud ( $42,6 \pm 6,6\%$ ), a nakon nje su slijedile lokva Cocaletto ( $35,6 \pm 7,5\%$ ) i Greco ( $35,1 \pm 1,3\%$ ). Sedimenti u lokvama Barbariga i Pili bili su karakterizirani znatno manjim udjelima organske tvari (respektivno  $7,7 \pm 0,6\%$  i  $12,6 \pm 1,3\%$ ). Razlika u vertikalnoj distribuciji organske tvari od površine do 10 cm dubine se pokazala statistički neznačajna (two-tailed T test,  $p > 0,05$ ).

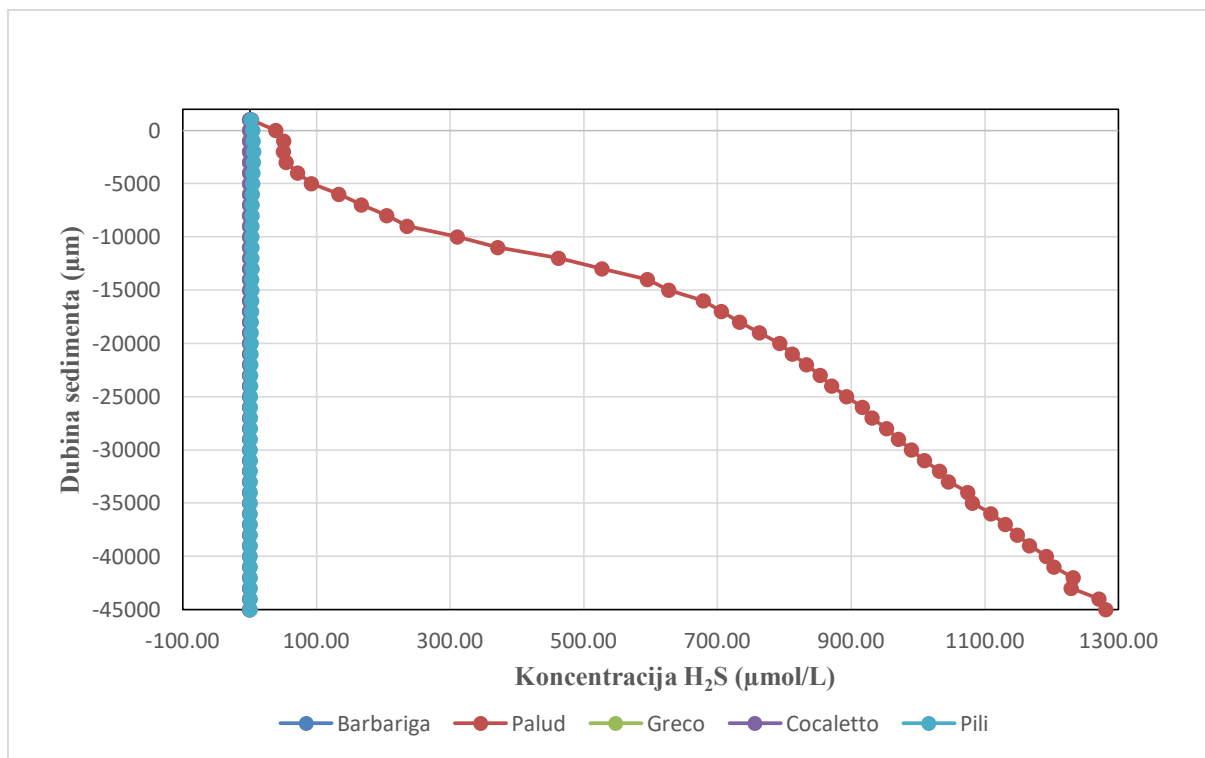
### 4.4 Sumporovodik u sedimentu

U zimskom periodu koncentracija sumporovodika je na svih 5 lokacija izuzev Paluda bila ispod granice detekcije (Slika 11). U Paludu  $\text{H}_2\text{S}$  se pojavio na dubini od 0,9 cm te se njegova koncentracija nepravilno povećavala s dubinom. Značajan skok u koncentraciji je zabilježen na 1,9 cm ( $4,6 \mu\text{M}$ ) i 5 cm ( $8,8 \mu\text{M}$ ).



**Slika 11. Koncentracija sumporovodika ( $\mu\text{mol/L}$ ) po dubini ( $\mu\text{m}$ ) u ožujku**

Ljetni period se razlikovao od zimskog prilikom čega je prisutnost sumporovodika zabilježena na samoj površini sedimenta te kroz cijeli uzorak (Slika 12). Palud je i dalje imao najveću koncentraciju s maksimumom pri 4,5 cm (1281,2  $\mu\text{M}$ ) koja se povećavala s dubinom. Osim Paluda, sumporovodik je zabilježen u tragovima u lokvi Pili s maksimumom na 0,2 cm (6,1  $\mu\text{M}$ ).



**Slika 12. Koncentracija sumporovodika ( $\mu\text{mol/L}$ ) po dubini ( $\mu\text{m}$ ) u kolovozu**

#### 4.5 Redoks potencijal

Redoks potencijal je tijekom zime i ljeta uvijek bio ispod granice oksičnosti ( $E_h \geq 150 \text{ mV}$ ) s prijelazom iz suboksičnih ( $150 \text{ mV} \geq E_h \geq 0 \text{ mV}$ ) u anoksične uvjete ( $E_h \leq 0 \text{ mV}$ ). Tijekom zime kod svih uzoraka su zabilježeni suboksični uvjeti do 1 cm dubine, prilikom čega je redoks potencijal prelazio iz pozitivnog ka negativnom (Tablica 1). Ljeti je cijeli stupac, od površine do zabilježenih 10 cm dubine, pokazivao negativan redoks potencijal te anoksične uvjete (Tablica 2), zbog čega su veće razlike zabilježene zimi nego ljeti. Najveće razlike u redoks potencijalu pokazao je Palud kako u zimskom (+71 mV pri 1 cm te -106 mV pri 10 cm) tako i u ljetnom periodu (-345 mV pri 1 cm te -387 mV pri 10 cm), a najmanje razlike su zabilježene zimi kod lokve Pili (+43 mV pri 1 cm te -106 mV pri 10 cm).

**Tablica 1. Redoks potencijal (Eh) po dubini (cm) u ožujku**

Dubina (cm)	Barbariga (mV)	Greco (mV)	Palud (mV)	Coculetto (mV)	Pili (mV)
1	63	52	71	59	43
2	-39	-36	-20	-28	-13
3	-59	-57	-44	-44	-28
4	-82	-68	-62	-73	-75
5	-171	-81	-81	-92	-82
6	-130	-86	-99	-94	-83
7	-137	-93	-117	-109	-91
8	-128	-90	-133	-117	-97
9	-131	-91	-151	-119	-100
10	-109	-112	-171	-119	-106

**Tablica 2. Redoks potencijal (Eh) po dubini (cm) u kolovozu**

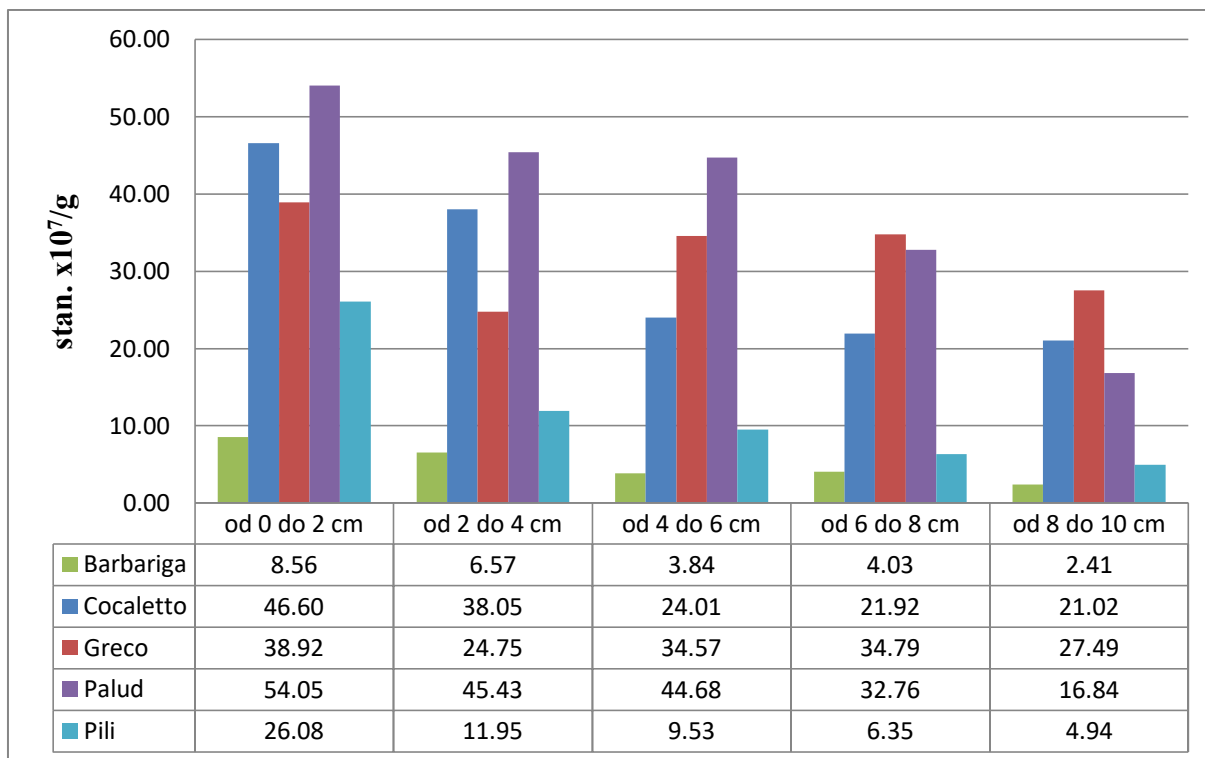
Dubina (cm)	Barbariga (mV)	Greco (mV)	Palud (mV)	Coculetto (mV)	Pili (mV)
1	-115	-128	-345	-102	-132
2	-121	-124	-348	-103	-136
3	-127	-125	-357	-106	-136
4	-127	-136	-360	-111	-140
5	-133	-144	-364	-114	-138
6	-138	-131	-369	-111	-139
7	-111	-136	-373	-117	-133
8	-134	-135	-379	-117	-123
9	-131	-148	-384	-118	-134
10	-131	-145	-387	-118	-143



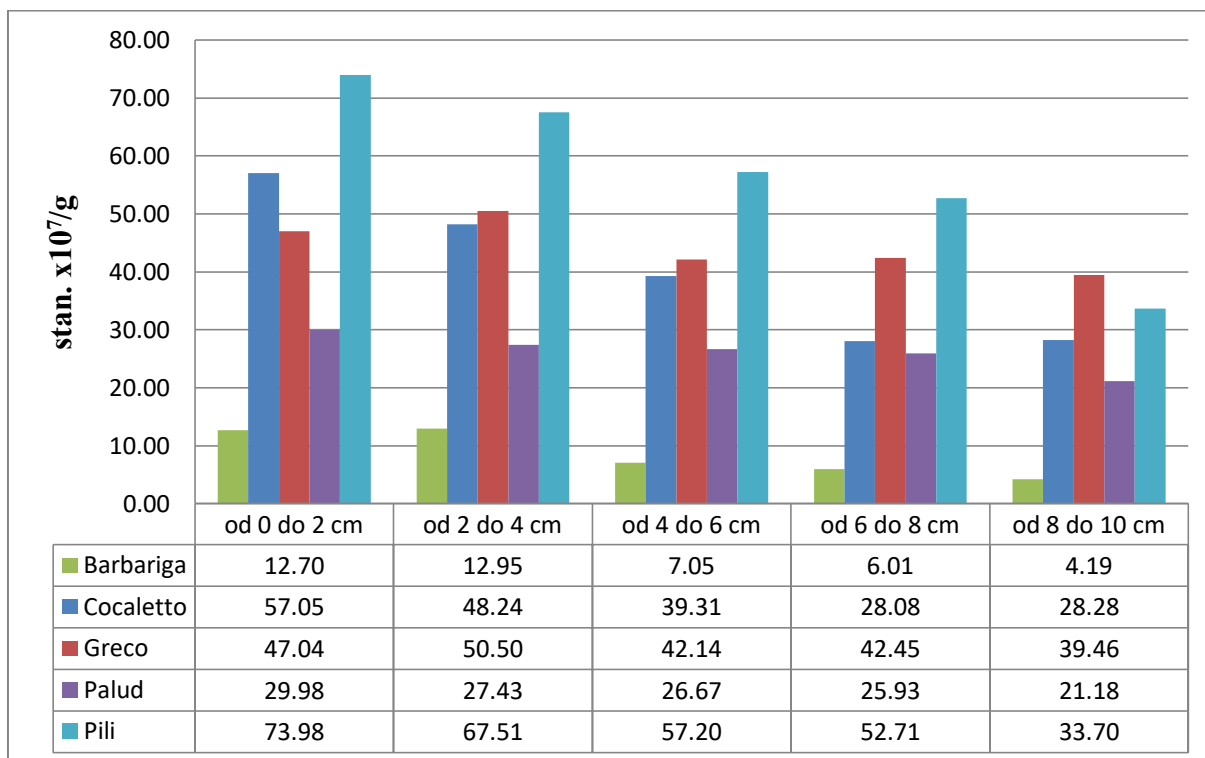
#### 4.6 Heterotrofni prokarioti sedimenta

Brojnost heterotrofnih prokariota bila je veća tijekom ljeta u usporedbi sa zimom (u prosjeku za  $11,66 \times 10^7$  stanica/g). Lokva Barbariga pokazuje najniže srednje vrijednosti u odnosu na ostale lokacije za oba godišnja doba ( $5,08 \times 10^7$  zimi te  $8,58 \times 10^7$  stanica/g ljeti), dok su najviše prosječne vrijednosti zabilježene zimi kod močvare Palud ( $38,75 \times 10^7$  stanica/g) te ljeti kod lokve Pili ( $57,02 \times 10^7$  stanica/g). Nadalje, kod svih lokacija najviše pojedine vrijednosti zabilježene su pri površinskim slojevima (0-2 cm) u rasponu između  $8,56 \times 10^7$  (Barbariga) i  $54,05 \times 10^7$  stanica/g (Palud) u zimskom periodu (Slika 13) te  $12,7 \times 10^7$  (Barbariga) i  $73,98 \times 10^7$  stanica/g (Pili) ljeti (Slika 14). Također, vrijednosti za Palud i Pili predstavljaju i maksimalne zabilježene vrijednosti za ta dva pojedina godišnja doba. Abundancija heterotrofnih prokariota se smanjuje s dubinom te dostiže najniže zabilježene vrijednosti u najdubljim slojevima (8-10 cm). Pri najdubljim slojevima za oba godišnja doba Barbariga posjeduje najniže vrijednosti ( $2,41 \times 10^7$  stanica/g zimi;  $4,19 \times 10^7$  stanica/g ljeti) dok Greco posjeduje najviše vrijednosti ( $27,49 \times 10^7$  stanica/g zimi;  $39,46 \times 10^7$  stanica/g ljeti).

U zimskom periodu jedino lokva Greco odstupa od očekivanog obrasca postepenog smanjivanja brojnosti heterotrofnih prokariota s dubinom, prilikom čega minimalnu vrijednost dostiže između 2 i 4 cm dubine ( $24,75 \times 10^7$  stanica/g). U ljetnom periodu lokva Cocaletto odstupa od navedenog obrasca, postižući minimalnu vrijednost ( $28,08 \times 10^7$  stanica/g) pri dubini između 6 i 8 cm, dok lokve Greco ( $50,50 \times 10^7$  stanica/g) i Barbariga ( $12,95 \times 10^7$  stanica/g) odstupaju postižući svoj maksimum između 2 i 4 cm dubine.



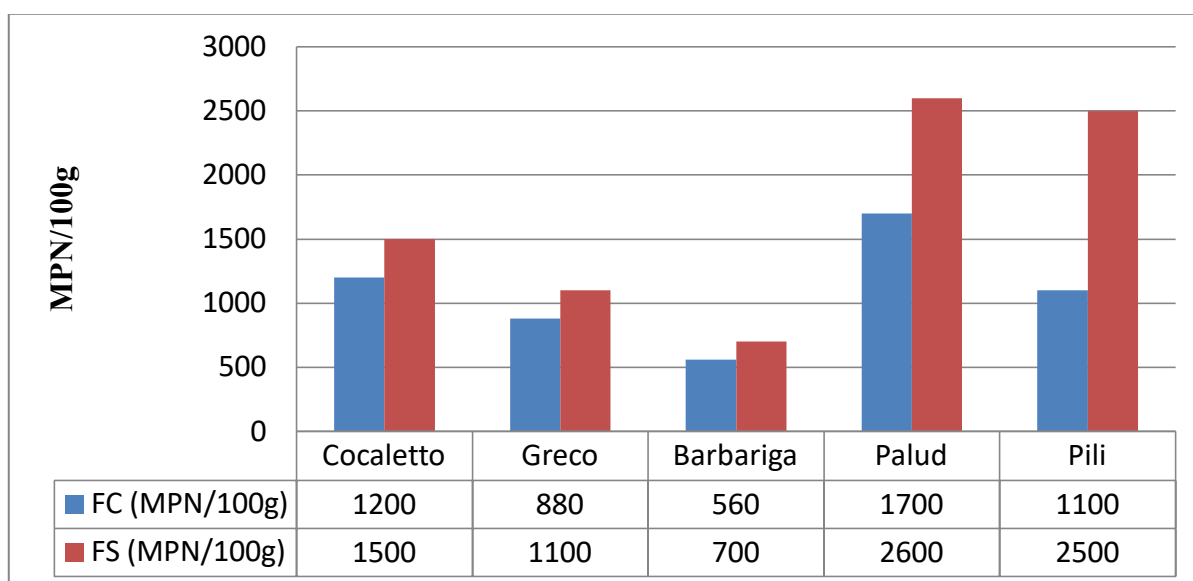
Slika 13. Brojnosti (br. stanica  $\times 10^7/g$ ) heterotrofnih prokariota u ožujku



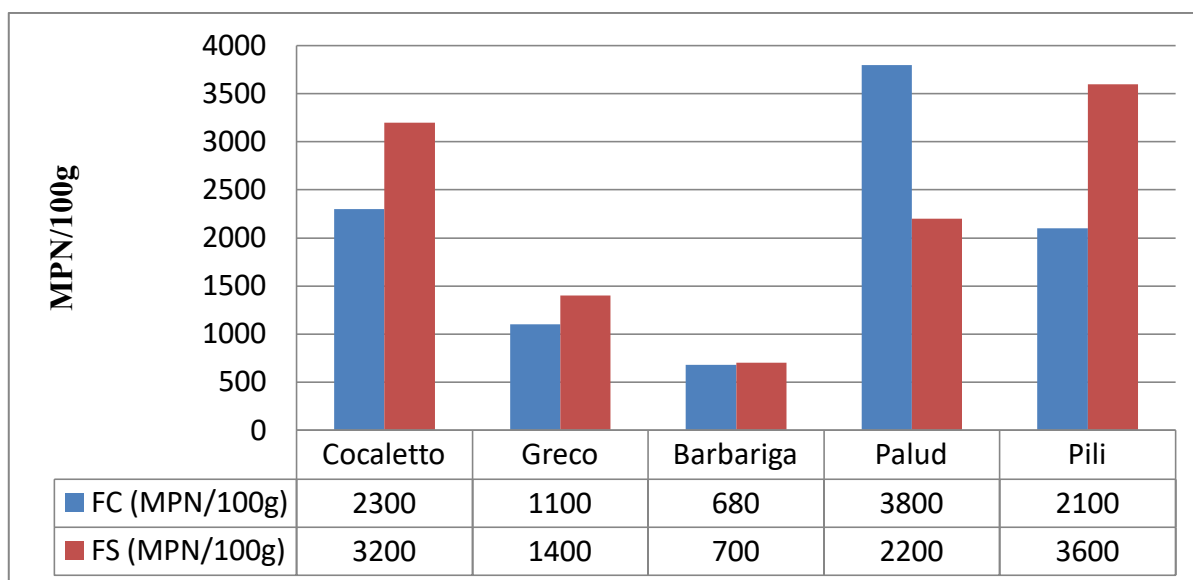
Slika 14. Brojnosti (br. stanica  $\times 10^7/g$ ) heterotrofnih prokariota u kolovozu

#### 4.7 Sanitarna kvaliteta sedimenta

Pri procjeni sanitarne kvalitete sedimenta promatrala se koncentracija fekalnih indikatora: fekalnih koliforma (FC) te fekalnih streptokoka (FS). Koncentracije fekalnih indikatora prate jednaki trend kroz oba godišnja doba (zimu i ljeto). Naime, koncentracija fekalnih koliforma niža je od fekalnih streptokoka, uz iznimku Paluda ljeti (Slika 15 i 16). Lokve Greco i Barbariga zadržavaju sličnu koncentraciju između zime i ljeta, dok se kod drugih lokacija pojavljuju veće razlike. Koncentracija fekalnih koliforma zimi iznosi između 560 (Barbariga) i 1700 MPN/100g (Palud), dok ljeti iznosi između 680 (Barbariga) i 3800 MPN/100g (Palud). Vrijednost fekalnih streptokoka je u prosjeku viša te je iznosila između 700 (Barbariga) i 2600 MPN/100g (Palud), dok je ljeti između 700 (Barbariga) i 3600 MPN/g (Pili).



Slika 15. Koncentracija FC i FS (MPN/100g) u ožujku



**Slika 16. Koncentracija FC i FS (MPN/100g) u kolovozu**

## 5. Diskusija

Važnost lokva može se iščitati iz raznih ekoloških, ekonomskih i društvenih usluga koje one pružaju. One pridonose održivim upravljanjem poljoprivrednih površina kroz kemijske i vodene cikluse, klimatskih uvjeta fiksiranjem ugljika iz atmosfere (Céréghino i sur., 2014) te predstavljaju žarišta bioraznolikosti zbog svoje visoke produktivnosti kako za vodene tako i za kopnene organizme (Baxter i sur., 2005; EPCN, 2008). Nadalje, istraživanja ukazuju na pozitivnu korelaciju između prisutnosti lokvi i zadovoljstva stanovništva s izgledom okoliša urbanih zelenih površina (Ngiam i sur., 2017).

Lokve su istovremeno osjetljivi ekološki sustav koji se može lako narušiti antropogenim aktivnostima. Klimatske promjene predstavljaju opasnost za stalne i privremene lokve koje mogu narušiti hidrološki režim povećanjem temperature i povećanom evaporacijom (Kracauer Hartig i sur., 1997). Veliki broj organizama ovisi o specifičnim hidrološkim ciklusima koji su bitni za njihov razvoj i preživljavanje te čiji metaboliti obogaćuju vodeni okoliš i sediment lokva (Mozley, A., 1944; Miracle i sur., 2010). Nadalje, povećana temperatura zajedno s ispiranjem tla s obradivih površina može pridonijeti štetnoj eutrofikaciji lokvi koja može trajno promijeniti njihov kemijski sastav (Miracle i sur., 2010) i dovesti do hipoksije ili čak anoksije. Takva degradirana područja teško je vratiti u prvobitno stanje zbog slabe reaktivnosti na blage promjene u smanjenju zagađivala, zbog čega su potrebne velike promjene kako bi se sustav vratio u prvobitno stanje (Miracle i sur., 2010).

Sve lokve koje su analizirane u ovom istraživanju, s izuzetkom lokve Greco (koja ima 1,5 metara dubine), spadaju u plitke lokve. Razina vode kod svih uzorkovanih lokacija varira značajno između zime i ljeta, no nije zabilježeno potpuno isušivanje niti jedne lokve u vrućem periodu godine. Razlika u razini vode između zime i ljeta najveća je bila kod lokve Barbariga (20-70 cm). Povrh lokve Barbariga i močvare Palud, sve su lokve zahvaćene u nekoj mjeri antropogenim utjecajem. Lokva Cocaletto je pod snažnim ljudskim utjecajem zbog ispiranja državne ceste i obližnje poljoprivredne površine te zbog utjecaja septičkih jama obližnjeg naselja, dok je lokva Pili pod blago umjerenim utjecajem prvenstveno zbog blizine ceste, poljoprivrednih površina, a tek sekundarno zbog rijetko prisutnih stambenih objekata u okolici. Lokva Greco se nalazi nedaleko od prometnice, no donekle je zaštićena morfologijom svojih rubova od utjecaja ispiranja prometnice te je zaokružene

šumskim područjem koje ublažava utjecaje okolnih poljoprivrednih i stočarskih aktivnosti.

Zabilježene vrijednosti kisika u sedimentu analiziranih lokvi pri dubini između 0 i 5 mm usporedive su s onima eutrofičnih jezera poput jezera Kinneret (prodornost kisika 1,2-1,4 mm) (Sobek i sur., 2009; Koren i Klein, 2000), jezero Zug (0,4-0,6 mm) (Marki i sur., 2009; Sobek i sur., 2009) i mezotrofičnog jezera Wolhen (0,9-7,3 mm) (Sobek i sur., 2009). Istovremeno, koncentracije kisika su dosta niže pri usporedbi s oligotrofnim jezerima poput Brienz (14,9-26,3 mm) (Muller i sur., 2007) ili Baikal (16,3-50 mm) (Martin i sur., 1998; Sobek i sur., 2009).

Koncentracija sumporovodika je zabilježena u značajnoj količini samo u slanoj močvari Palud i mogla se osjetiti kao neugodan miris zraka posebice tijekom ljeta. Njena koncentracija u ljetnom periodu je poprilično visoka i usporediva je s obalnim morskim sedimentima obogaćenih organskom tvari i sumporovodikom (do 1200  $\mu\text{M}$ ) tijekom izumiranja morske cvjetnice *Cymodocea nodosa* (Najdek i sur., 2020), što ukazuje na raspadanje močvarne organske tvari u reduktivnim anoksičnim uvjetima.

Analiza vertikalnih distribucija organske tvari pokazala je malu razliku između površinskih i dubljih slojeva (10 cm) uzorkovanog sedimenta na svim lokacijama. Sediment u svim uzorkovanim korerima bio je saturiran vodom i karakteriziran nižom konzistencijom koja je podsjećala na gustu kašu. Takav sediment je poprilično porozan i olakšava protok intersticijskih voda koje djelomično ujednačavaju uvjete unutar sustava. Osim toga, analizirani sedimenti su bili često pomiješani kopanjem i gaženjem stoke i divljači koje se često opskrbljuju na tim lokacijama. Izmjereni sadržaj organske tvari u sedimentima Paluda može se smatrati ekstremno visokim. Postotci organske tvari u sedimentima lokva Cocaletto i Greco bili su niži i usporedivi s vrijednostima registriranim u tri mala skandinavska, borealna jezera bogata humičnim tvarima i dominirana alohtonim donosom organskog materijala: jezero Lilla ( $21\pm 1\%$ ), Gäddtjärn ( $27.1\pm 1\%$ ) i Svarttjärn ( $31\pm 3\%$ ) (Sobek i sur., 2009). S druge strane, sedimenti lokve Pili i Barbariga imali su sadržaj organske tvari sličniji većim i dubljim jezerima poput jezera Lugano ( $5.1\pm 1.1\%$ ) i jezera Kivu ( $3.8\pm 0.6\%$ ) (Sobek i sur., 2009). Sedimenti lokve Pili i Barbariga imali su također sadržaj organske tvari usporediv s prirodnim močvarnim područjima Floride (13,8%) (Stauffer i Brooks, 1997) i Virginie (2,4-11%) (Whittecar i Daniels, 1999). Općenito, svi su analizirani

sedimenti imali veći udio organske tvari u odnosu na ultra-oligotrofne sustave poput jezera Brienz (0,5-0,6%), oligotrofnog jezera Costance (1,1-1,8%) i Bajkalskog jezera (1,3-3,0%) (Sobek i sur., 2009).

Izmjerene brojnosti bakterija bile su usporedive s onima registriranim u okolišima bogatim organskom tvari poput obalnih morskih sedimenata prekrivenim livadama morske cvjetnice *Cymodocea nodosa* ( $2,1-39,9 \times 10^7$  stanica/g) (Najdek i sur., 2020) te obalnih morskih sedimenata pod utjecajem ispusta prehrambene industrije, npr. tvornice za preradu ribe ( $25 \times 10^7$  stanica/g) (Paliaga i sur., 2019). Nadalje, usporedbom sa slatkovodnim sedimentima uviđa se značajno manja brojnost mikrobne zajednice analiziranih lokvi. Na primjer, brojnost u površinskim slojevima švedskog mezotrofnog akumulacijskog jezera Erken iznosila je  $11 \times 10^{10}$  stanica/g suhog sedimenta, dok je u najdubljim slojevima (25 cm) brojnost dostizala  $11 \times 10^{10}$  stanica/g suhog sedimenta (Haglund i sur., 2003), što je za 3 reda veličine veća u odnosu na istarske lokve. Kao drugi primjer dostupnih literaturnih podataka o mikrobnj zajednici u sedimentima slatkovodnih vodenih tijela može se uzeti u obzir Jezero Windermere u Ujedinjenom Kraljevstvu koje prati sličan obrazac kao jezero Erken, s brojnostima heterotrofnih prokariota u površinskim slojevima zabilježenim u vrijednosti  $10^{12}$  stanica/g suhog sedimenta te  $10^9$  stanica/g suhog sedimenta na dubini od 6 m (Miskin i sur., 1998).

Usporedba koncentracija fekalnih indikatora s dostupnim literaturnim izvorima koji se odnose na morske sedimente zapadne Istre pokazuju da su sedimenti močvare Palud te lokva Cocaletto i Pili imaju relativno visoke koncentracije fekalnih indikatora, usporedive s onima registriranim u onečišćenim područjima. Pogotovo u ljetnom periodu, vrijednosti fekalnih indikatora bile su jako slične najvišim zabilježenim koncentracijama rovinjskih onečišćenih uvala, poput uvale Valdibore koja je kraj ispusta industrijskih voda imala (5.400 FC /100 g; 2.800 FS /100g), na 50 m od ispusta (700 FC /100 g; 2.200 FS /100g) ili kod netretiranog kanalizacijskog ispusta bolničkog naselja: 3.500 FC /100 g i 1.400 FS /100 g (Paliaga, 2015). Obzirom da se Palud nalazi daleko od urbanog dijela grada Rovinj-Rovigno i da na lokaciji nisu prisutni kanalizacijski ispusti ni septičke jame, čimbenik koji može objasniti dobivene visoke koncentracije fekalnih indikatora leži u prisutnosti velikog broja ptica unutar ornitološkog rezervata. Ptice, kao toplokrvne životinje imaju mikrobnu zajednicu probavila koja je slična ljudskoj i svojim izmetom mogu obogatiti

sediment fekalnim bakterijama. Obzirom da je sediment Paluda izuzetno bogat organskim tvarima, stvaraju se uvjeti koji podržavaju bakterijsko preživljavanje te najvjerojatnije i njihovu proliferaciju. Bentos Paluda zbog niske prozirnosti vode zaštićen je od djelovanja sunčevog svjetla koje inače predstavlja glavni čimbenik inaktivacije alohtonih mikroorganizama u moru. Stoga, zbog unosa ptičjeg izmeta, povremenog ispiranja tla u okolici močvare i posebno pogodnih uvjeta vodenog stupca i sedimenta dolazi do akumulacije fekalnih bakterija u sedimentima močvare. Takva akumulacija mogla bi utjecati na kvalitetu voda Paluda u slučaju resuspenzije. Budući da je močvara neatraktivna za kupanje i ostale rekreacije, stupanj rizika da ljudi budu izloženi fekalnim bakterijama iz Paluda je minimalna.



## 6. Zaključci

Sedimenti lokvi i slane močvare zapadne Istre pokazali su se kao kvalitetna arhiva koja kroz godine pohranjuje brojne informacije o ekološkom stanju tih vodenih tijela. Većina lokvi je pokazala prisutnost značajnog sadržaja organske tvari, uglavnom zemljanog porijekla koja je služila kao hranjiva podloga za čitavu mikrobnu zajednicu. Mikrobnu zajednicu je bila najbrojnija u površinskom sloju sedimenta i prilično je brzo opadala s dubinom, najvjerojatnije zbog manjka kisika i zbog odsutnosti labilnih komponenti organskog materijala. Sezonske promjene mikrobnu zajednicu sedimenta bile su povezane s promjenama temperature koja je stimulirala bakterijsku aktivnost i brojnost pri većim vrijednostima. Osim autohtone mikrobnu zajednice, na pojedinim su lokacijama detektirane i značajne koncentracije fekalnih bakterija, koje su bile u nekim slučajevima povezane s blizinom urbanih, poljoprivrednih i cestovnih područja, ali u drugim situacijama su imale potpuno prirodni izvor, tj. ptičji izmet. Općenito, može se zaključiti da je ekološko stanje analiziranih sedimenata umjerene kvalitete, pogotovo kod vodenih tijela u neposrednoj blizini ljudskih naselja. Stoga, potrebno je poduzeti odgovarajuće mjere kako bi se spriječio dodatni unos hranjivih soli, organske tvari ili zagađivala s prometnica, kako bi se stabilnost spomenutih vodenih tijela mogla dugoročno očuvati.

Iako se zadnjih godina sve više pridodaje važnost lokvama, broj poznatih informacija je jako mali u odnosu na ostale vodene ekosustave. Potreban je veći broj znanstvenih istraživanja kako bi se bolje razumjelo stanište raznih lokva te pronašli bolji, efikasniji i uspješniji načini održivog upravljanja i zaštite lokva. Izuzetno je važno oprezno pristupiti problematici upravljanja s osjetljivim ekosustavima kao što su lokve jer je jako teško vratiti u prvobitno stanje takve sustave jednom kad su već degradirani antropogenim učincima. Nadalje, unatoč pokušajima zaštite postoji nedovoljan broj zakona koji se bavi upravljanjem i zaštitom malih vodenih tijela te prostora oko njih. Stoga, uz napore znanstvenog istraživanja stručnog monitoringa i adekvatnog upravljanja potrebni su daljnji koraci u razvijanju zakonodavnih instrumenata kako bi se povećala efikasnost cijele lepeze radnji koje se bave zaštitom ovih vrijednih, ali ugroženih vodenih tijela

## 7. Popis literature

Balbo, A. L., Martínez-Fernández, J., i Esteve-Selma, M.-A. (2017). Mediterranean wetlands: archaeology, ecology, and sustainability. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Water*, 4(6), e1238. doi:10.1002/wat2.1238

Baxter, C. V., Fausch, K. D., i Carl Saunders, W. (2005). Tangled webs: reciprocal flows of invertebrate prey link streams and riparian zones. *Freshwater biology*, 50(2), 201-220. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2004.01328.x>

Bischel-Machung, L., P. P. Brooks, S. S. Yates, i K. L. Hoover. (1996). Soil properties of reference wetlands and wetland creation projects in Pennsylvania. *Wetlands* 16:532–41.

Brönmark, C., i Hansson, L.-A. (2002). Environmental issues in lakes and ponds: current state and perspectives. *Environmental Conservation*, 29(03). doi:10.1017/s0376892902000218

Céréghino, R., Boix, D., Cauchie, HM. i sur. (2014). The ecological role of ponds in a changing world. *Hydrobiologia* 723, 1–6. <https://doi.org/10.1007/s10750-013-1719-y>

EPCN, 2008. The Pond Manifesto. Dostupno na: <http://campus.hesge.ch/epcn/projects.asp>

Epstein, S.S., Rossel, J. Enumeration of sandy sediment bacteria: search for optimal protocol. *Mar Ecol Prog Ser* 1995, 117: 289-298.

Haglund, A-L., Lantz P., Törnblom, E., Tranvik, L. (2003). Depth distribution of active bacteria and bacterial activity in lake sediment, *FEMS Microbiology Ecology*, Volume 46, Issue 1, Pages 31–38.

Koren, N., i Klein M. (2000). Rate of sedimentation in Lake Kinneret, Israel: Spatial and temporal variations. *Earth Surf. Proc. Land*. 25: 895–904.

Kracauer Hartig, E., Grozev, O. i Rosenzweig, C. (1997). CLIMATE CHANGE, AGRICULTURE AND WETLANDS IN EASTERN EUROPE: VULNERABILITY, ADAPTATION AND POLICY. *Climatic Change* 36, 107–121. <https://doi.org/10.1023/A:1005304816660>.

- Marki, M., Muller, B., Dinkel, C., i Wehrli, B. (2009). Mineralization pathways in lake sediments with different oxygen and organic carbon supply. *Limnol. Oceanogr.* 54: 428–438.
- Martin, P., Granina L., Martens K., i Goddeeris B. (1998). Oxygen concentration profiles in sediments of two ancient lakes: Lake Baikal (Siberia, Russia) and Lake Malawi (East Africa). *Hydrobiologia* 367: 163–174.
- Miskin, I., Rhodes, G., Lawlor, K., Saunded, J. R., i Pickup, R. W. (1998). Bacteria in post-glacial freshwater sediments. *Microbiology* 144, 2427-2439
- Miracle, R., Oertli, B., Céréghino, R., i Hull, A. P. (2010). Preface: conservation of european ponds-current knowledge and future needs. *Limnetica*, vol. 29 (n° 1). pp. 1-8. ISSN 0213-8409
- Mozley, A. (1944). Temporary Ponds, a Neglected Natural Resource\*. *Nature*, 154(3911), 490–490. doi:10.1038/154490a0
- Muller, B., Marki, M., Schmid, M., Vologina, E.G., Wehrli, B., Wuest, A. i Sturm, M. (2007). Present and past bio-available phosphorus budget in the ultra-oligotrophic Lake Brienz. *Aquat. Sci.* 69: 227–239.
- Najdek, M., Korlević, M., Paliaga, P., Markovski, M., Ivančić, I., Iveša, L., Felja, I. i Herndl, G.J. (2020). Dynamics of environmental conditions during a decline of a *Cymodocea nodosa* meadow.
- Ngiam, R.W.J., Lim, W.L. i Matilda Collins, C. (2017). A balancing act in urban social-ecology: human appreciation, ponds and dragonflies. *Urban Ecosyst* 20, 743–758. <https://doi.org/10.1007/s11252-016-0635-0>
- Paliaga, P. (2015). Akumulacija i postojanost fekalnoga onečišćenja u rovinjskom priobalju, Disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, citirano: 29.05.2022., <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:488787>
- Paliaga, P., Felja, I., Budiša, A., i Ivančić, I. (2019). The Impact of a Fish Cannery Wastewater Discharge on the Bacterial Community Structure and Sanitary Conditions of Marine Coastal Sediments. *Water* 2019, 11, 2566; doi:10.3390/w11122566.

Pokrajac, A. (2002). Palud - prvi zaštićeni ornitološki park u Istri, Franina i Jurina., str. 45-48.

Porter, K. G., i Feig, Y. S. (1980). The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol Oceanogr*; 25, 943–8.

Radošević, M. (2013). From *Gambusia* Fish to the Paris Green Chemical: How Malaria was overcome in Istria. *Journal of Contemporary History*, issue no. 3 509-530 pp.

Sobek, S., Durisch-Kaiser, E., Zurbrugg, R., Wongfun, N., Wessels, M., Pasche, N., i Wehrli, B. (2009). Organic carbon burial efficiency in lake sediments controlled by oxygen exposure time and sediment source. *Limnol. Oceanogr.*, 54(6), 2243–2254

Song, H., Coggins, L. X., Reichwaldt, E. S., i Ghadouani, A. (2015). The importance of lake sediments as a pathway for microcystin dynamics in shallow eutrophic lakes. *Toxins*, 7(3), 900-918.

Stauffer, A. L., i Brooks, R. P. (1997). Plant and soil responses to salvaged marsh surface and organic matter amendments at a created wetland in central Pennsylvania. *Wetlands*, 17(1), 90–105. doi:10.1007/bf03160721

Vaquer-Sunyer, R., i Duarte, C. M. (2008). Thresholds of hypoxia for marine biodiversity *PNAS* October 7, 105 (40) 15452-15457; doi.org/10.1073/pnas.0803833105

Villeneuve, A., Larroudé, S. i Humbert, J.F. (2011). Herbicide contamination of freshwater ecosystems: impact on microbial communities. *Pesticides-Formulations, effects, fate*, pp.285-312.

Whittecar, G. R., i Daniels, W. L. (1999). Use of hydrogeomorphic concepts to design created wetlands in southeastern Virginia. *Geomorphology* 31:355–71.

WHO (1994). Guidelines for health-related monitoring of coastal recreational and shellfish areas. Part I: General guidelines. Long-term Programme for Pollution Monitoring and Research in the Mediterranean Sea (MED/POL Phase II).

Zacharias, I., Zamparas, M. (2010). Mediterranean temporary ponds. A disappearing ecosystem. *Biodivers Conserv* 19, 3827–3834.

## 8. Popis slika

Slika 1. Lokva Barbariga

Slika 2. Lokva Cisterna

Slika 3. Lokva Cocaletto

Slika 4. Lokva Greco uz mjerenje dubine i prozirnosti vode

Slika 5. Močvara Palud

Slika 6. Lokva Pili

Slika 7. Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ ) na svim lokacijama tijekom ožujka i kolovoza

Slika 8. Salinitet ( $\text{‰}$ ) na svim lokacijama tijekom ožujka i kolovoza

Slika 9. Koncentracija kisika ( $\mu\text{mol/L}$ ) po dubini ( $\mu\text{m}$ ) u ožujku

Slika 10. Koncentracija kisika ( $\mu\text{mol/L}$ ) po dubini ( $\mu\text{m}$ ) u kolovozu

Slika 11. Koncentracija sumporovodika ( $\mu\text{mol/L}$ ) po dubini ( $\mu\text{m}$ ) u ožujku

Slika 12. Koncentracija sumporovodika ( $\mu\text{mol/L}$ ) po dubini ( $\mu\text{m}$ ) u kolovozu

Slika 13. Brojnosti (br. stanica  $\times 10^7/\text{g}$ ) heterotrofnih prokariota u ožujku

Slika 14. Brojnosti (br. stanica  $\times 10^7/\text{g}$ ) heterotrofnih prokariota u kolovozu

Slika 15. Koncentracija FC i FS (MPN/100g) u ožujku

Slika 16. Koncentracija FC i FS (MPN/100g) u kolovozu

## **9. Popis tablica**

Tablica 3. Redoks potencijal (Eh) po dubini u ožujku

Tablica 4. Redoks potencijal (Eh) po dubini u kolovozu

## 10. Sažetak

Istarski poluotok je zahvaljujući svojem reljefu i klimatskim uvjetima od davnina obilježen močvarnim područjima kao i stalnim i privremenim lokvama koje predstavljaju žarišta bioraznolikosti. Sediment močvara i lokvi predstavlja jedan od temeljnih staništa koji bilježi dugoročne uvijete i promjene u takvim sustavima. Stoga, proučavanje mikrobne zajednice u sedimentima, koja je najbrojnija komponenta bentosa lokvi, može doprinijeti boljoj interpretaciji ukupnog ekološkog stanja spomenutih vodenih tijela a uz kvantifikaciju fekalnih bakterija moguće je prepoznati i kvantificirati razinu određenih potencijalnih antropogenih pritisaka za ekosustave i predlaganje daljnjih mjera za zaštitu ovih područja. Istraživanje je provedeno kroz zimu i ljeto na šest različitih lokacija jugozapadne Istre. Brojnost heterotrofnih prokariota u sedimentima određena je pomoću epifluorescentnog mikroskopa dok je sanitarna kvaliteta sedimenta odrađena metodom najvjerojatnijeg broja. Na temelju prikupljenih podataka može se zaključiti da je ekološko stanje analiziranih sedimenta umjerene kvalitete, pogotovo kod vodenih tijela u neposrednoj blizini ljudskih naselja. Dakle, potrebno je poduzeti odgovarajuće mjere kako bi se spriječio dodatni unos hranjivih soli, organske tvari ili zagađivala s prometnica, kako bi se stabilnost spomenutih vodenih tijela mogla dugoročno očuvati.

## **11. Summary**

Thanks to its landscape and climatic conditions, the Istrian peninsula has long been characterized by wetlands as well as permanent and temporary ponds that represent hotspots of biodiversity. The sediment of swamps and ponds represents one of the fundamental habitats which records long-term conditions and changes in such systems. Therefore, the study of the microbial community in sediments, which is the most numerous component of the benthos of ponds, can contribute to a better interpretation of the overall ecological state of the aforementioned water bodies, and with the quantification of fecal bacteria, it is possible to recognize and quantify the level of certain potential anthropogenic pressures on the ecosystems and propose further measures for the protection of these areas. The research was conducted during winter and summer at six different locations in southwestern Istria. The number of heterotrophic prokaryotes in the sediments was determined using an epifluorescence microscope, while the sanitary quality of the sediment was determined using the most probable number method. Based on the collected data, it can be concluded that the ecological condition of the analyzed sediments is of moderate quality, especially in water bodies in the immediate vicinity of human settlements. Thus, it is necessary to take appropriate measures to prevent the additional intake of nutrient salts, organic matter or pollutants from roads, so that the stability of the mentioned water bodies can be preserved in the long term.