

# Mikrobiološka i sanitarna kvaliteta mora u Limskom zaljevu

---

Milovan, Nataly

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:137:952883>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-20**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE JURJA DOBRILE U PULI  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ ZNANOSTI O  
MORU

NATALY MILOVAN

**MIKROBIOLOŠKA I SANITARNA KVALITETA  
MORA U LIMSKOM ZALJEVU**

ZAVRŠNI RAD

Pula, 2022.

SVEUČILIŠTE JURJA DOBRILE U PULI  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJSKOST O MORU

NATALY MILOVAN

**MIKROBIOLOŠKA I SANITARNA KVALITETA MORA U LIMSKOM  
ZALJEVU**

ZAVRŠNI RAD

JMBAG: 0011167935

Status: redoviti student

Kolegij: Sanitarna kontrola mora

Mentor: Doc. dr. sc. Paolo Paliaga

Pula, 2022



## IZJAVA O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, dolje potpisana NATALY MILOVAN, kandidatkinja za prvostupnicu 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 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 iskorišten za koji drugi rad pri bilo kojoj drugoj visokoškolskoj, znanstvenoj ili radnoj ustanovi.

Potpis:

---

U Puli, 12. rujna 2022.



## IZJAVA O KORIŠTENJU AUTORSKOG DJELA

Ja, NATALY MILOVAN dajem odobrenje Sveučilištu Jurja Dobrile u Puli, kao nositelju prava iskorištavanja, da moj Završni rad pod nazivom MIKROBIOLOŠKA I SANITARNA KVALITETA MORA U LIMSKOM ZALJEVU koristi na način da gore navedeno autorsko djelo, kao cjeloviti tekst trajno objavi u javnoj internetskoj bazi 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 s 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, 12. rujna 2022.

Potpis

---

## ZAHVALA

Prije svega se od srca zahvaljujem svom mentoru Doc. dr. sc. Paolu Paliagi na neizmjernej pomoći i uključenosti pri izradi ovog završnog rada. Hvala na svakoj riječi podrške, na svakom savjetu i prenesenom znanju, ne samo tijekom izrade ovog završnog rada već tijekom cijelog studiranja.

Zahvaljujem se Centru za istraživanje mora u Rovinju na ustupljenoj opremi i prostoru koji su bili potrebni za izradu terenskog dijela ovog rada.

Veliko hvala mojim roditeljima i Matiji na podršci i razumijevanju tijekom studiranja.

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA .....	4
2.1. Ciljevi .....	4
2.2. Hipoteze.....	4
3. LITERATURNI PREGLED.....	5
3.1. Sanitarna kakvoća mora .....	5
3.2. Patogeni mikroorganizmi u moru .....	6
3.2.1. Patogene bakterije .....	7
3.2.2. Patogeni virusi.....	10
3.2.3. Patogene gljivice, protisti i drugi paraziti .....	14
3.3. Indikatori sanitarne kakvoće mora .....	15
3.4. Mikrobne zajednice u moru.....	16
4. MATERIJALI I METODE .....	17
4.1. Opis lokacije .....	17
4.2. Lokacije uzorkovanja .....	18
4.3. Uzorkovanje.....	20
4.4. Određivanje hidrografskih parametara.....	20
4.5. Određivanje sanitarne kvalitete.....	21
4.5.1. Postupak .....	21
4.6. Određivanje brojnosti mikrobne zajednice .....	24
5. REZULTATI.....	26
5.1. Hidrografski parametri.....	26
5.1.1. Temperatura.....	26

5.1.2. Salinitet .....	29
5.1.3. Saturacija kisikom .....	33
5.1.4. pH vrijednost .....	37
5.2. Sanitarna kvaliteta .....	41
5.2.1. <i>Escherichia coli</i> .....	41
5.2.2. Fekalni streptokoki .....	45
5.3. Brojnost mikrobne zajednice .....	49
5.3.1. Cijanobakterije .....	49
5.3.2. Heterotrofne bakterije (Heterotrofni prokarioti) .....	53
5.3.3. Heterotrofni nanofalagelati .....	57
6. DISKUSIJA.....	62
7. ZAKLJUČAK.....	66
8. POPIS LITERATURE .....	67
9. POPIS SLIKA .....	71
10. POPIS TABLICA .....	74
11. SAŽETAK.....	75
12. SUMMARY .....	76



## 1. UVOD

Područja estuarija od velikog su ekološkog, estetskog, ekonomskog i kulturološkog značaja. Estuariji spadaju među najproduktivnije i najdinamičnije ekosustave na Zemlji (EPA, 2022; NOAA, 2022). Naziv estuarij proizlazi iz latinske riječi *aestuarium* što u prijevodu znači zaljev, niska obala, te prema definiciji estuarijem smatramo ljevkašti zaljev na ušću rijeke koji se otvara prema moru (Hrvatska enciklopedija, 2021a). Zbog specifičnih uvjeta kao što su miješanja vodenih masa različitog saliniteta i obilja hranjivih tvari prisutnih na tom području, estuariji se smatraju vrlo važnim staništima za mnoge vrste kopnenih i vodenih organizama što ih čini staništima s izrazito visokom biološkom raznolikošću. Uz to, područja estuarija često imaju ulogu u pomorskom prometu i marikulturi, kao i rekreaciji okolnog stanovništva što nerijetko stvara pritisak na ovakva staništa (EPA, 2022; NOAA, 2022). Sastav mikrobne zajednice područja može biti pokazatelj ekološkog stanja određenog staništa i ukazivati na pritiske s kojima se područje susreće. Mikroorganizmi brzo odgovaraju na promjene u okolišu i ključni su u procesima razgradnje organskog materijala, kruženja hranjivih tvari. Stoga, određivanje njihove brojnosti može pružiti važne informacije o samom funkcioniranju sustava i doprinijeti očuvanju vodenih tijela estuarija (Yi i sur., 2020).

Iako se zasebno razlikuju, u Republici Hrvatskoj postoje razni estuariji koji zbog općih karakteristika pripadaju skupini krških estuarija koji se razvijaju uglavnom na karbonatnoj podlozi. Iznimka je Istra gdje u njenom središnjem dijelu dominira fliš od Tršćanskog zaljeva na zapadu do hrpta Učke na istoku, dok na ostalom području dominira karbonatni krš (Benac i sur., 2017; Šafarek, 2022). Specifična pojava u krškim estuarijima su podmorski izvori – vrulje. Vrulje su podmorski izvori u kojima podzemnim krškim kanalima slatka voda pod tlakom izvire na površinu mora. Razlikuju se prema veličini i obliku, a mogu se manifestirati kao povremena ili stalna izbijanja slatke vode na površinu mora. Kod nekih vrulja, slatka voda prolazi kroz mnogo manjih otvora što neće biti jako uočljivo, dok u nekima slatka voda izlazi kroz jedan velik otvor što je izrazito vidljivo na površini mora (Kačan, 2021).

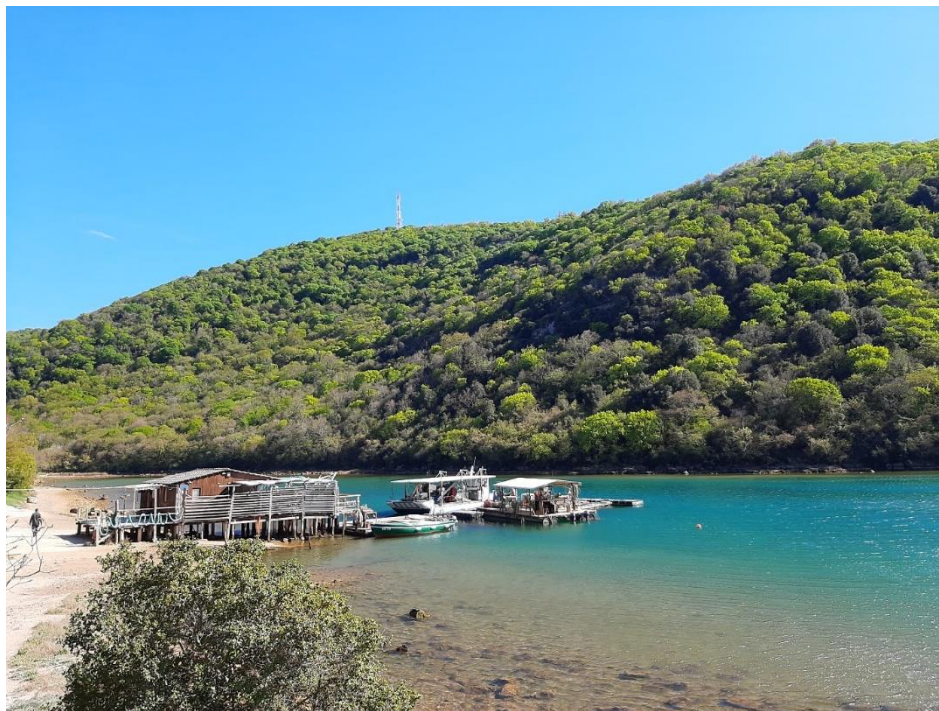
Na zapadnoj obali Istre nalazi se krški estuarij, Limski zaljev, poznat još i pod nazivom Limski kanal (Slika 1). Unutrašnje područje zaljeva pod jakim je utjecajem vrulja, odnosno dotoka podzemnih (slatkih) voda bogatih organskom tvari. Kao takvo, područje Limskog kanala je izrazito biološki produktivno što ga čini drugačijim ekosustavom od onog otvorenog mora. Zbog svojih specifičnih karakteristika, Limski zaljev je 1964. godine zakonom zaštićen kao geomorfološko – hidrogeološki lokalitet u kategoriji značajnih krajolika, a od 1980. godine zaštićen je kao posebni rezervat u moru (Božičević, 2020; Narodne novine, 2005).



Slika 1. Fotografija Limskog zaljeva (Izvor: Vladimir Bugarin, Istarska enciklopedija, 2012)

Osim što svojom ljepotom privlači mnoge strane i domaće posjetitelje, ovo područje ima i gospodarsku ulogu. Priobalne vode Limskog zaljeva pogodne su za uzgoj kamenica i dagnji, te se uzgoj odvija već dugi niz godina, dok se kavezni uzgoj ribe odvijao u središnjem dijelu zaljeva. Na Slici 2. prikazan je objekt u sklopu uzgajališta školjkaša. Također, na obali Limskog kanala, nedaleko od uzgajališta školjkaša nalaze se izgrađeni restorani, te manja luka kao pristanište za manja plovila, najčešće turističke brodice ili barke okolnog stanovništva. S obzirom na položaj luke i izgrađenih

ugostiteljskih objekata nedaleko od uzgajališta školjkaša, kao i dostupnost Limskog kanala kupacima, važno je provoditi sanitarnu i mikrobiološku kontrolu na ovom području.



Slika 2. Objekt i pomoćni objekt za uzgoj školjkaša (Izvor: vlastita fotografija, 2022)

## **2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA**

### **2.1. Ciljevi**

Ovo istraživanje provedeno je s ciljem određivanja stanja sanitarne kvalitete mora i brojnosti autohtone morske mikrobne zajednice Limskog zaljeva kroz četiri sezone.

### **2.2. Hipoteze**

1. Prisutnost vrulja u površinskim vodama Limskog zaljeva značajno utječe na hidrografske uvijete i na brojnost morske mikrobne zajednice.
2. Obalne vrulje u Limskom zaljevu predstavljaju potencijalni izvor fekalnih bakterija.

### 3. LITERATURNI PREGLED

#### 3.1. Sanitarna kakvoća mora

Mikrobiološka ili sanitarna kakvoća mora definira se na temelju stupnja onečišćenja mora gdje se pod pojmom onečišćenje smatra prisustvo patogenih mikroorganizama (Krstulović i Šolić, 2006).

Sanitarna kakvoća mora u Republici Hrvatskoj regulirana je Programom praćenja stanja kakvoće mora za kupanje u Republici Hrvatskoj prema Uredbi o kakvoći mora za kupanje (NN 73/2008) te Direktivom Europske unije o upravljanju kvalitetom vode za kupanje čijim se provedbama kontroliraju granične vrijednosti mikrobioloških parametra i ostalih značajki mora u svrhu postizanja propisanih standardnih vrijednosti kakvoće mora za kupanje s ciljem očuvanja zdravlja kupaca (Narodne Novine, 2008; Ministarstvo gospodarstva i održivog razvoja, 2021). Mikrobiološki parametri koji se prate u moru su crijevni enterokoki i *Escherichia coli*, čije su granične vrijednosti prikazane u Tablici 1., dok su meteorološki uvjeti, temperatura i slanost mora, i vidljivo onečišćenje ostale značajke kakvoće mora (Narodne Novine, 2008). Praćenje kakvoće mora u Republici Hrvatskoj provodi se od 15. svibnja do 30. rujna, a mjesta uzorkovanja određuju se prije početka sezone kupanja od strane županije. Početkom sezone kupanja smatra se 01. lipanj, dok se za kraj sezone smatra 15. rujan (Ministarstvo gospodarstva i održivog razvoja, 2021). Standardi za ocjenu kakvoće mora kao i granične vrijednosti crijevnih enterokoka i bakterije *Escherichia coli* koji se odnose na ukupne podatke na kraju sezone kupanja prikazani su u Tablici 2. (Narodne Novine, 2008).

Tablica 1. Standardi za ocjenu kakvoće mora (\*bik – broj izraslih kolonija)

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

Izvor: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2008\\_06\\_73\\_2426.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2008_06_73_2426.html)

Tablica 2. Standardi za ocjenu kakvoće mora na kraju sezone kupanja (\*bik – broj izraslih kolonija)

Pokazatelj	Izvrсна	Dobra	Zadovoljavajuća	Nezadovoljavajuća
crijevni enterokoki(bik/100 ml)	≤100*	≤200*	≤185**	>185**(2)
<i>Escherichia coli</i> (bik/100 ml)	≤150*	≤300*	≤300**	>300**(2)

(\*) Temeljeno na vrijednosti 95-og percentila(1)

(\*\*)Temeljeno na vrijednosti 90-og percentila (1)

Izvor: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2008\\_06\\_73\\_2426.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2008_06_73_2426.html)

### 3.2. Patogeni mikroorganizmi u moru

Patogeni mikroorganizmi u moru, među kojima spadaju razni sojevi bakterija, virusa, protista, gljivica kao i jajašca višestaničnih parazita uglavnom su alohtonog porijekla. Njihova prisutnost u vodama može izazvati određene bolesti i infekcije kod ljudi ili životinja i zato je vrlo važno monitorirati njihovu brojnost kako bi se očuvalo zdravlje ljudi i ostalih životinja. U more patogeni mikroorganizmi dopijevaju najčešće putem neobrađenih komunalnih otpadnih voda. Osim toga, u vrlo napučenim kupalištima i sami kupači mogu predstaviti izvor patogenih organizama koji mogu širiti bakterijske, gljivične i virusne infekcije. Također, s kopna u more patogeni dopijevaju putem vjetrova i kiše, te balastnim vodama (Krstulović i Šolić, 2006). Dolaskom u morski okoliš patogeni mikroorganizmi šire se turbulencijom vode i difuzijom kroz vodeni stupac, ali i putem vjetrova na površini mora. Mogu biti raspršeni u vodenom stupcu ili vezani za čestice, pričvršćeni na površini raznih organizama ili unutar tijela morskog organizma, te mogu nastaniti sediment. Značajne količine patogena mogu se akumulirati u morskim organizmima, najčešće kroz škрге, posebice kod školjkaša čija se prehrana temelji na filtriranju morske vode (Krstulović i Šolić, 2006; Munn, 2005). S obzirom da su patogeni mikroorganizmi alohtoni u morskom okolišu njihovo preživljavanje u moru nije dugoročno, već se vrijeme preživljavanja procjenjuje od nekoliko sati do nekoliko dana. Razlog tome je kombinirano djelovanje fizikalno – kemijskih (sunčevo zračenje, temperatura, salinitet, pH, utjecaj teških metala i ksenobiotika) i bioloških (predacija parazitizam, utjecaj antibiotika i biotoksina) čimbenika koji izazivaju stres mikroorganizmima i onemogućuju njihov daljnji rast, razvoj i reprodukciju. Važno je napomenuti kako su vrijednosti ovih čimbenika daleko drugačije u moru nego u prirodnom okruženju patogenih mikroorganizama, odnosno u ljudskom organizmu. Iako su mnogi patogeni mikroorganizmi, posebice bakterije, razvili mehanizme za preživljavanje pri dolasku u morski okoliš, na vrijeme preživljavanja uz stresore (prethodno navedene čimbenike) uvelike utječe dostupnost, odnosno nedostatak hranjivih tvari kojemu su patogeni mikroorganizmi izloženi u moru (Krstulović i Šolić, 2006; Sinton, 2005).

### **3.2.1. Patogene bakterije**

Među najzastupljenije skupine patogenih bakterija koje nalazimo u moru spadaju rodovi *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Clostridium*,

*Campylobacter*, *Yersinia*, *Aeromonas*, te *Escherichia coli*, kao i veliki broj streptokoka. Svaki od ovih rodova bakterija izaziva različite bolesti kod ljudi, stoga su u Tablici 3. prikazani rodovi patogenih bakterija s pripadajućim vrstama i bolestima koje izazivaju kod čovjeka (Brettar i sur., 2006; Krstulović i Šolić, 2006; Thompson i sur., 2005).

Tablica 3. Prikaz patogenih bakterija i njihovog štetnog učinka za čovjeka

Rod	Vrsta	Učinak na čovjeka
<i>Aeromonas</i>	<i>A. hydrophilla</i>	Septikemija, dijareja, pneumonia, čirevi i infekcije rana
	<i>A. caviae</i>	Infekcija rana
	<i>A. sorbia</i>	
<i>Campylobacter</i>	<i>C. jejuni</i>	Dijareja i groznica, enteritis
	<i>C. coli</i>	Gastrointestinalne tegobe
	<i>C. faecalis</i>	
<i>Clostridium</i>	<i>C. perfringens</i>	Gastrointestinalne tegobe
	<i>C. botulinum</i>	Botulizam, gastrointestinalne tegobe
<i>Edwardsiella</i>	<i>E. tarda</i>	Gastrointestinalne tegobe, infekcije rana, sepsa
<i>Erysipelothrix</i>	<i>E. rhusiopathiae</i>	Erizipelotrikoza, infekcije kože
<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i>	Dijareja, hemoragični kolitis, hemolitički uremički sindrom
<i>Francisella</i>	<i>F. philomiragia</i>	Pneumonia
<i>Halomonas</i>	<i>H. venusta</i>	Infekcija rana



<i>Klebsiella</i>	<i>K. pneumoniae</i>	Pneumonia, infekcija rana
<i>Legionella</i>	<i>L. bozemanii</i>	Pneumonia
<i>Leptospira</i>	<i>L. interrogans</i>	Leptospiroza
<i>Mycobacterium</i>	<i>M. marinum</i>	Lezija kože - akvarijski granulom
	<i>M. haemophilum</i>	Rane na koži
<i>Photobacterium</i>	<i>P. damsela</i>	Rane na koži, sepsa
<i>Pseudomonas</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Infekcije kože, infekcije rana, infekcija uha
<i>Salmonella</i>	<i>S. typhi</i>	Tifusna i paratifusna groznica, trovanje hranom, gastrointestinalne tegobe, bacilarna dizenterija, dijareja
	<i>S. paratyphi A i B</i>	
	<i>S. enteritidis</i>	
<i>Shewanella</i>	<i>S. putrefaciens</i>	Infekcija rana, sepsa
	<i>S. alga</i>	Sepsa, infekcije uha
<i>Shigella</i>	<i>S. dysenteriae</i>	Dizenterija, gastrointestinalne tegobe
	<i>S. flexneri</i>	Gastrointestinalne tegobe
	<i>S. boydii</i>	
	<i>S. sonnei</i>	
<i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus</i>	Gastrointestinalne tegobe, infekcije rana, infekcije kože, infekcije uha
<i>Streptococcus</i>	<i>S. faecalis</i>	Gastrointestinalne tegobe
	<i>S. faecium</i>	

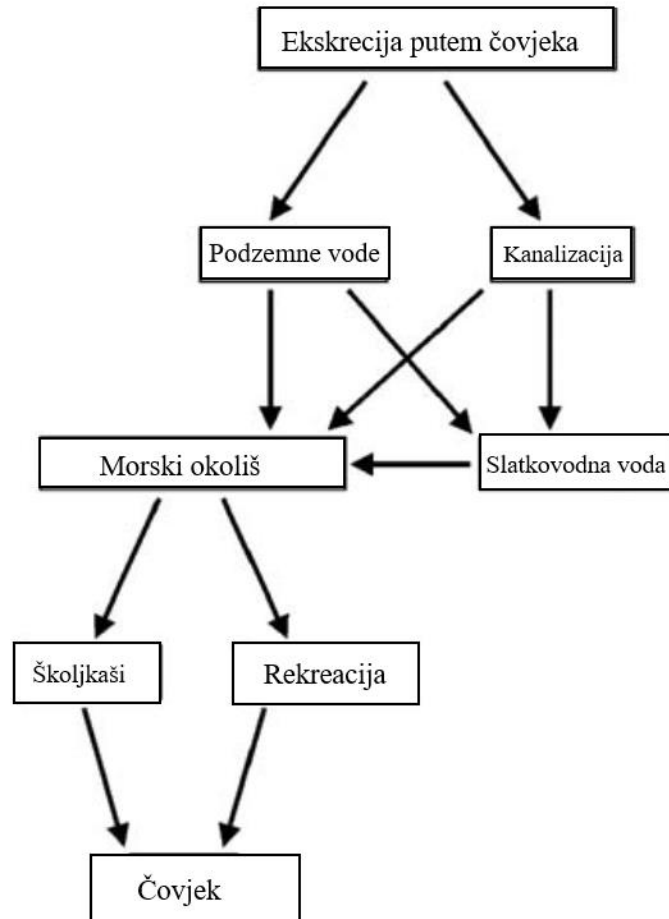
<i>Vibrio</i>	<i>S. bovis</i>	
	<i>S. equinum</i>	
	<i>V. cholerae</i>	Kolera, gastrointestinalne tegobe, sepsa
	<i>V. fluvialis</i>	Gastrointestinalne tegobe
	<i>V. metschnikovii</i>	
	<i>V. parahaemolyticus</i> i <i>V. alginoliticus</i> (autohtone morske)	Infekcije rana, infekcija uha, sepsa, gastrointestinalne tegobe
	<i>V. vulnificus</i>	Infekcije rana, infekcija uha, sepsa, gastrointestinalne tegobe
	<i>V. mimicus</i>	Gastrointestinalne tegobe
	<i>V. hollisae</i>	Gastrointestinalne tegobe, sepsa
	<i>V. furnissii</i>	Gastrointestinalne tegobe
	<i>V. cincinnatiensis</i>	Sepsa
<i>V. carchariae</i>	Infekcije rana	
<i>Yersinia</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	Gastrointestinalne tegobe

Izvor: Izrađeno prema Brettar i sur., 2006; Krstulović i Šolić, 2006; Thompson i sur., 2005.

### 3.2.2. Patogeni virusi

Patogeni virusi najčešće u more dospijevaju putem otpadnih voda na što ukazuje činjenica da su danas poznati patogeni virusi izolirani iz fecesa zaraženih osoba. U odnosu na bakterije, patogeni virusi imaju veću sposobnost opstanka u morskom okolišu, te samim time mogu biti infektivni kroz dulji period. Uz navedeno, patogeni virusi vrlo lako dospijevaju do morskih organizama, posebice školjkaša, zbog njihove brze adsorpcije na partikulatnu tvar i stoga predstavljaju visoki rizik za čovjeka (Bosch i sur. 2005; Krstulović i Šolić, 2006). U Tablici 4. prikazani su patogeni virusi s

bolestima koje uzrokuju, dok Slika 3. shematski prikazuje puteve prijenosa enterovirusa koji kontaminiraju morski okoliš.



Slika 3. Shematski prikaz puteva enterovirusa kroz morski okoliš (Izvor : Prilagođeno prema Bosch i sur., 2005)

Tablica 4. Prikaz patogenih virusa i njihovog štetnog učinka za čovjeka

Porodica	Rod	Tip virusa	Učinak na čovjeka
Adenoviridae	<i>Mastadenovirus</i>	Humani Adenovirus	Respiratorne bolesti, gastroenteritis, infekcije očiju
Astroviridae	<i>Mamastrovirus</i>		Gastroenteritis

		Humani Astrovirus	
Calciviridae	<i>Calcivirus</i>	Humani Calcivirus	Gastroenteritis
	<i>Norovirus</i>	Norwalk virus	Gastroenteritis
	<i>Sappovirus</i>	Sapporo virus	Gastroenteritis
Coronaviridae	<i>Coronavirus</i>	Humani Coronavirus	Gastroenteritis, enterokolitis, respiratorne bolesi
Hepeviridae	<i>Orthohepevirus</i>	Hepatitis E virus	Infektivni hepatitis
Parvoviridae	<i>Parvovirus</i>	Humani Parvovirus	Gastroenteritis
Picornaviridae	<i>Enterovirus</i>	Poliovirus	Paraliza, meningitis, groznica, poliomyelitis
		Coxsackie A virus	Herpangina, respiratorne bolesi, meningitis, groznica
		Coxsackie B virus	Miokardija, kongenitalna srčana anomalija, groznica, meningitis, respiratorne bolesi, pleurodinia
		Ehovirus	Meningitis, respiratorne bolesi, akutni hemoragični konjuktivitis, groznica
		Enterovirus 68-71	Meningitis, encephalitis, groznica, respiratorne bolesi, akutni hemoragični konjuktivitis

	<i>Hepatovirus</i>	Hepatitis A virus	Virusni hepatitis A
Reoviridae	<i>Reovirus</i>	Humani Reovirus	Nije utvrđeno
	<i>Rotavirus</i>	Humani Rotavirus	Gastroenteritis
Toroviridae	<i>Torovirus</i>	Humani Torovirus	Gastroenteritis

Izvor: Izrađeno prema Bosch i sur., 2005.; Krstulović i Šolić, 2006.

### 3.2.3. Patogene gljivice, protisti i drugi paraziti

Gljivice kod čovjeka izazivaju površinske ili potkožne mikoze. Najučestalija vrsta koja je patogena za čovjeka je *Candida albicans*, međutim infekcije izazvane *C. albicans* povezuju se s pjeskovitim plažama, a ne vodenim stupcem. U morskom okolišu se također nalaze vrste rodova *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* koje pokazuju slabu patogenost za čovjeka, dok su vrste rodova *Mucor*, *Rhizopus* i *Fusarium* pokazale veću stopu patogenosti za čovjeka (Krstulović i Šolić, 2006).

Protisti koji predstavljaju rizik za zdravlje čovjeka, a mogu se nalaziti u otpadnim vodama fekalnog porijekla su vrste *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* i *Balantidium coli* te vrste roda *Naegleria* (Krstulović i Šolić, 2006).

Životinjski paraziti koji dospijevaju u morski okoliš mogu biti opasni po zdravlje čovjeka ukoliko se čovjek kupava u onečišćenom moru i konzumira jedno jajašce parazita, odnosno oblika lat. *Nematoda*. Jajašca pripadnika rodova *Ascaris*, *Toxoplasma*, *Oxyuris* i *Trichurus* mogu preživjeti do nekoliko mjeseci u morskoj vodi, te biti rizik za zdravlje čovjeka (Krstulović i Šolić, 2006).

### 3.3. Indikatori sanitarne kakvoće mora

Indikatorski mikroorganizmi odnosno indikatori sanitarne kakvoće mora su organizmi koji su u moru uvijek prisutni kada su prisutni patogeni i to u koncentraciji proporcionalnoj koncentraciji patogena. Također, indikatorski organizmi moraju biti prisutni i određivi u svim tipovima onečišćenih medija, ali se pri tom ne smiju razmnožavati u tom mediju (voda, sediment, drugi organizmi). Uz to, vrijeme preživljavanja indikatorskih organizama mora biti onoliko koliko preživljava i najrezistentniji patogen, međutim indikatorski organizam ne smije biti patogen za čovjeka te se može brzo, lako, jeftino i precizno kvantitativno odrediti u morskom okolišu (Krstulović i Šolić, 2006).

Prema Krstulović i Šolić (2006) kao indikatori fekalnog onečišćenja morskog okoliša se koriste tri skupine bakterija: Ukupni koliformi (UK), Fekalni koliformi (FK) gdje spada i *Escherichia coli* i Fekalni streptokoki (FS) odnosno crijevni enterokoki, dok je Uredbom o kakvoći mora za kupanje propisano praćenje dvaju mikrobioloških pokazatelja, crijevnih enterokoka (fekalnih streptokoka) i *E. coli*.

Omjer FK:FS u uzorku može se koristiti kao pokazatelj porijekla fekalnog onečišćenja. Ukoliko je omjer FK:FS manji od vrijednosti 0.7 onečišćenje je životinjskog porijekla, dok omjer veći od 4.0 ukazuje na onečišćenje ljudskim fekalnim otpadom. Međutim, omjeri vrijede isključivo za svježi fekalni otpad, ne stariji od 24 sata (Krstulović i Šolić, 2006).

### 3.4. Mikrobne zajednice u moru

Pripadnici mikrobne zajednice su izrazito bitna komponenta morskog ekosustava jer sudjeluju u svim trofičkim procesima u moru. Veliki dio ukupne planktonske biomase u morima čine bakterije i njihovi protistički predatori, stoga su u ovom radu promatrane tri vrlo važne skupine, a to su cijanobakterije (CB), heterotrofne bakterije (HB) i heterotrofni nanoflagelati (HNF). Cijanobakterije pripadaju skupini fototrofnih, oksičnih prokariota koje sudjeluju u procesu fotosinteze i fiksacije dušika. Obuhvaćaju skupine kokoidnih i nitastih – filamentnih prokariota, a karakteriziraju ih tri morfološka oblika: štapići i koki, filamenti i filamenti s heterocistama. Heterotrofne bakterije dijelom su bakterioplanktona, pripadaju skupini pikoplanktona, te imaju sposobnost kemotaksije, odnosno sposobnost da osjete organsku tvar koju konzumiraju i potom ju ugrađuju u svoju biomasu. U morskom okolišu se kreću prema području s visokom koncentracijom otopljene hranjive tvari poput fekalnih peleta, područja bogata polisaharidima te područjima mikroalgi (fitoplankton) jer mogu osjetiti, putem kemotaksije, gradijent organske tvari, odnosno metabolita koje fitoplanktonske stanice izlučuju. U mikrobnim zajednicama predacija je jedan od glavnih odnosa među mikroorganizmima. Organizmi kao što su cijanobakterije i heterotrofne bakterije predstavljaju plijen, dok su heterotrofni nanoflagelati predatori, iako i oni služe kao plijen cilijatima. Heterotrofni nanoflagelati pripadaju skupini heterotrofnih protista (zooplankton). Ova skupina obuhvaća veliki broj flagelatnih stanica koje nemaju kloroplaste, međutim postoje i podskupine koje su miksotrofi, odnosno imaju sposobnost provođenja fotosinteze, ali i unosa i probave plijena, najčešće bakterija. Mogu se hraniti filtracijom ili hvatanjem plijena, s time da će se heterotrofni nanoflagelati koji hvataju plijen, hraniti s većim bakterijskim stanicama poput bakterija koje služe kao indikatori sanitarne kakvoće mora. U sjevernom Jadranu, stopa kojom se hrane iznosi 85 bakterija po HNF u jednom satu, što ih čini najznačajnijim bakterijskim predatorima i time direktno utječu na brojnost bakterijske populacije (Krstulović i Šolić, 2006).



## 4. MATERIJALI I METODE

### 4.1. Opis lokacije

Limski zaljev nalazi se na zapadnoj obali Istre, smješten između grada Rovinj i općine Vrsar, te s kopnenim dijelom čini dio doline Limske drage. Geološki gledano, Limski zaljev je rijas nastao potapanjem ušća rijeke Pazinčice (Božičević, 2020; Hrvatska enciklopedija, 2021). Prije više od 2,6 milijuna godina, jedina istarska ponornica, rijeka Pazinčica tekla je površinom današnjeg teritorija Limske drage i utjecala u more na području današnjeg Limskog zaljeva. Na prijelazu pliocena u pleistocen izdizanjem kopna na karbonatnom području Istre dominacijom vertikalne cirkulacije podzemne vode započinje jak proces okršavanja što uzrokuje poniranje površinskih tokova formirajući krške reljefne oblike poput ponora, dolina (draga) i ponikva. Također, holocenskim zatopljenjem porasla je razina mora za oko 100 m te su potopljena mnoga riječna ušća i obalna područja. Uz podizanje razine mora, složeni geološki procesi uzrokovali su poniranje površinskog toka Pazinčice, a njezino je ušće potopljeno. Tada je nastala potopljena riječna dolina (rijas) Limski zaljev, a kao ostatak korita Pazinčice ističe se Limska draga. Limski zaljev primjer je potopljene kanjonske doline u kršu, te pripada slivu južne Istre. Iako površinskih tokova koji utječu u zaljev nema, ovaj zaljev ima nekoliko podzemnih tokova povezanih s područjem središnje Istre te rijekom Mirnom, s propusnosti od 10 do 100 L/s što je popraćeno nižim salinitetom posebice u priobalnom području. Također, na varijacije saliniteta znatno utječu mnogi pomorski izvori – vrulje, koji su zabilježeni u zaljevu. Dublji dijelovi zaljeva imaju karakteristike otvorenog mora što ukazuje kako u zaljevu salinitet varira s dubinom, ali su varijacije povezane i s godišnjim dobima (Paljar i sur., 2017). Dužina samog zaljeva iznosi 12,8 km no uz kopneni dio Limske drage sveukupna dužina iznosi 35 km, dok širina zaljeva na samom ulazu u zaljev iznosi 850 m na potezu rt Fujaga i rt Sv. Feliks, te se prema unutrašnjosti sužava prema 600 m te sve do 200 m pri kraju zaljeva, odnosno obalnom dijelu. Zaljev je najdublji na ulazu gdje je dubina 33 m, dok se dubina unutarnjeg dijela zaljeva postepeno smanjuje prema 0 m na obali, iako se nedaleko od ulaza u zaljev nalazi dio izrazito plitkog područja, dubine od oko 3 m (Božičević, 2020; Paljar i sur., 2017). Obala duž zaljeva je kamenita i strma, te vegetacija prodire vrlo blizu razine mora što indicira na slabi utjecaj valova (Paljar i sur., 2017). Prema Köppenovoj

klasifikaciji šire područje zaljeva pripada mediteranskoj klimi, tip „Cfsax“ (Narodne Novine, 2005; Paljar i sur., 2017) te se na ovom području može vidjeti jak klimatski utjecaj kopna i Alpa, no znatan je i utjecaj mora. Također, duž kopnenog dijela zaljeva prevladava smeđe tlo uz kamenjar i crvenicu, dok vegetacija kopnenog dijela zaljeva pripada mediteranskoj šumskoj regiji s zajednicama hrasta crnike i listopadne vegetacije hrasta medunca i bijelog graba što ukazuje kako se ovo područje nalazi na granici submediteranske i eumediteranske zone. Karakterističan sediment u zaljevu čini mulj što pogoduje organizmima poput školjkaša, mnogočetinaša i meiofaune. Također, u moru je smanjena prozirnost čime se može naslutiti veliko bogatstvo planktona (Paljar i sur., 2017).

## **4.2. Lokacije uzorkovanja**

Uzorkovanje je obavljeno u najistočnijem, najrastvorenijem i najplićem dijelu zaljeva u kojemu je prisutna najveća koncentracija vrulja. Uzorci su uzeti na 6 postaja, čije su točne lokacije prikazane na Slici 4.



Slika 4. Mapa s postajama uzorkovanja (Izvor: prilagođeno s mape Bioportala, <https://www.bioportal.hr/gis/> , 2022)

Postaja L1 nalazi se uz strme kamenite stijene, od oko 100 m udaljenosti od restorana Fjord, gdje je uočeno izviranje vode ispod površine mora kroz pukotine u stijenama. Postaja L2 smještena ispred restorana Fjord, a uzorci su uzeti neposredno uz kanal za ispust oborinskih voda u more. Postaja L3 nalazi se na šljunkovito - kamenitoj plaži smještenoj u luci nedaleko od privezanih brodica, otprilike 100 m udaljena od postaje L2. Na samom kraju zaljeva nalazi se postaja L4 gdje je uzorak uzet nekoliko metara od obale u plićaku na muljevitom tipu sedimenta. Postaju L5 čini betonskim zidicom odijeljen bazen gdje je vidljiv dotok vode u pregrađeni dio bazena, a nalazi se s Rovinjske strane zaljeva. Razina mora i razina vode u bazenu su jednake, te je uzorak uzet iz područja odijeljenog bazena. Posljednja lokacija uzorkovanja bila je na postaji L6 gdje je obala bila strma i kamenita s muljevitim sedimentom. Uzorak je uzet nekoliko metara od obale.

### **4.3. Uzorkovanje**

Uzorkovanje morske vode odvijalo se 4 puta godišnje, jedno uzorkovanje svake postaje u jednom godišnjem dobu kako bi se pratila sezonska dinamika. Prvo uzorkovanje je odrađeno u proljeće 2021. godine što se nastavilo tokom ljetne sezone 2021. godine, te u jesen 2022. godine zaključno s uzorkovanjem u zimi 2022. godine. Uzorci su uzeti sukladno propisanom postupku prema Uredbi o kakvoći vode za kupanje (NN 73/2008). U uzorkovanju je korišteno 6 staklenih boca (po jedna za svaku postaju), volumena 500 mL, prethodno sterilizirane suhom sterilizacijom na 150 °C, 3 sata. Uzorci su uzeti direktnim uranjanjem boce na dubinu od 30 cm ispod površine vode, te su boce potom obilježene pripadajućom oznakom postaje. Kako bi se spriječio negativan utjecaj svjetla i temperature na mikroorganizme, uzorci su transportirani u prijenosnom hladnjaku do Centra za istraživanje mora u Rovinju gdje je obavljena daljnja analiza uzoraka unutar dva sata od uzorkovanja. Također, po dolasku u Rovinj, iz prethodno prikupljenih uzoraka izdvojeno je po 20 mL od svakog uzorka te zasebno dodano u polietilenske bočice gdje su se uzorci pomoću pipete fiksirali uz dodatak 1 mL 36% formaldehida. Fiksirani uzorci su pohranjeni u hladnjak na temperaturi od 4°C do određivanja brojnosti mikrobne zajednice.

### **4.4. Određivanje hidrografskih parametara**

U ovom istraživanju, na svakoj postaji izvršeno je mjerenje hidrografskih parametara - temperature, saliniteta, saturacije kisikom i pH mora. Mjerenje je odrađeno *in situ*, pomoću prijenosne sonde HI98194 Hanna instruments, prikazane na Slici 5.



Slika 5. Sonda za određivanje hidrografskih parametara (Izvor: vlastita fotografija, 2022)

## 4.5. Određivanje sanitarne kvalitete

Analizirani parametri za sanitarnu kakvoću (kvalitetu) mora biti su fekalni koliformi (FK) i fekalni streptokoki (FS), te *E. coli* koja je promatrana zasebno iako pripada skupini fekalnih koliforma. Prema Uredbi o kakvoći mora za kupanje (NN 73/2008) za određivanje sanitarne kakvoće mora korištena je Metoda membranske filtracije (ISO 7899-2:2000; ISO 9308-1:2014).

### 4.5.1. Postupak

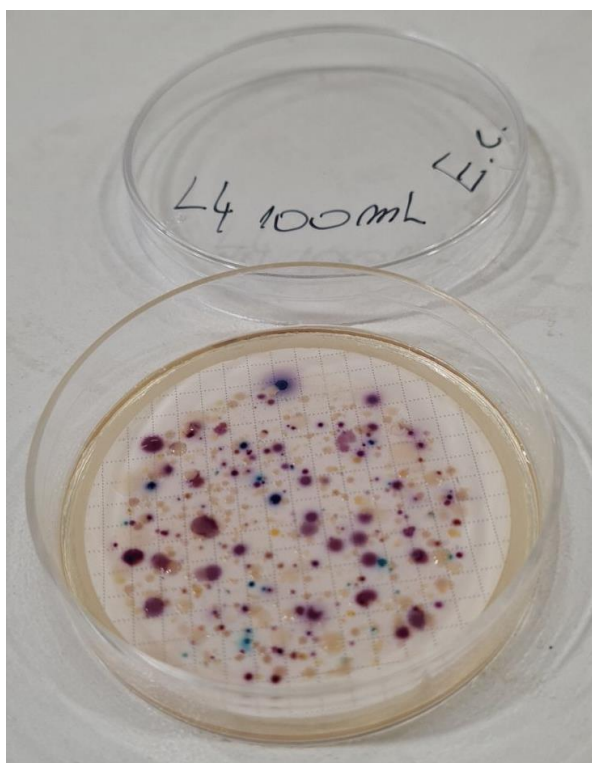
Iz staklene boce s volumenom od 500 mL uzorka, odijeljeno je po 100 mL i zatim filtrirano kroz membranski filter, veličine pora 0,45  $\mu\text{m}$ . Promjer pora na filteru

osigurava zadržavanje fekalnih bakterija, dok je permeabilan za autohtone bakterije koje su manje od veličine pora. Filtracija se odvija s opremom kao što je prikazano na Slici 6. Postupak filtracije odvija se dva puta za svaki uzorak zato što se jedan membranski filter postavlja na hranjivu podlogu specificiranu za rast fekalnih koliforma (FK) i *E. coli*, a drugi filter se postavlja na hranjivu podlogu specificiranu za rast fekalnih streptokoka (FS). Nakon filtracije, membranski filter prenesen je u petrijevu zdjelicu na prethodno pripremljenu krutu hranjivu podlogu, odgovarajuću za određenu skupinu mikroorganizama. Kao hranjivu podlogu za rast fekalnih koliforma i *E. coli* korišten je Microbiology Chromocult® Coliform agar, dok se za rast fekalnih streptokoka kao hranjiva podloga koristio Biolife Slanetz Bartley agar i Biolife Bile Asculine agar. Nakon postavljanja filtera na krutu hranjivu podlogu, petrijeve zdjelice se inkubiraju. Inkubacija se odvija 24 sata pri temperaturi od 37°C za FK i *E. coli*, dok se za FS inkubacija odvija na Slanetz Bartley agaru 48 sati pri temperaturi od 37°C, te se nakon inkubacije filter prenosi na Bile Asculine agar gdje je potrebna inkubacija 2 sata pri temperaturi od 44,5°C što služi kao potvrdno testiranje.

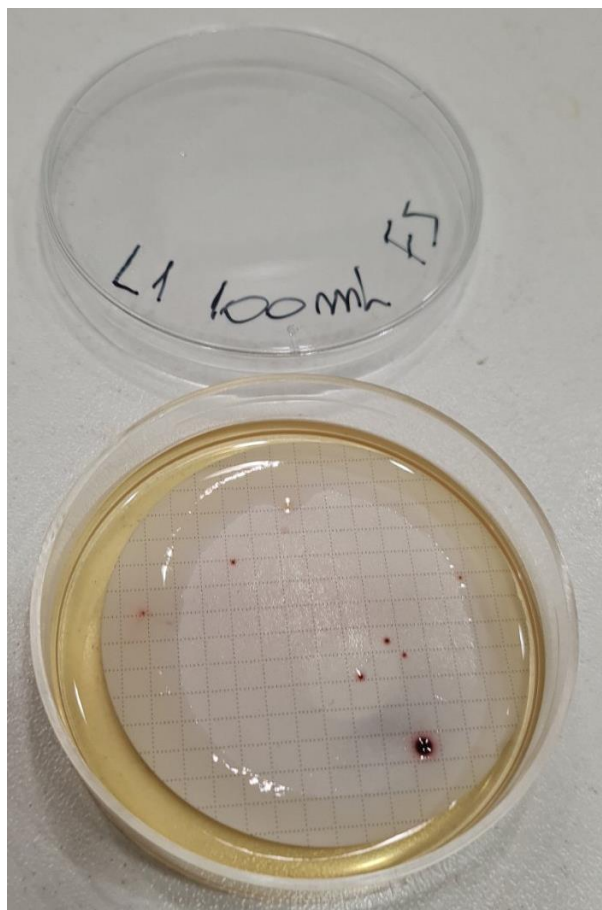


Slika 6. Oprema za filtraciju uzoraka (Izvor: vlastita fotografija, 2022)

Na hranjivim podlogama izrasle kolonije je potrebno prebrojati. Rezultat je izražen kao broj izraslih kolonija (BIK) u 100 mL uzorka, odnosno eng. Colony forming unit (CFU). Broj kolonija *E. coli* određen je brojanjem plavih kolonija s metalnim sjajem. Na istoj hranjivoj podlozi nalaze i kolonije ružičasto – crvene boje koje se prebroje i njihov broj se zbroji s brojem izraslih kolonija *E. coli* što predstavlja broj izraslih kolonija FK. Prilikom brojanja FS broje se one kolonije koje su izrasle na Bile Asculine agaru u potvrdnom testiranju. Kolonije FS su karakteristične tamno ružičaste boje. Na Slici 7. su prikazane izrasle kolonije FK i *E. coli*, dok su na Slici 8. prikazane izrasle kolonije FS.



Slika 7. Izrasle kolonije fekalnih koliforma (ružičasta boja) i *E. coli* (plava boja) na postaji L4 – jesensko uzorkovanje (Izvor: vlastita fotografija, 2022)



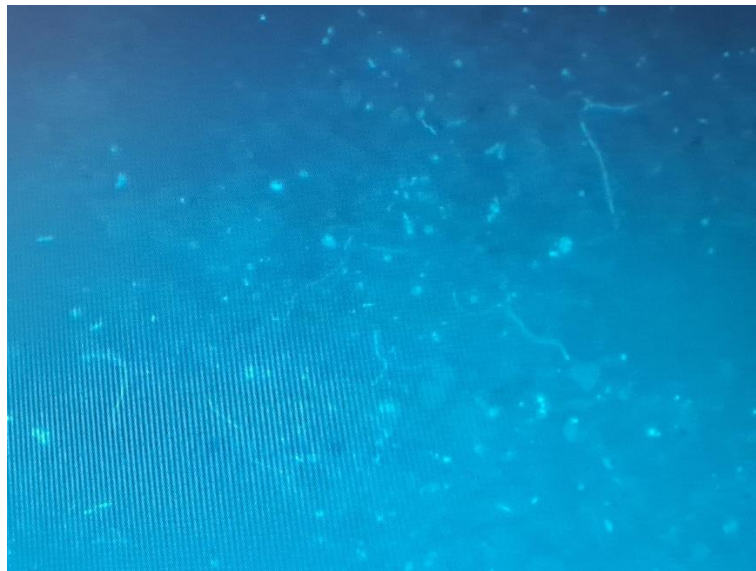
Slika 8. Izrasle kolonije fekalnih streptokoka na postaji L1 – jesensko uzorkovanje  
(Izvor: vlastita fotografija, 2022)

#### 4.6. Određivanje brojnosti mikrobne zajednice

Prilikom određivanja brojnosti mikrobne zajednice, odnosno cijanobakterija (CB), heterotrofnih bakterija (HB) i heterotrofnih nanoflagelata (HNF), koriste se prethodno fiksirani uzorci pohranjeni na temperaturi od 4°C. Za određivanje svake skupine odvoje se poduzorci od 2 mL u koje se dodaje 200  $\mu$ L DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) boje. DAPI je plavo – fluorescentno bojilo koje se koristi u višebojnim fluorescentnim tehnikama, a djeluje tako da prodire kroz stjenke stanice i u jezgri se veže za deoksiribonukleinsku kiselinu (DNA). Nakon 10 – 15 minuta od dodatka DAPI boje, uzorke je potrebno filtrirati kroz polikarbonatne filtere. Veličina pora filtera od 0,2  $\mu$ m koristi se za određivanje HB, dok je za određivanje HNF i CB uzorke potrebno filtrirati filterima s veličinom pora od 0,4  $\mu$ m, iako se za određivanje CB ne dodaje DAPI boja



jer cijanobakterije sadrže pigmente koji su fluorescentni kada se izlažu zelenom svjetlu. Nakon filtracije, filteri se polažu na predmetna stakalca, dodaje se imerzno ulje te se promatraju pod epifluorescentnim mikroskopom. Pojedine stanice heterotrofnih prokariota izgledaju poput svjetlećih točkica na tamno – plavoj podlozi. Za svaki uzorak izbrojano je najmanje 500 stanica i određena je njihova gustoća po jedinici površine vidnog polja. Nakon toga, dobivena površinska gustoća se množi sa faktorom koji ovisi o mikroskopu, povećanju, o filtriranom volumenu i dimenzijama filtera kako bi se dobio konačni broj stanica po jedinici volumena, odnosno po mL. HNF su za razliku od prokariota imali veće dimenzije i posjeduju jedan ili više biča. Kao i za bakterije izvršeno je njihovo brojanje (do 200 stanica) i množenje sa odgovarajućim faktorima kako bi se dobila gustoća po mL. Za cijanobakterije korišten je isti princip brojanja kao i za HNF, sa razlikom da je za njihovu identifikaciju korišteno zeleno svjetlo, pod kojim su one izgledale kao narančaste točkice, često u paru. I za njih je brojnost izražena kao broj stanica po mL (Krstulović i Šolić, 2006; Paliaga, 2015; Vukušić, 2019). Slika 9. prikazuje Morska mikrobna zajednica na epifluorescentnom mikroskopu pod UV svjetlom na povećanju od 1000 X.



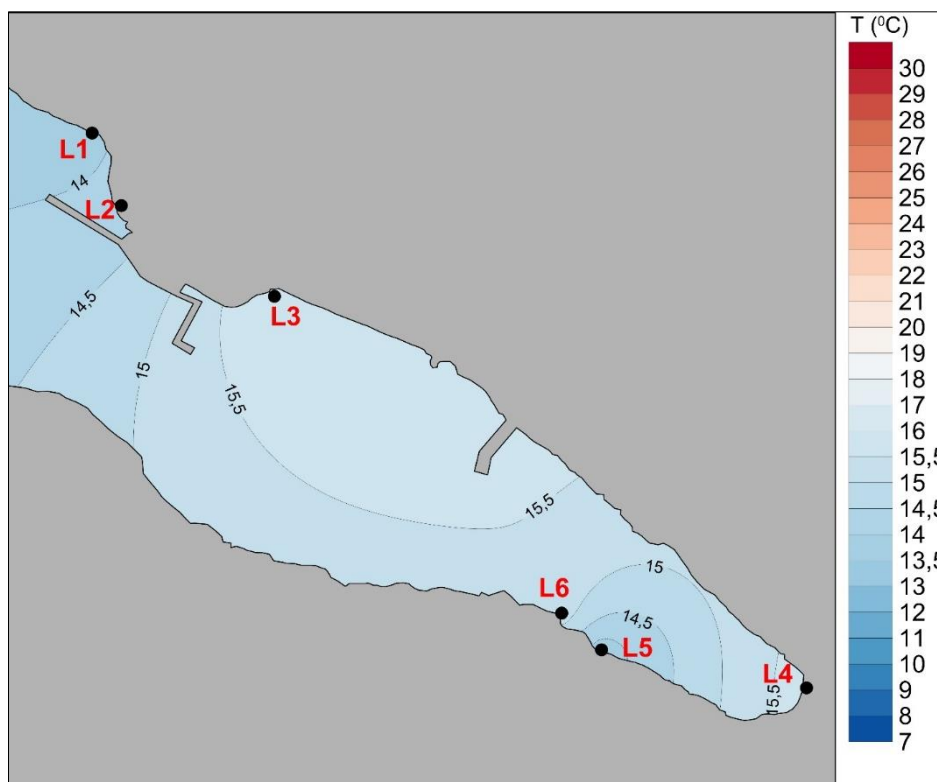
Slika 9. Morska mikrobna zajednica na epifluorescentnom mikroskopu pod UV svjetlom na povećanju od 1000 X (Izvor: vlastita fotografija, 2022)

## 5. REZULTATI

### 5.1. Hidrografski parametri

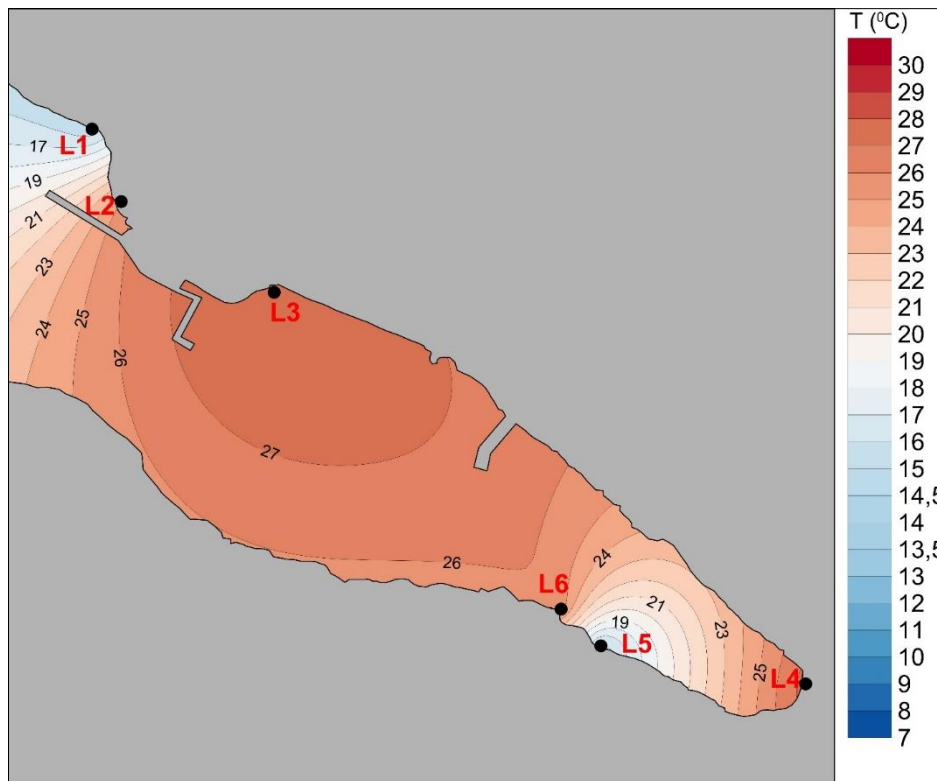
#### 5.1.1. Temperatura

Prilikom određivanja hidrografskih parametara u proljeće zabilježene su vrijednosti temperature u rasponu od 13,7 do 16 °C, s prosječnom vrijednošću od 14,2 °C. Najviša temperatura je zabilježena na postaji L3 od 16 °C, dok najniža temperatura iznosi 13,7 °C, a zabilježena je na postaji L5 pri čemu važno je istaknuti vrijednost temperature izmjerene na postaji L1 čija je vrijednost od 13,9 °C vrlo blizu minimalne izmjerene temperature. Slika 10. prikazuje raspodjelu i vrijednosti temperature za razdoblje proljeća na istraživanom području.



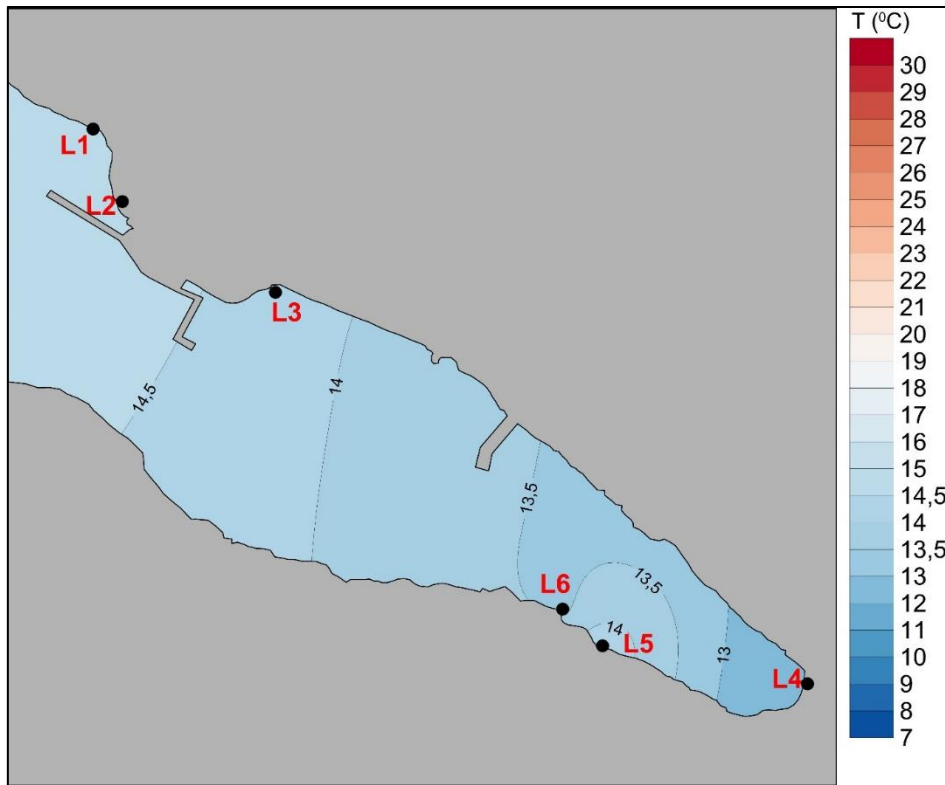
Slika 10. Raspodjela i vrijednosti temperature za razdoblje proljeća na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

Tijekom ljetnog perioda prosječna vrijednost temperature iznosila je 22,92 °C. Najviša temperatura od 28 °C zabilježena na postaji L3, dok je najniža temperatura zabilježena na postaji L1 s vrijednošću od 15,1 °C. Međutim, odstupanje od prosječne temperature uočeno je i na postaji L5 s vrijednošću od 15,3 °C. Slika 11. prikazuje raspodjelu i vrijednosti temperature za razdoblje ljeta na istraživanom području.



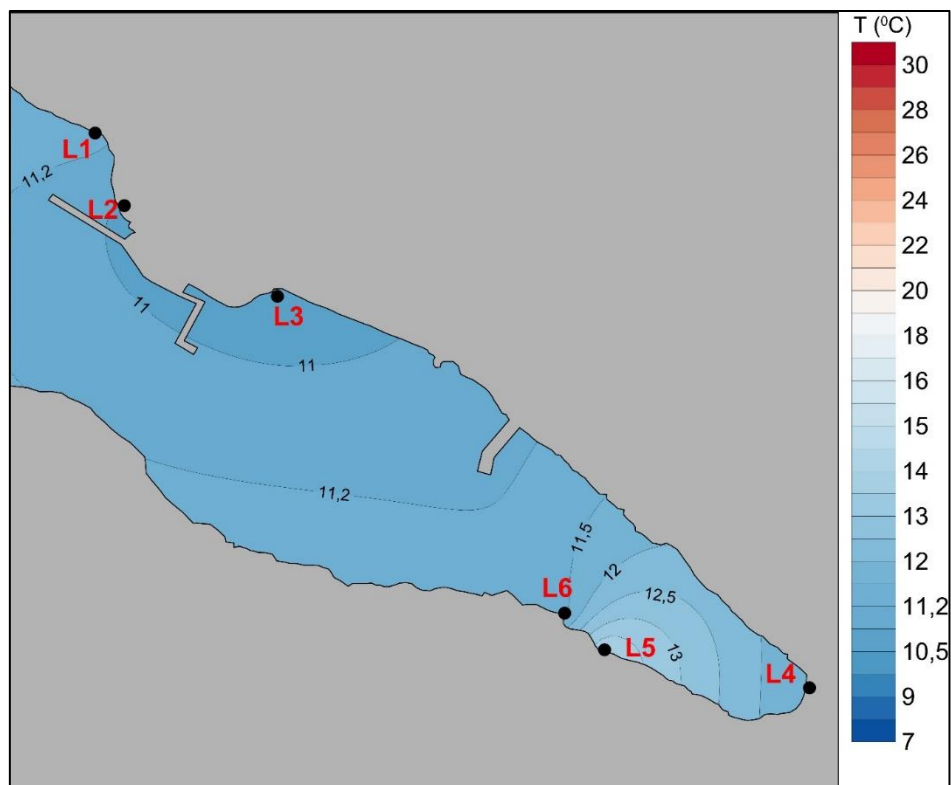
Slika 11. Raspodjela i vrijednosti temperature za razdoblje ljeta na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

Mjerenjem temperature u razdoblju jeseni nisu uočene značajne varijacije temperature. Prosječna vrijednost temperature je 13,99 °C, pri čemu je zabilježena temperatura od 14,96 °C na postaji L2 kao najviša vrijednost, dok je na postaji L4 zabilježena najniža vrijednost od 12,08 °C. Slika 12. prikazuje raspodjelu i vrijednosti temperature za razdoblje jeseni na istraživanom području.



Slika 12. Raspodjela i vrijednosti temperature za razdoblje jeseni na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

Zimskim mjerenjem izmjerene temperature se nalaze u rasponu od 10,92 do 14,04 °C, s prosječnom vrijednošću od 11,66 °C. Najviša temperatura izmjerena je na postaji L5, a najniža na postaji L3. Slika 13. prikazuje raspodjelu i vrijednosti temperature za razdoblje zime na istraživanom području.

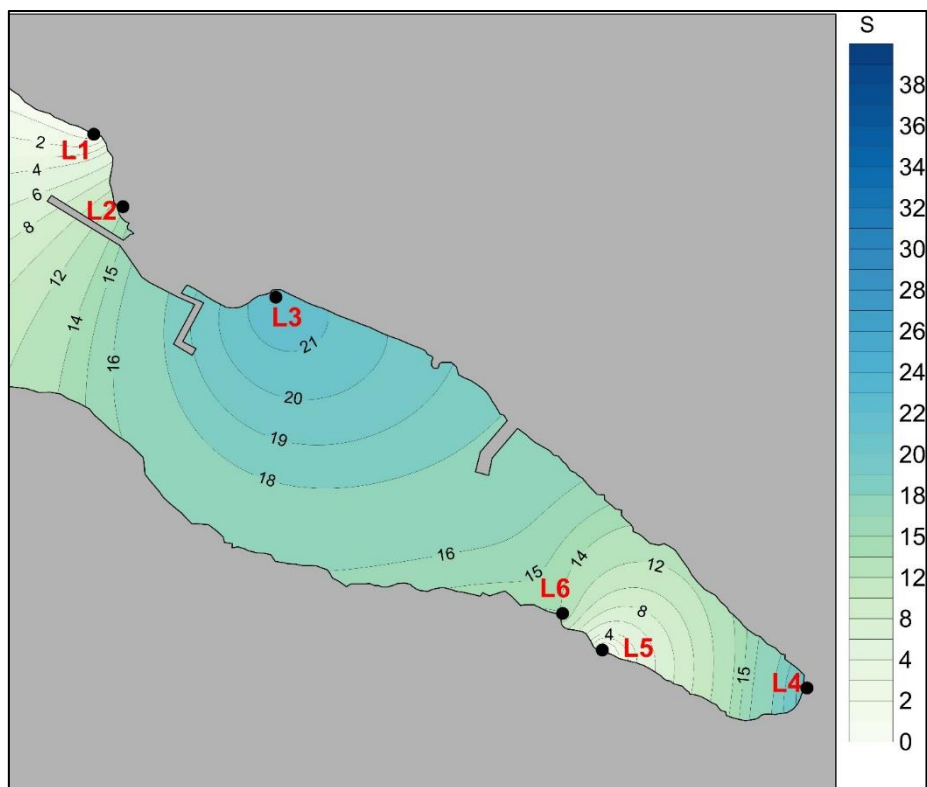


Slika 13. Raspodjela i vrijednosti temperature za razdoblje zime na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

Temeljem svih izmjerenih vrijednosti temperature na pojedinačnim postajama tijekom sva četiri uzorkovanja (proljeće, ljeto, jesen i zima) dobivena je prosječna godišnja temperatura istraživanog područja koja iznosi 15,85 °C.

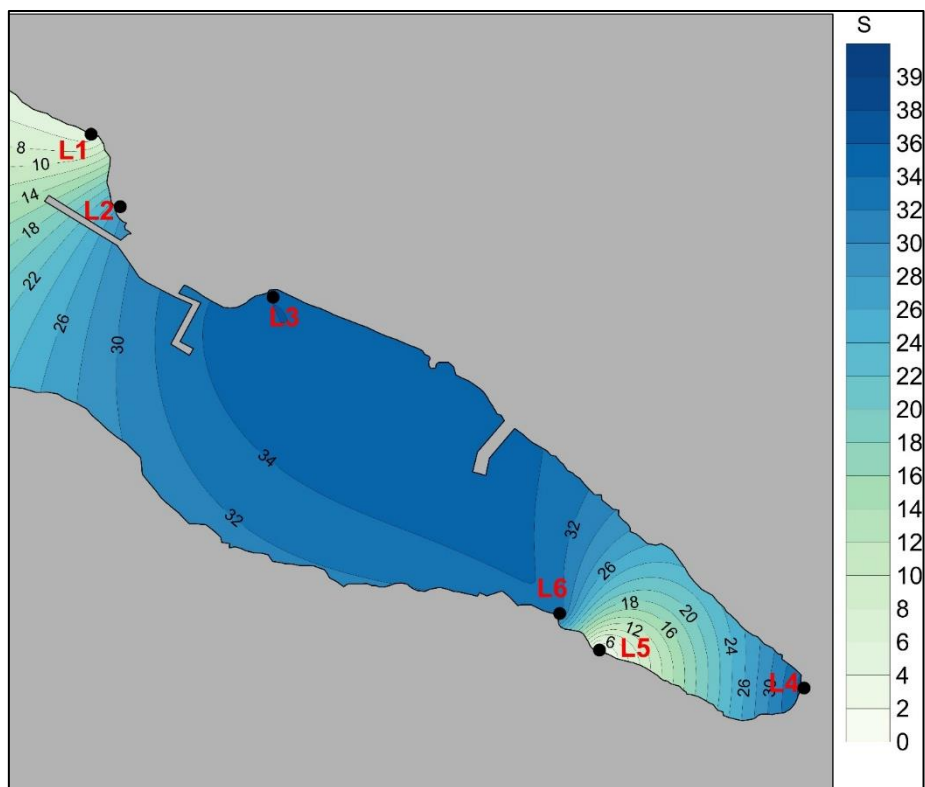
### 5.1.2. Salinitet

U proljeće na lokacijama L1 i L5 uočene su velike varijacije u salinitetu u odnosu na ostale lokacije uzorkovanja, što ukazuje na direktan dotok slatke vode u istraživano područje. Raspon saliniteta, čija je distribucija prikazana na Slici 14., iznosi od 0,1 do 22‰ pri čemu je najviši salinitet zabilježen na postaji L3, dok je najniži salinitet zabilježen na postaji L5. Prosječna vrijednost saliniteta iznosi 12,05‰.



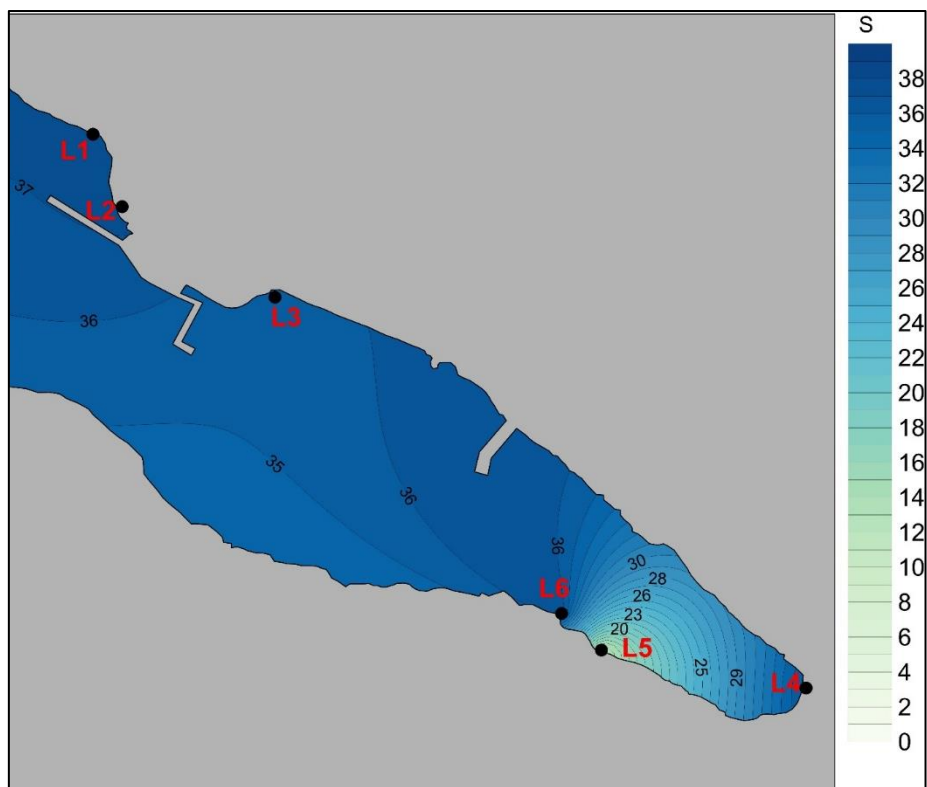
Slika 14. Raspodjela i vrijednosti saliniteta za razdoblje proljeća na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

Također, varijacije u salinitetu uočene su u ljetnom periodu na prethodno spomenutim lokacijama L1 i L5. Na lokaciji L5 izmjeren je salinitet od 0,4‰ što je najniža izmjerena vrijednost za ljeto, dok je najviši salinitet od 36‰ izmjeren na postaji L3. Prosječna vrijednost saliniteta iznosi 23,05‰. Na Slici 15. prikazana je raspodjela saliniteta za razdoblje ljeta.



Slika 15. Raspodjela i vrijednosti saliniteta za razdoblje ljeta na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

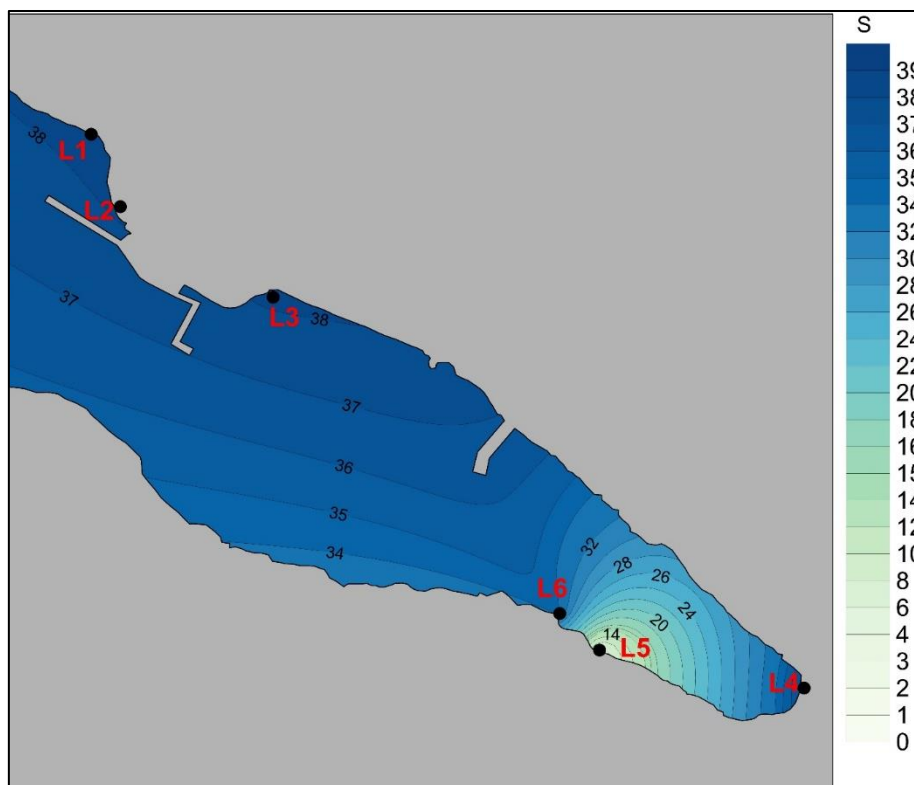
Jesensko mjerenje saliniteta pokazuje veću homogenost, iako na postaji L5 uočena je povećana razlika u odnosu na ostale postaje. Vrijednost od 12,17‰ izmjerena je na postaji L5 kao najniža vrijednost, dok je najviša vrijednost zabilježena na postaji L1 s vrijednošću od 37,4‰. Prosječna vrijednost saliniteta za jesen iznosi 32,59‰. Na Slici 16. prikazana je raspodjela saliniteta za razdoblje jeseni.



Slika 16. Raspodjela i vrijednosti saliniteta za razdoblje jeseni na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

Tijekom zimskog perioda izmjereni salinitet nalazio se u rasponu od 6,22 do 38,25‰, pri čemu je najniža izmjerena vrijednost zabilježena na lokaciji L5, a najviša na L1. Prosječna vrijednost iznosi 32,16‰. Na Slici 17. prikazana je raspodjela saliniteta za razdoblje zime.



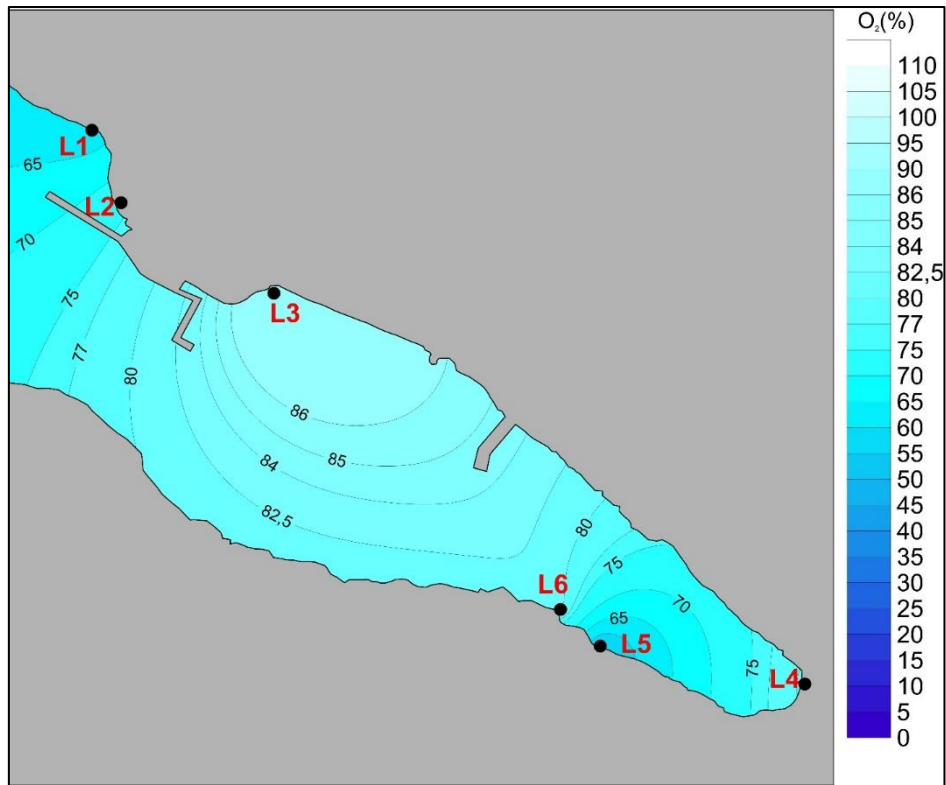


Slika 17. Raspodjela i vrijednosti saliniteta za razdoblje zime na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

Temeljem svih izmjerenih vrijednosti saliniteta na pojedinačnim postajama tijekom sva četiri uzorkovanja (proljeće, ljeto, jesen i zima) dobivena je prosječna godišnja vrijednost saliniteta na istraživanom području od 24,96‰.

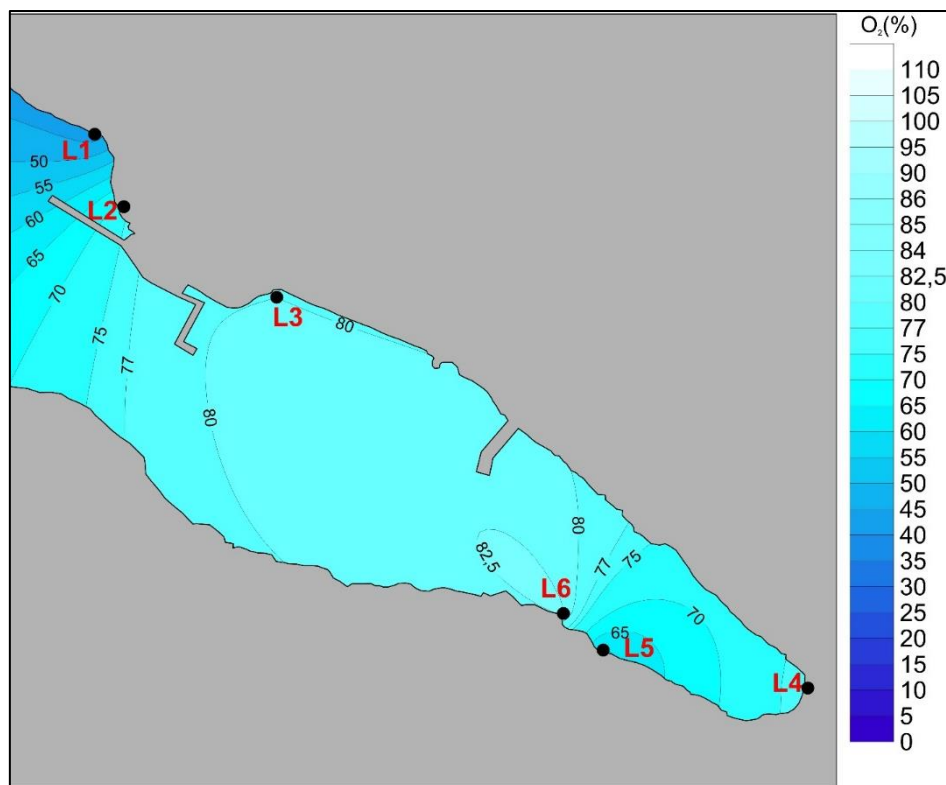
### 5.1.3. Saturacija kisikom

U proljeće, prosječna vrijednost saturacije kisikom iznosi 73,83%, pri čemu su uočene varijacije na postaji L5 gdje je zabilježena najniža vrijednost od 55%, dok je na postaji L3 zabilježena vrijednost od 89% što je ujedno i najviša zabilježena vrijednost tokom proljetnog mjerenja. Slika 18. prikazuje raspodjelu saturacije kisikom na istraživanom području.



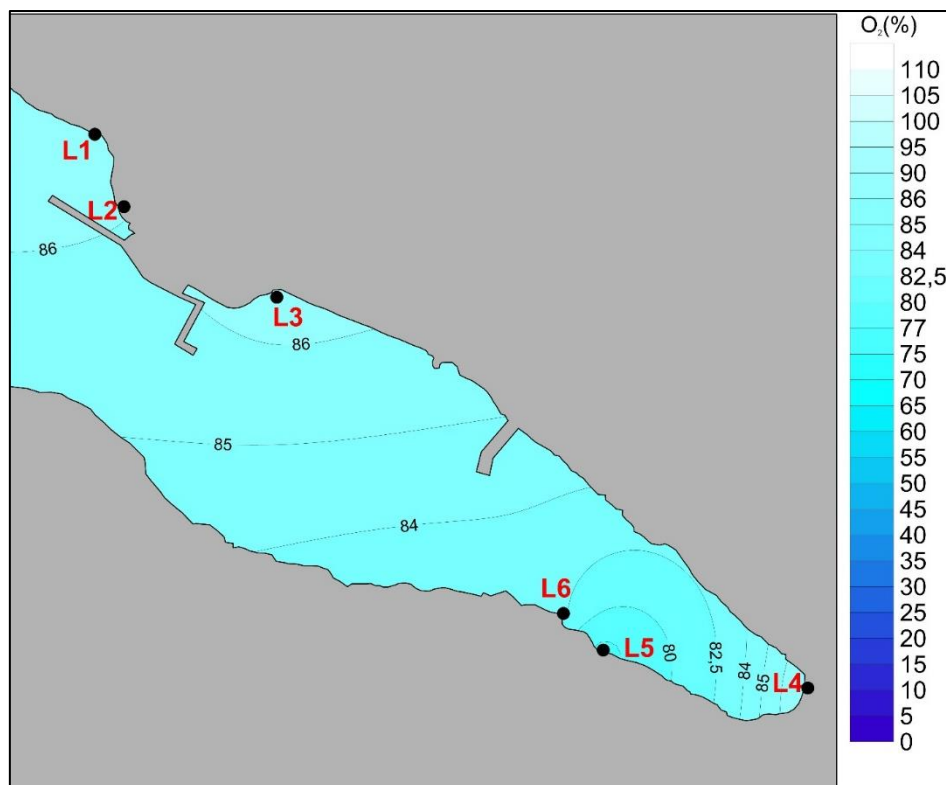
Slika 18. Raspodjela saturacije kisikom istraživanog područja u proljetnom periodu (Izvor: vlastita slika, 2022).

Prilikom ljetnog mjerenja saturacije kisikom, izmjerene vrijednosti bile su u rasponu od 42 do 83%, dok je prosječna vrijednost iznosila 69,5%. Najviša vrijednost saturacije zabilježena je na postaji L6, a najniža na postaji L1. Slika 19. prikazuje raspodjelu saturacije kisikom na istraživanom području.



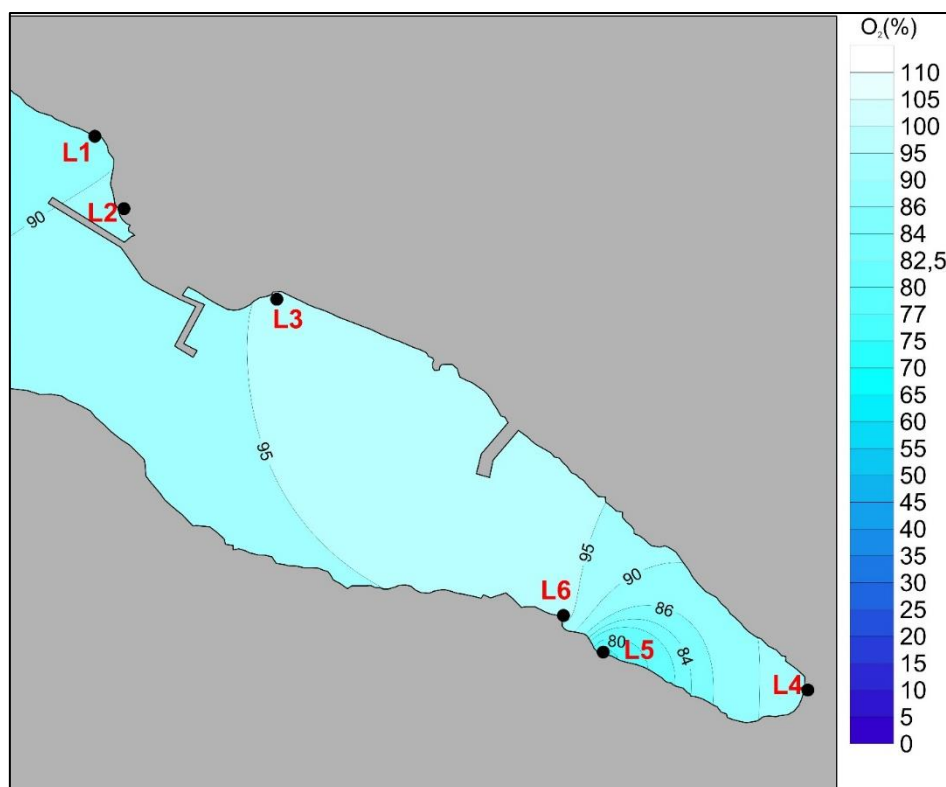
Slika 19. Raspodjela saturacije kisikom istraživanog područja u ljetnom periodu (Izvor: vlastita slika, 2022).

U jesen, najviša zabilježena vrijednost saturacije kisikom bila je na postaji L4 s vrijednošću od 87,3%, dok je najniža vrijednost od 75,9% zabilježena na postaji L5. Prosječna vrijednost iznosi 84,27%. Slika 20. prikazuje raspodjelu saturacije kisikom na istraživanom području.



Slika 20. Raspodjela saturacije kisikom istraživanog područja u jesenskom periodu (Izvor: vlastita slika, 2022).

Vrijednosti saturacije kisikom tokom zime bile su u rasponu od 75,5 do 97,9%, dok je prosječna vrijednost iznosila 90,5%. Najviša vrijednost saturacije kisikom zabilježena je na postaji L6, dok je najniža izmjerena vrijednost bila na postaji L5. Slika 21. prikazuje raspodjelu saturacije kisikom na istraživanom području.

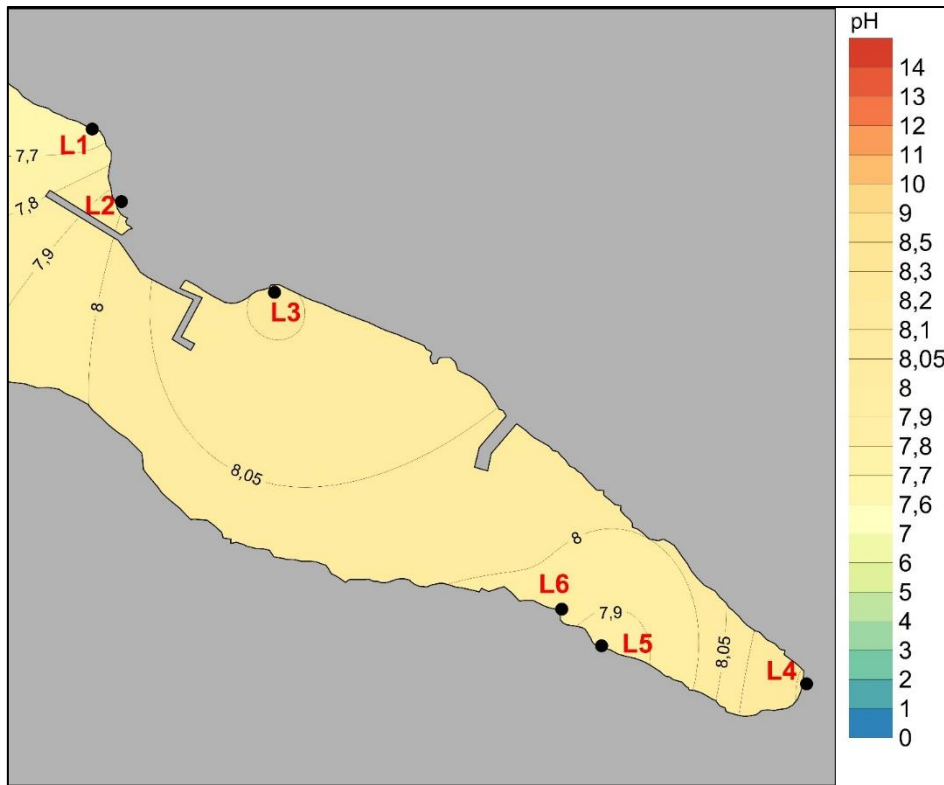


Slika 21. Raspodjela saturacije kisikom istraživanog područja u zimskom periodu (Izvor: vlastita slika, 2022).

Temeljem svih izmjerenih vrijednosti saturacije kisikom na pojedinačnim postajama tijekom sva četiri uzorkovanja (proljeće, ljeto, jesen i zima) dobivena je prosječna godišnja vrijednost saturacije kisikom istraživanog područja koja iznosi 79,53%.

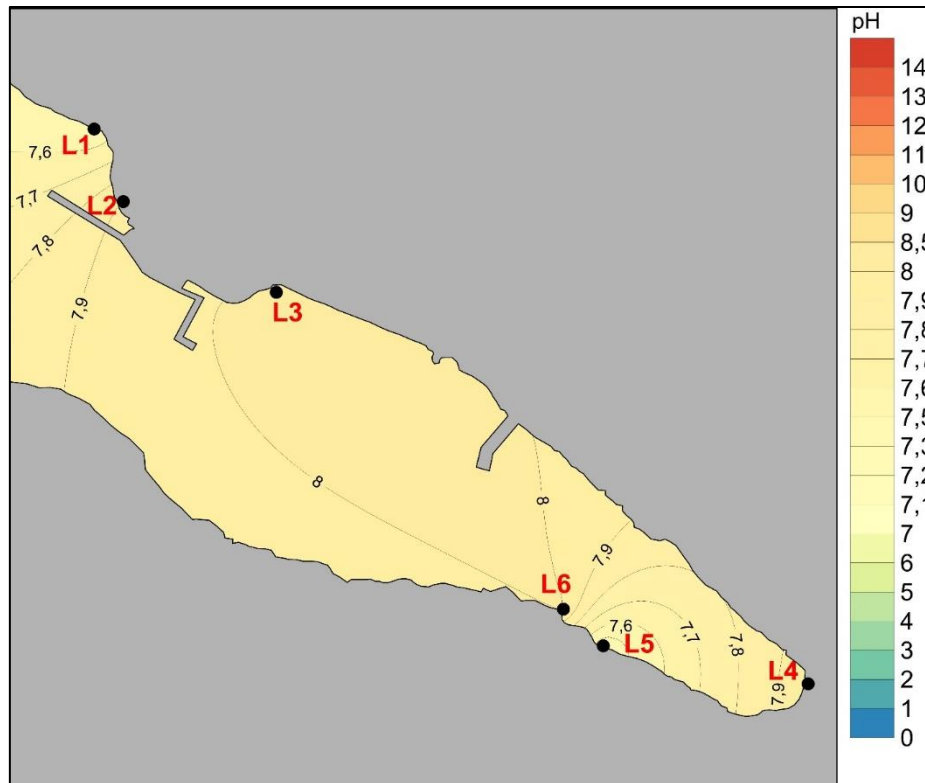
#### 5.1.4. pH vrijednost

Vrijednosti pH za proljeće variraju u rasponu od 7,61 na postaji L1 do 8,22 na postaji L4. Prosječna pH vrijednost iznosi 7,95. Raspodjelu pH vrijednosti na istraživanom području prikazuje Slika 22.



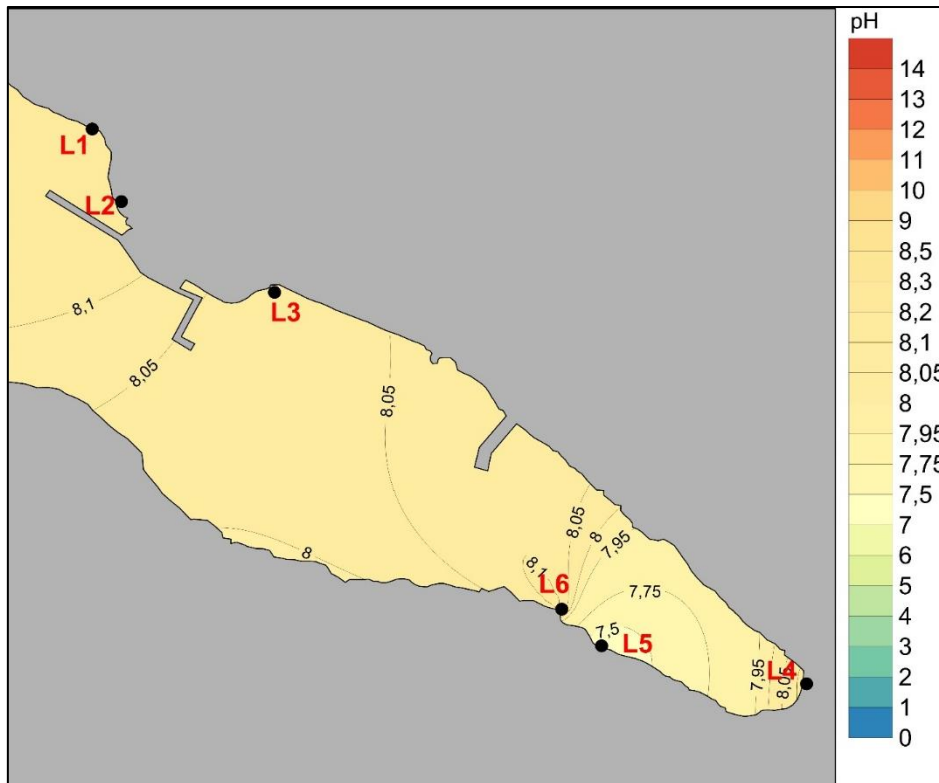
Slika 22. Raspodjela pH vrijednosti na istraživanom području u proljetnom periodu (Izvor: vlastita slika, 2022).

Vrijednosti pH za ljeto variraju u rasponu od 7,42 do 8,01. Najniža vrijednost izmjerena je na postaji L5, a najviša zabilježena vrijednost jednaka je na dvije postaje, na postaji L3 i L6, dok prosječna pH vrijednost iznosi 7,81. Raspodjelu pH vrijednosti na istraživanom području prikazuje Slika 23.



Slika 23. Raspodjela saturacije kisikom istraživanog područja u ljetnom periodu (Izvor: vlastita slika, 2022).

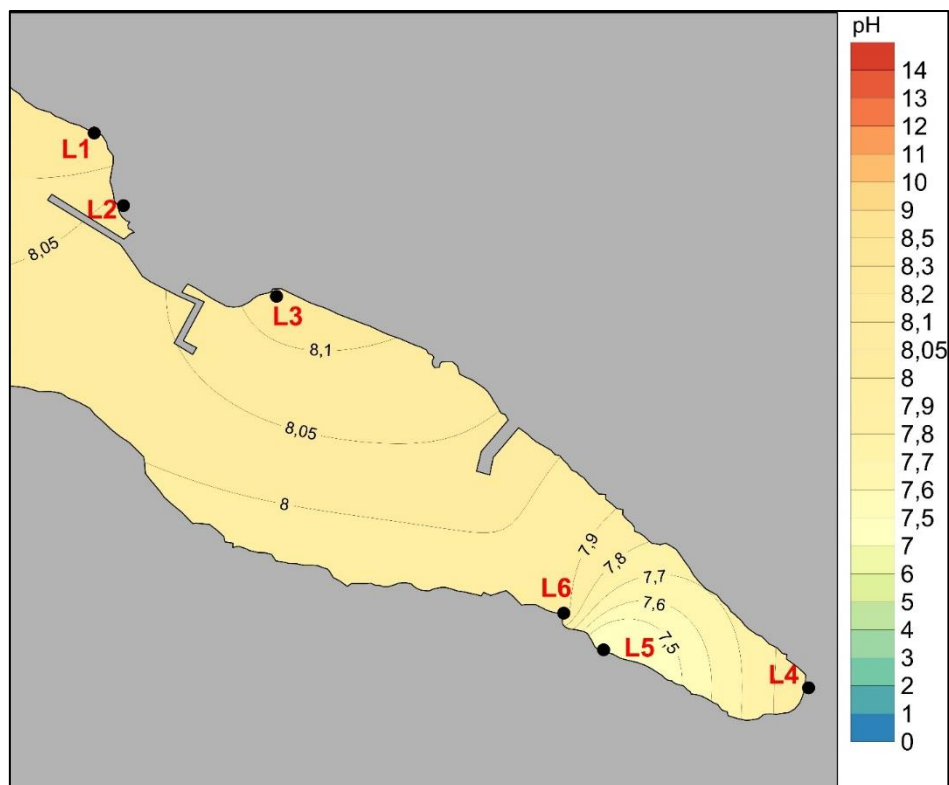
Vrijednosti pH za jesen variraju u rasponu od 7,26 na postaji L5 do 8,19 na postaji L1. Prosječna pH vrijednost iznosi 7,98. Raspodjelu pH vrijednosti na istraživanom području prikazuje Slika 24.



Slika 24. Raspodjela saturacije kisikom istraživanog područja u jesenskom periodu (Izvor: vlastita slika, 2022).

U zimi, najviša pH vrijednost izmjerena je na postaji L1 s vrijednošću od 8,16, dok je najniža vrijednost izmjerena na postaji L5 i iznosi 7,22. Prosječna pH vrijednost iznosi 7,90. Raspodjelu pH vrijednosti na istraživanom području prikazuje Slika 25.





Slika 25. Raspodjela saturacije kisikom istraživanog područja u zimskom periodu (Izvor: vlastita slika, 2022).

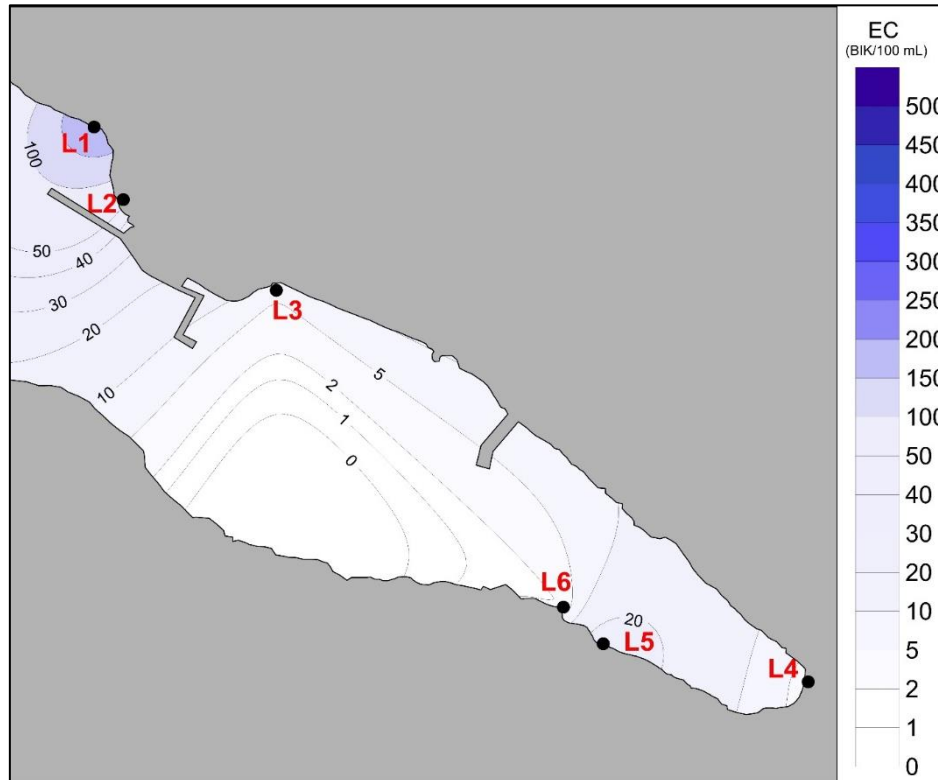
Temeljem svih izmjerenih vrijednosti pH na pojedinačnim postajama tijekom sva četiri uzorkovanja (proljeće, ljeto, jesen i zima) dobivena je prosječna godišnja pH vrijednost istraživanog područja koja iznosi 7,91.

## 5.2. Sanitarna kvaliteta

### 5.2.1. *Escherichia coli*

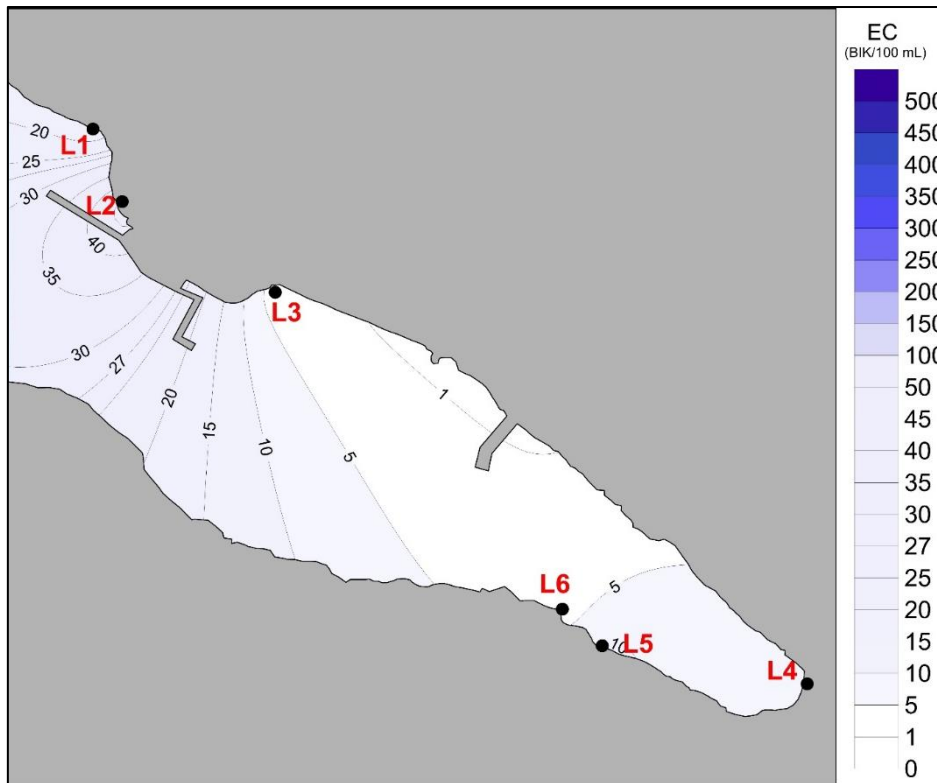
Proljetnim uzorkovanjem utvrđena je koncentracija *E. coli* u rasponu od 2 do 212 BIK/100 mL uzorka, dok prosječna brojnost iznosi 48 BIK/100 mL. Najviše izraslih kolonija zabilježeno u uzorku s postaje L1, a najniža vrijednost zabilježena je u uzorku s postaje L6. Veliku razliku koncentracije *E. coli* na postaji L1 u odnosu na ostale postaje ukazuje na mogućnost antropogenog utjecaja otpadnim vodama u području

postaje L1. Na Slici 26. prikazana je raspodjela koncentracije *E. coli* na istraživanom području.



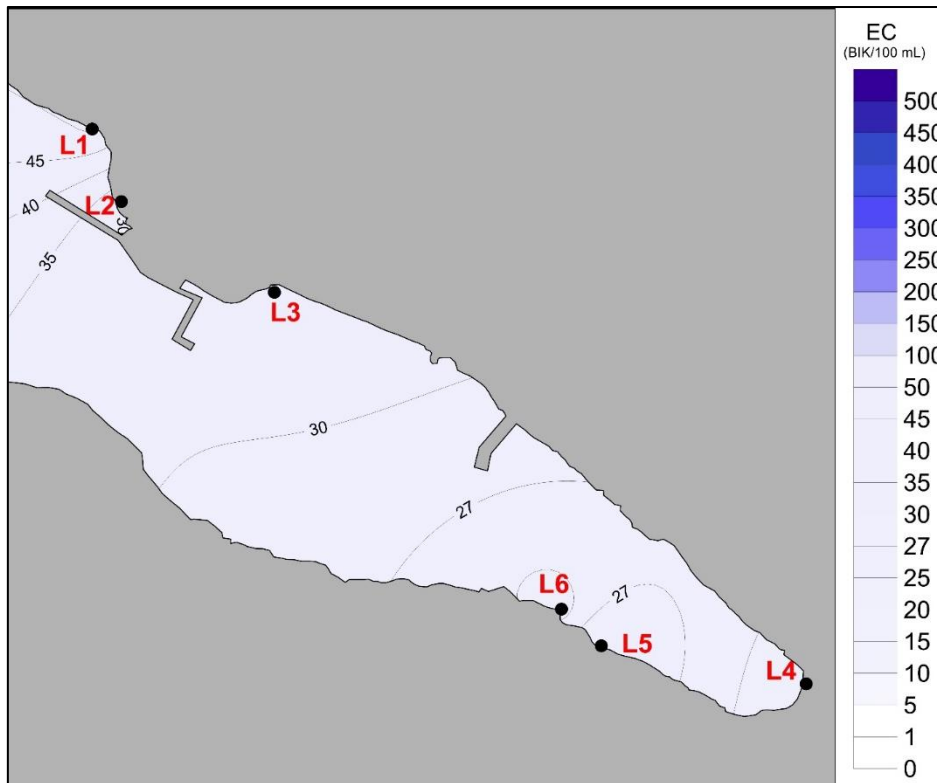
Slika 26. Raspodjela koncentracije *E. coli* tijekom proljeća na istraživanom području  
(Izvor: vlastita slika, 2022).

Tijekom ljetnog uzorkovanja utvrđena je prosječna koncentracija *E. coli* s vrijednošću od 14 BIK/100 mL, pri čemu je najviša koncentracija od 49 BIK/100 mL zabilježena u uzorku s postaje L2, dok je najniža koncentracija zabilježena na postaji L6 i iznosi 2 BIK/100 mL. Na Slici 27. prikazana je raspodjela koncentracije *E. coli* na istraživanom području.



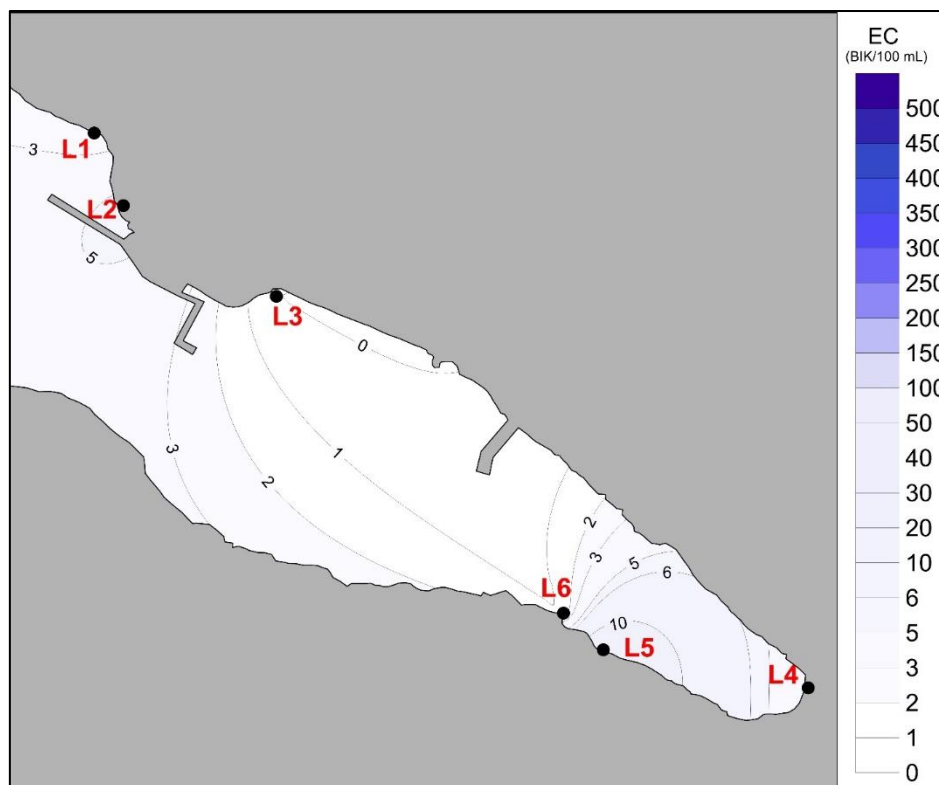
Slika 27. Raspodjela koncentracije *E. coli* tijekom ljeta na istraživanom području  
(Izvor: vlastita slika, 2022).

U jesen, koncentracije *E. coli* bile su u rasponu od 23 do 51 BIK/100 mL, s prosječnom vrijednošću od 32 BIK/100 mL. Najviša koncentracija zabilježena je na postaji L1, a najniža na postaji L4. Na Slici 28. prikazana je raspodjela koncentracije *E. coli* na istraživanom području.



Slika 28. Raspodjela koncentracije *E. coli* tijekom jeseni na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

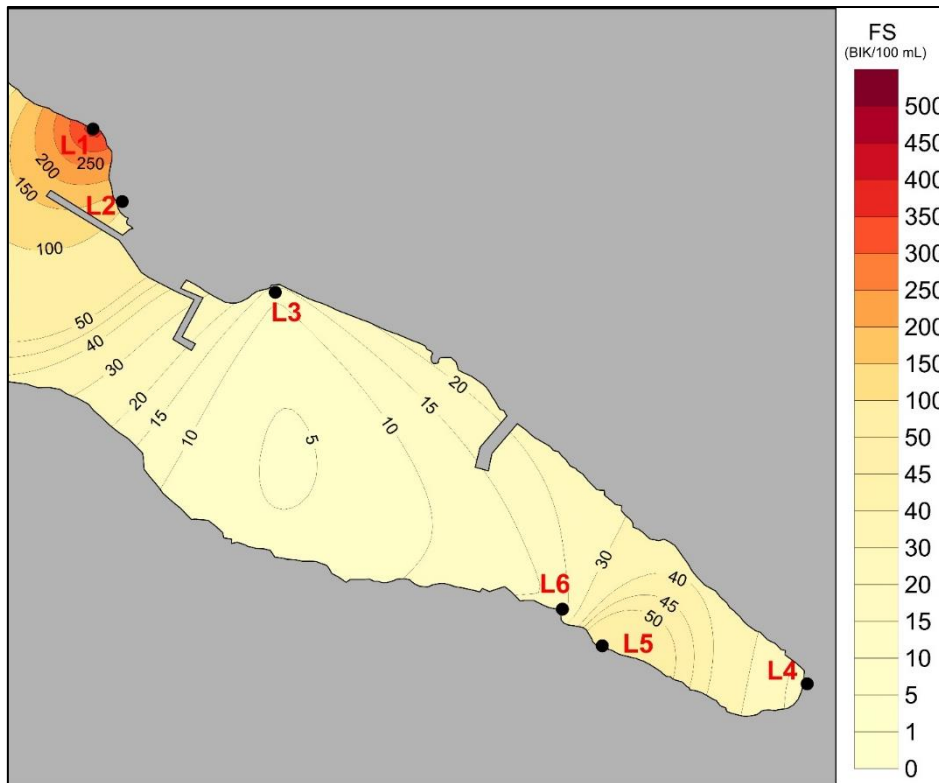
Zimskim uzorkovanjem utvrđena je vrlo mala koncentracija *E. coli* u rasponu od 0 do 15 BIK/100 mL, s prosječnom vrijednošću od 5 BIK/100 mL. Uzorak s postaje L5 imao je najvišu koncentraciju, dok je uzorak s postaje L3 imao najnižu koncentraciju, odnosno odustvo bakterije *E. coli*. Na Slici 29. prikazana je raspodjela koncentracije *E. coli* na istraživanom području.



Slika 29. Raspodjela koncentracije *E. coli* tijekom zime na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

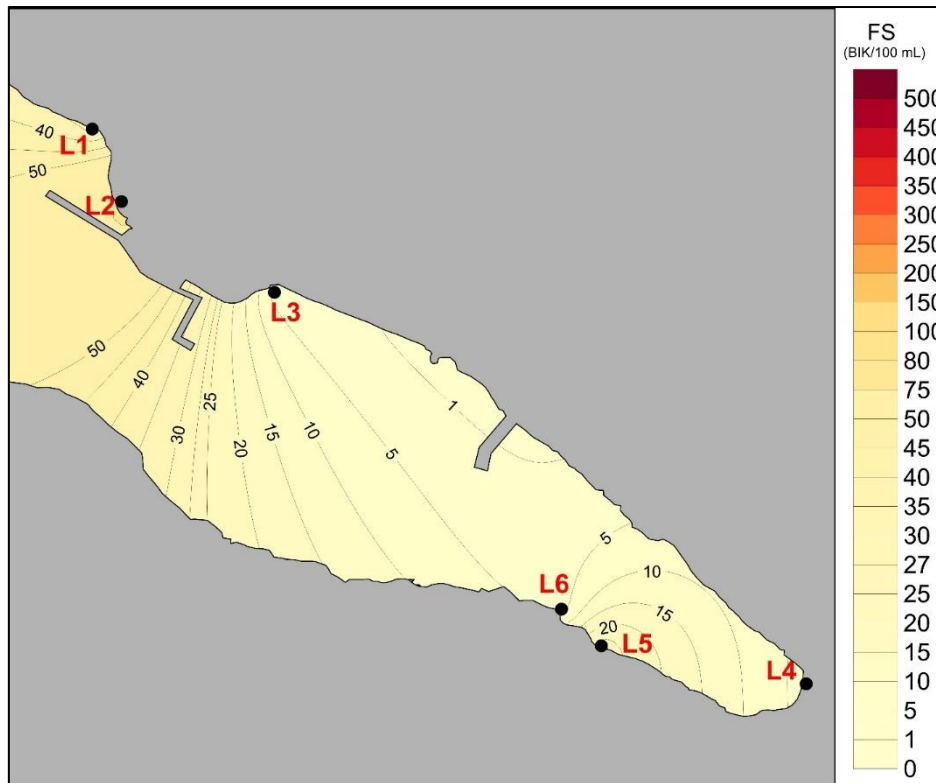
### 5.2.2. Fekalni streptokoki

Koncentracija fekalnih streptokoka je u proljeće bila velika na postaji L1 gdje je ujedno i zabilježena najviša koncentracija od 384 BIK/100 mL, dok je najniža koncentracija zabilježena na postaji L3 s vrijednošću od 11 BIK/100 mL. Prosječna vrijednost fekalnih streptokoka u proljeće na istraživanom području iznosila je 98 BIK/100 mL, a raspodjela koncentracije fekalnih streptokoka u periodu proljeća prikazana je na Slici 30.



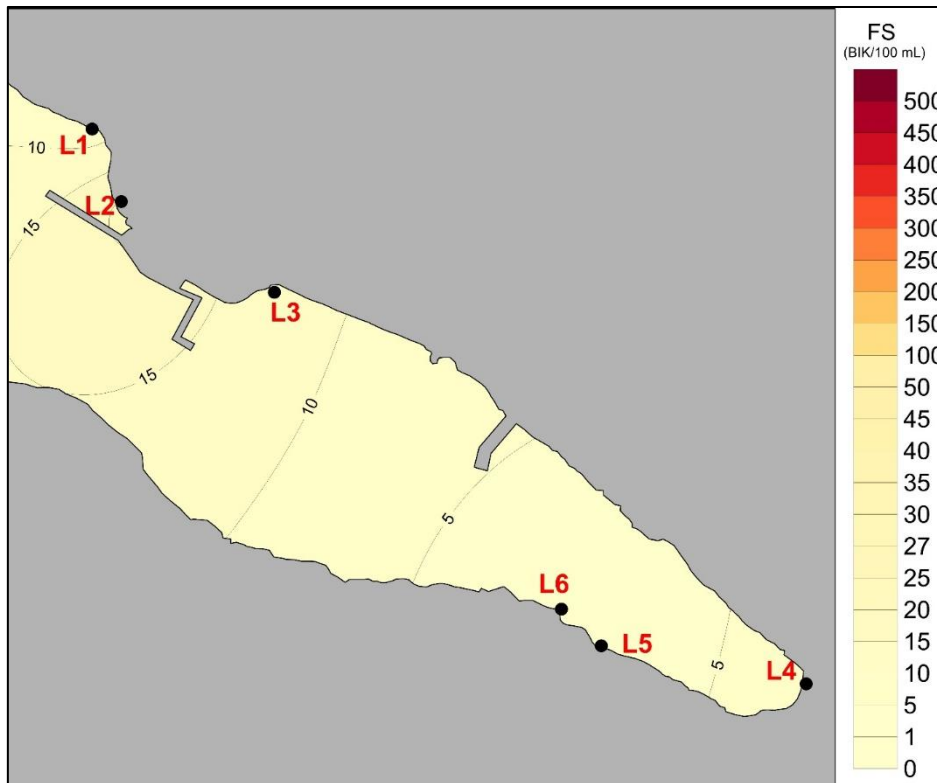
Slika 30. Raspodjela koncentracije fekalnih streptokoka tijekom proljeća na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

Tijekom ljeta koncentracije fekalnih streptokoka bile su u rasponu od 3 do 81 BIK/100 mL, s prosječnom vrijednošću od 25 BIK/100 mL. Najviša koncentracija zabilježena je na postaji L2, dok je na postajama L3, L4 i L6 zabilježena koncentracija od 3 BIK/100 mL što predstavlja najnižu koncentraciju. Slika 31. prikazuje raspodjelu koncentracije fekalnih streptokoka za period ljeta.



Slika 31. Raspodjela koncentracije fekalnih streptokoka tijekom ljeta na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

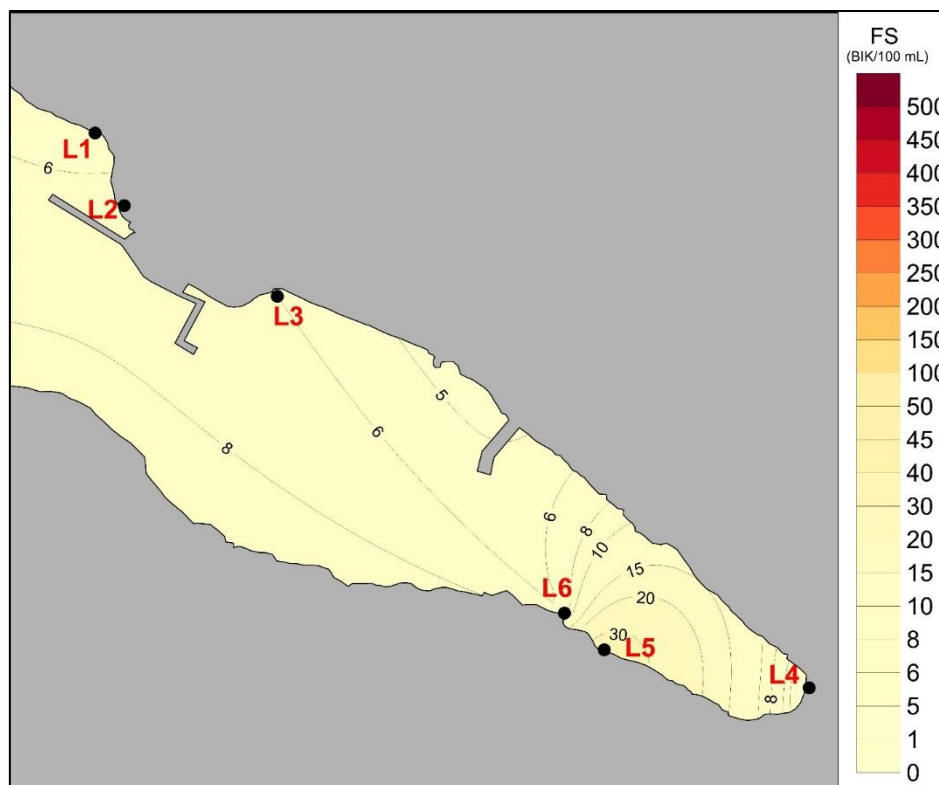
Jesenskim uzorkovanjem najviša koncentracija fekalnih streptokoka od 22 BIK/100 mL bila je na postaji L2, dok su uzorci s postaja L5 i L6 imali najmanju koncentraciju od 1 BIK/100 mL. Prosječna vrijednost za jesen na istraživanom području bila je 9 BIK/100 mL, a raspodjela koncentracije fekalnih streptokoka za jesen prikazana je na Slici 32.



Slika 32. Raspodjela koncentracije fekalnih streptokoka tijekom jeseni na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

Zimskim uzorkovanjem utvrđene koncentracije fekalnih streptokoka bile su u rasponu od 2 do 39 BIK/100 mL, s prosječnom vrijednošću od 11 BIK/100 mL. Najviša koncentracija zabilježena je na postaji L5, a najniža na postaji L4. Slika 33. prikazuje raspodjelu koncentracije fekalnih streptokoka za zimski period na istraživanom području.



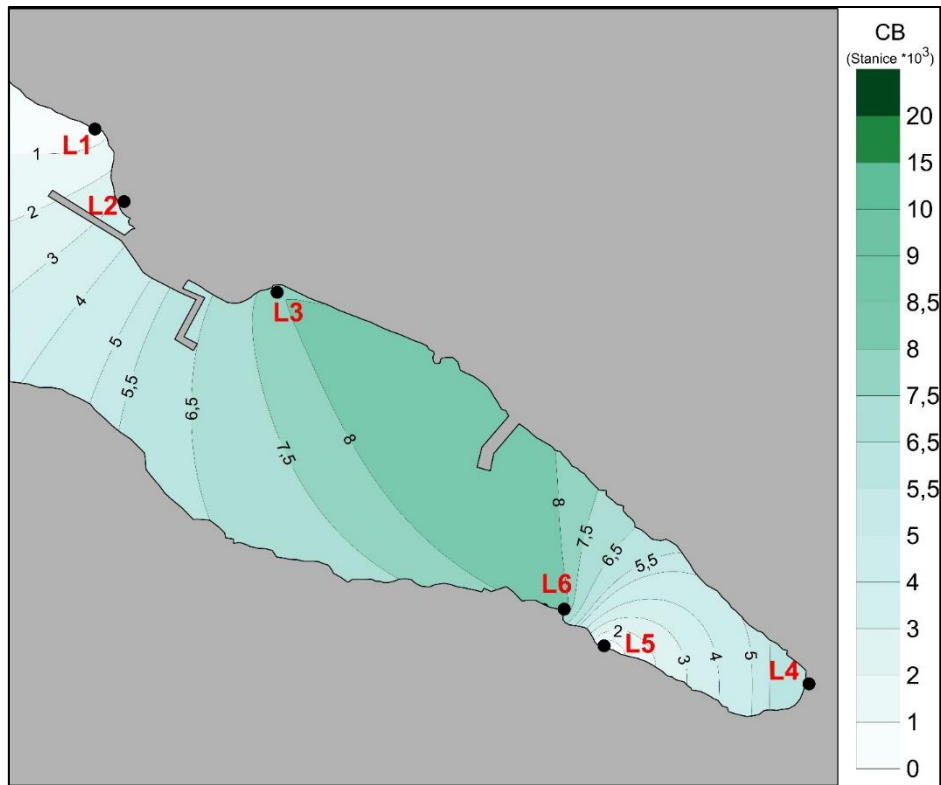


Slika 33. Raspodjela koncentracije fekalnih streptokoka tijekom zime na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

### 5.3. Brojnost mikrobne zajednice

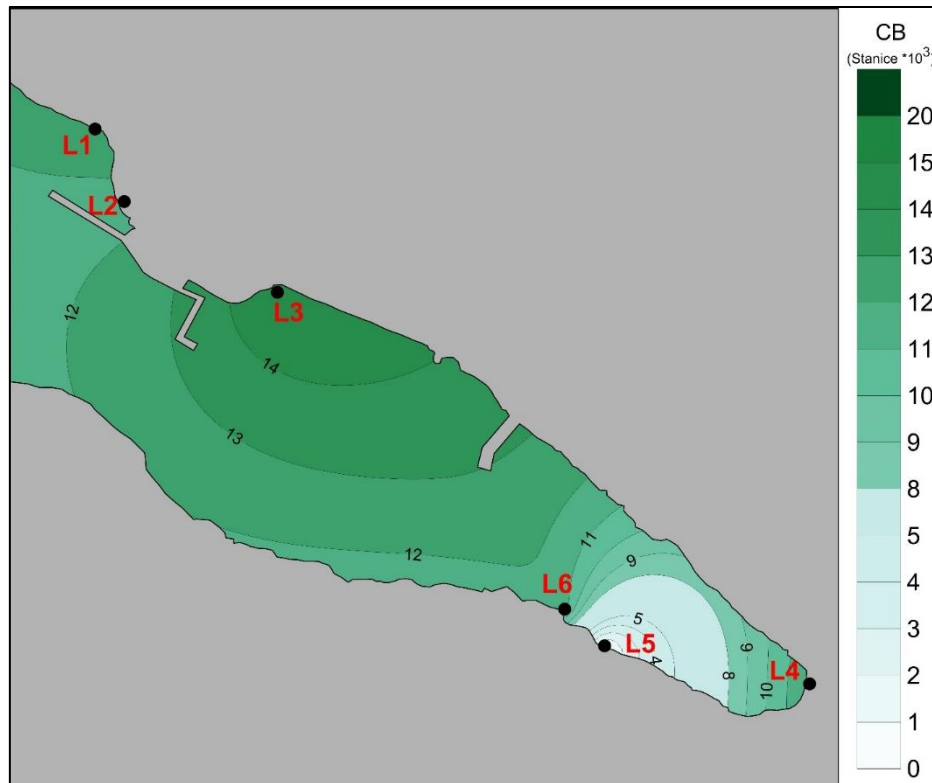
#### 5.3.1. Cijanobakterije

Najviša zabilježena koncentracija cijanobakterija u proljeće bila je  $8,408 \cdot 10^3$  stanica/mL na postaji L6, dok je na postaji L5 zabilježena najniža koncentracija od  $0,225 \cdot 10^3$  stanica/mL. Prosječna koncentracija cijanobakterija u proljeće iznosila je  $4,517 \cdot 10^3$  stanica/mL. Raspodjela koncentracije cijanobakterija u proljeće prikazana je na Slici 34.



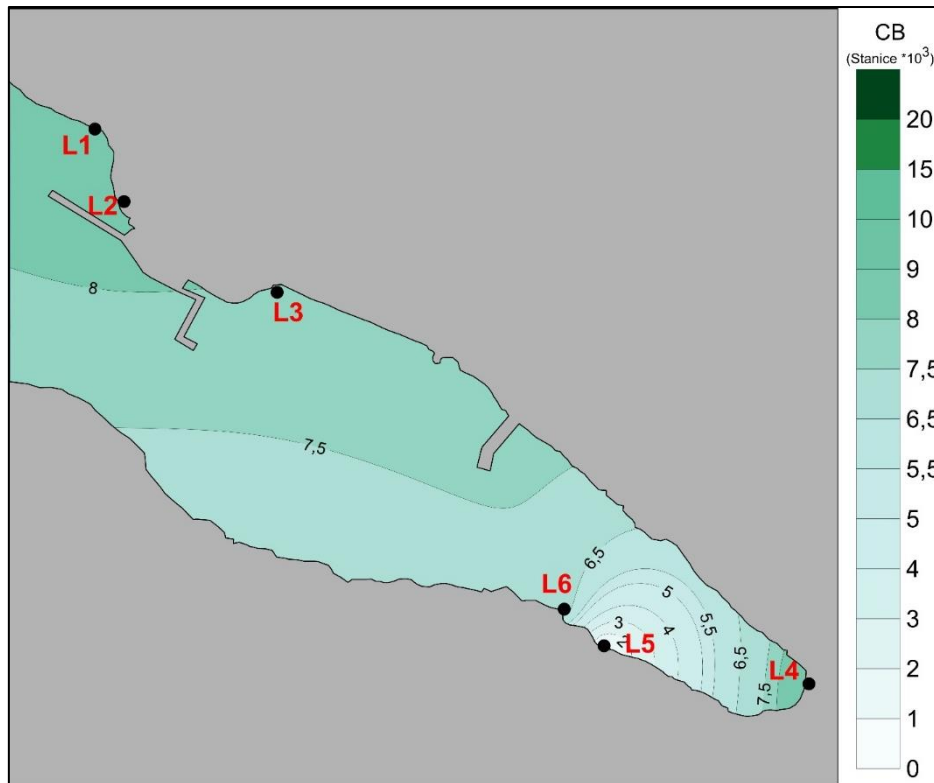
Slika 34. Raspodjela koncentracije cijanobakterija tijekom proljeća na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

Tijekom ljetnog uzorkovanja utvrđena je prosječna koncentracija cijanobakterija s vrijednošću od  $10,596 \cdot 10^3$  stanica/mL, pri čemu je najviša koncentracija od  $14,98 \cdot 10^3$  stanica/mL zabilježena u uzorku s postaje L3, dok je najniža koncentracija zabilježena na postaji L5 i iznosi  $0,843 \cdot 10^3$  stanica/mL. Na Slici 35. prikazana je raspodjela koncentracije cijanobakterija na istraživanom području.



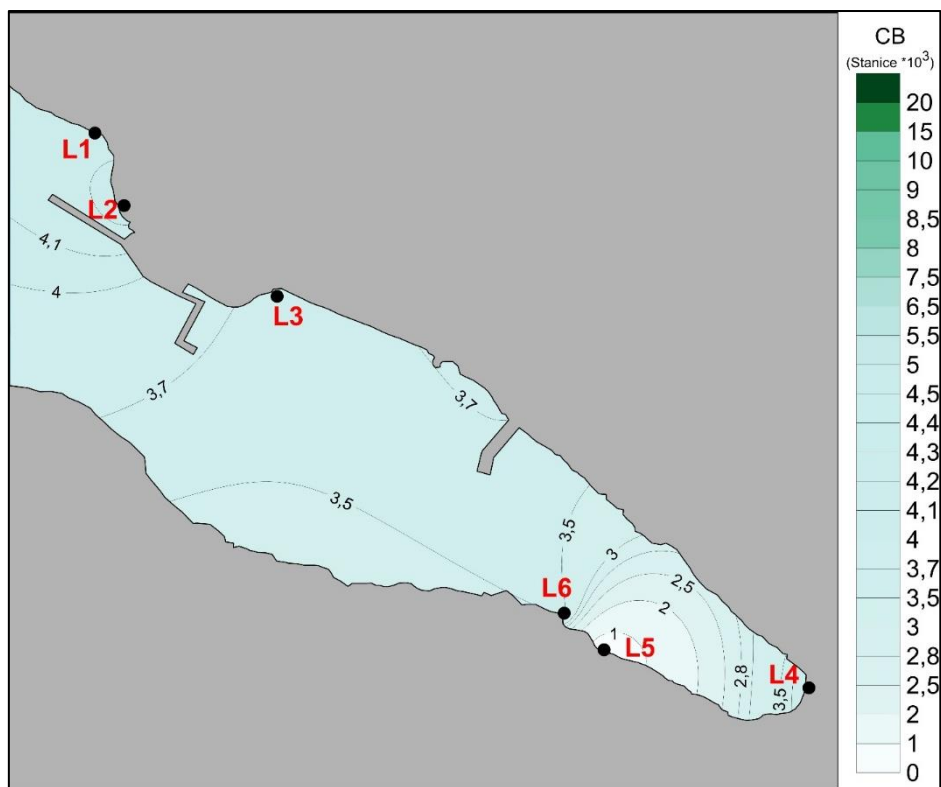
Slika 35. Raspodjela koncentracije cijanobakterija tijekom ljeta na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

Jesenskim uzorkovanjem utvrđena je koncentracija od  $9,125 \cdot 10^3$  stanica/mL na postaji L4 kao najviša koncentracija cijanobakterija na istraživanom području, dok je na postaji L5 utvrđena najniža koncentracija od  $0,72 \cdot 10^3$  stanica/mL. Prosječna vrijednost koncentracije prilikom jesenskog uzorkovanja bila je  $6,949 \cdot 10^3$  stanica/mL. Slika 36. prikazuje raspodjelu koncentracije cijanobakterija za jesen na istraživanom području.



Slika 36. Raspodjela koncentracije cijanobakterija tijekom jeseni na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

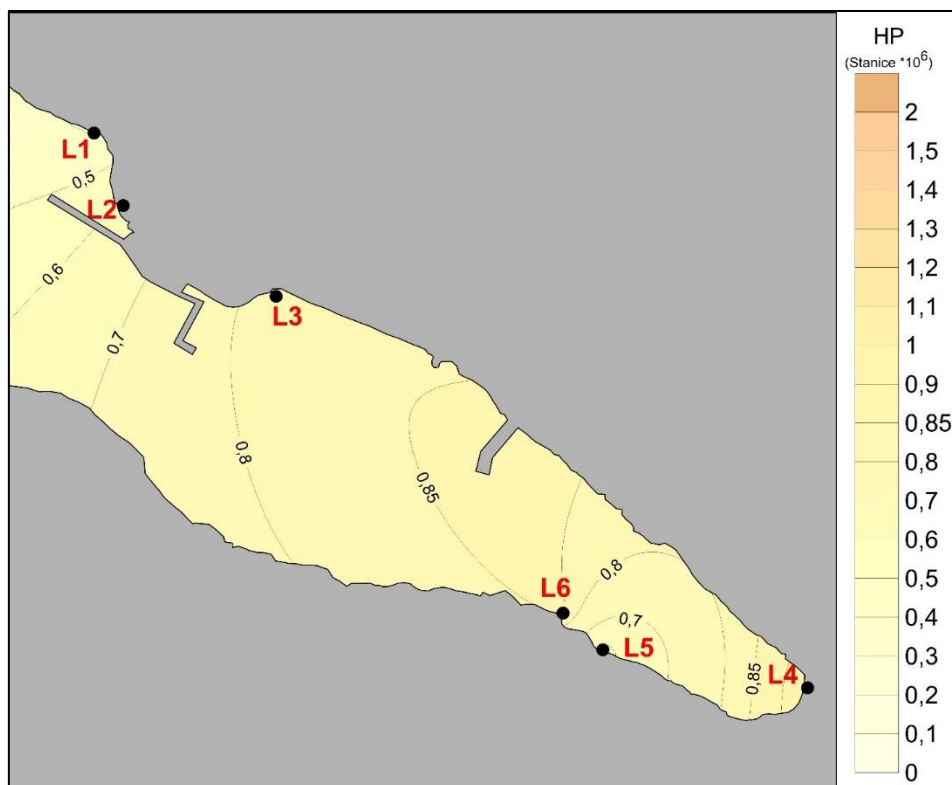
Prilikom zimskog uzorkovanja najviša koncentracija cijanobakterija bila je na postaji L2 s vrijednošću od  $4,251 \cdot 10^3$  stanica/mL, dok je najniža koncentracija iznosila  $0,1 \cdot 10^3$  stanica/mL na postaji L5. Prosječna vrijednost koncentracije istraživanog područja tijekom zime iznosila je  $3,283 \cdot 10^3$  stanica/mL. Slika 37. prikazuje raspodjelu koncentracije cijanobakterija za zimu na istraživanom području.



Slika 37. Raspodjela koncentracije cijanobakterija tijekom zime na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

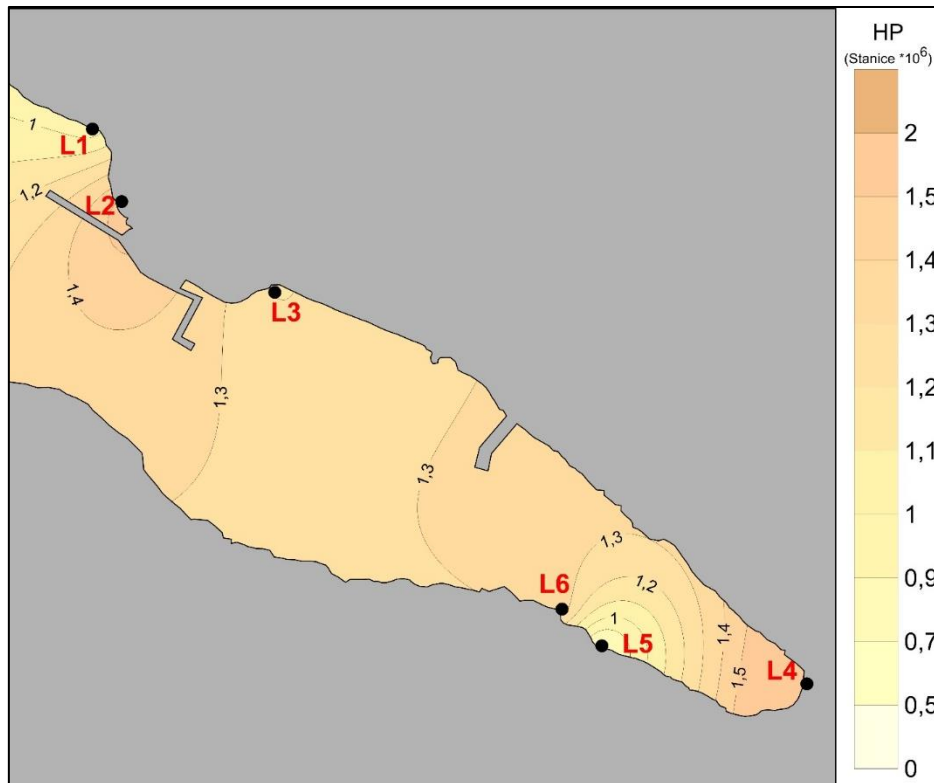
### 5.3.2. Heterotrofne bakterije (Heterotrofni prokarioti)

Prilikom proljetnog uzorkovanja najviša koncentracija heterotrofnih bakterija bila je na postaji L4 s vrijednošću od  $0,9388 \cdot 10^6$  stanica/mL, dok je najniža koncentracija iznosila  $0,3948 \cdot 10^6$  stanica/mL na postaji L1. Prosječna vrijednost koncentracije istraživanog područja tijekom proljeća iznosila je  $0,7066 \cdot 10^6$  stanica/mL. Slika 38. prikazuje raspodjelu koncentracije heterotrofnih bakterija za proljeće na istraživanom području.



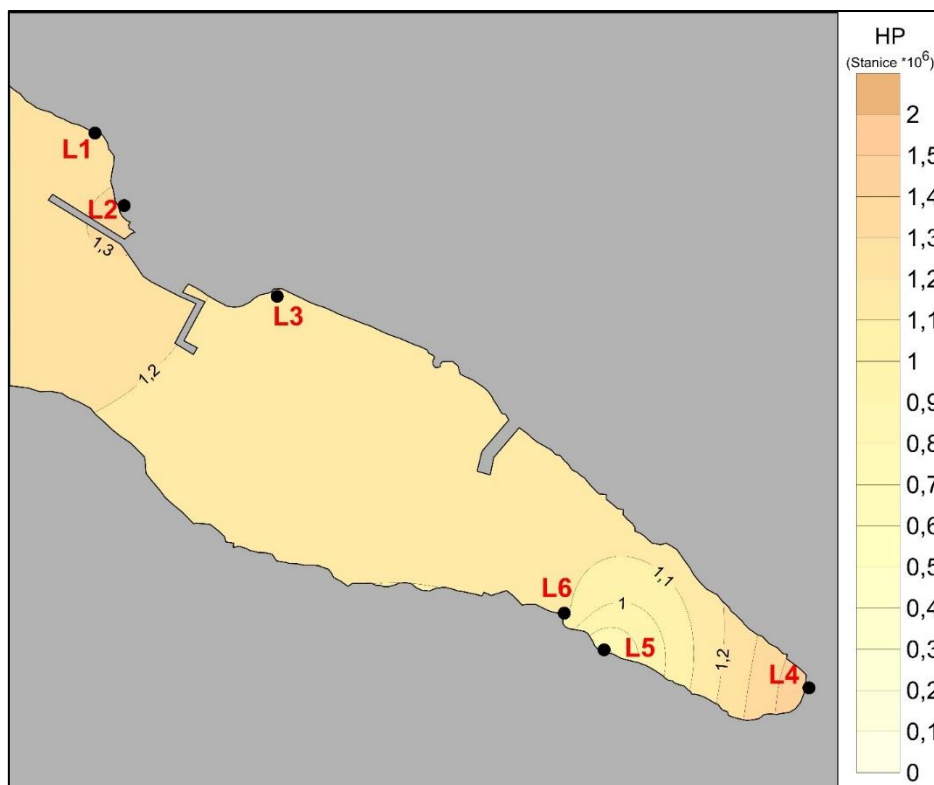
Slika 38. Raspodjela koncentracije heterotrofnih bakterija tijekom proljeća na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

Tijekom ljetnog uzorkovanja na postaji L4 zabilježena je najviša koncentracija heterotrofnih bakterija s vrijednošću od  $1,8441 \cdot 10^6$  stanica/mL, dok je najniža koncentracija iznosila  $0,7292 \cdot 10^6$  stanica/mL na postaji L5. Prosječna vrijednost koncentracije istraživanog područja tijekom ljeta iznosila je  $1,2754 \cdot 10^6$  stanica/mL. Slika 39. prikazuje raspodjelu koncentracije heterotrofnih bakterija za ljeto na istraživanom području.



Slika 39. Raspodjela koncentracije heterotrofnih bakterija tijekom ljeta na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

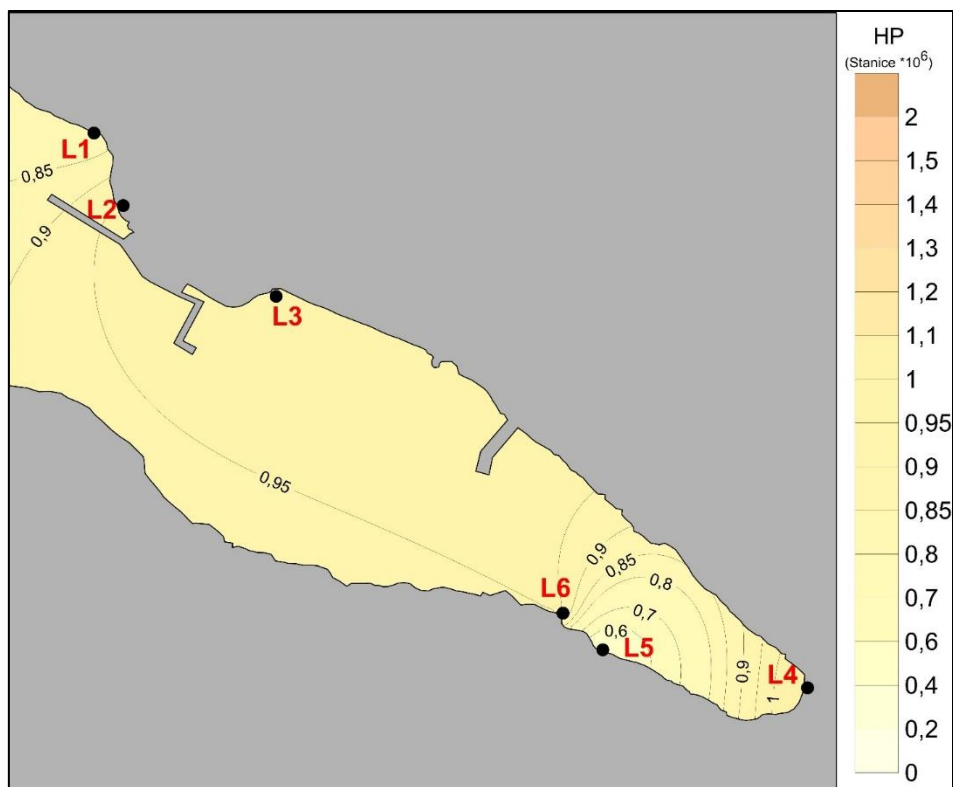
U jesen, prosječna koncentracija heterotrofnih bakterija istraživanog područja bila je  $1,1786 \cdot 10^6$  stanica/mL pri čemu je najviša koncentracija zabilježena na postaji L4 s vrijednošću od  $1,4987 \cdot 10^6$  stanica/mL, dok je najniža koncentracija od  $0,7663 \cdot 10^6$  stanica/mL zabilježena na postaji L5. Na Slici 40. prikazana je jesenska raspodjela koncentracije heterotrofnih bakterija istraživanog područja.



Slika 40. Raspodjela koncentracije heterotrofnih bakterija tijekom jeseni na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

Koncentracije heterotrofnih bakterija tijekom zime bile su u rasponu od 0,4239 do 1,0983 \*10<sup>6</sup> stanica/mL, pri čemu je najviša vrijednost bila na postaji L4, a najniža na postaji L5. Prosječna vrijednost koncentracije heterotrofnih bakterija za zimu iznosi 0,8746 \*10<sup>6</sup> stanica/mL. Na Slici 41. prikazana je zimska raspodjela koncentracije heterotrofnih bakterija istraživanog područja.

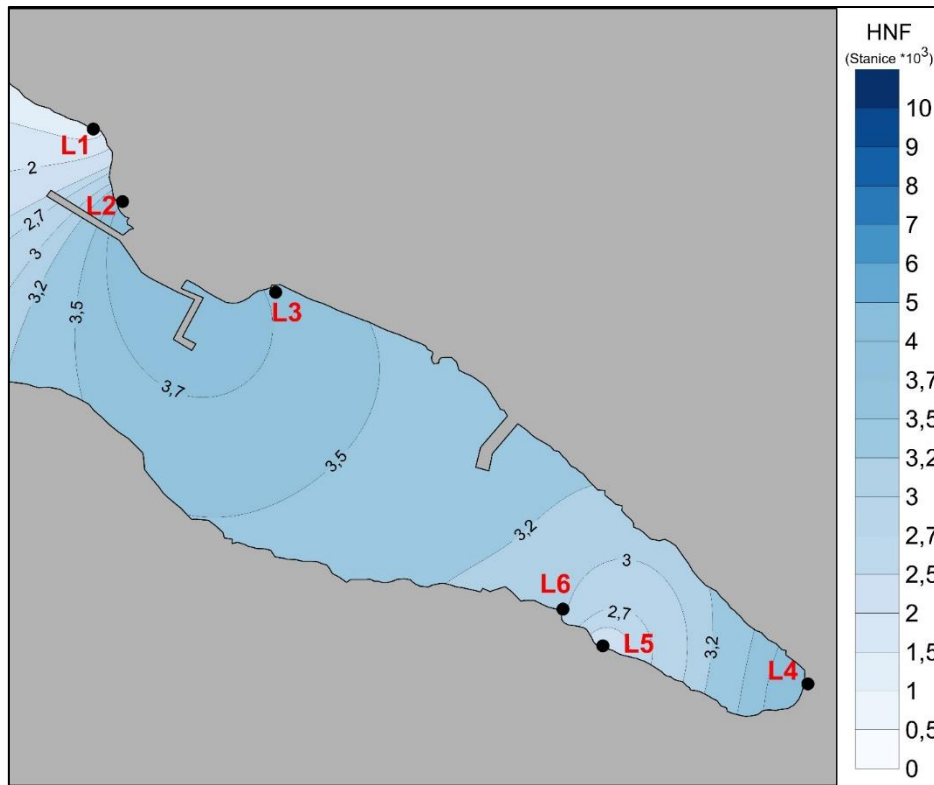




Slika 41. Raspodjela koncentracije heterotrofnih bakterija tijekom zime na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

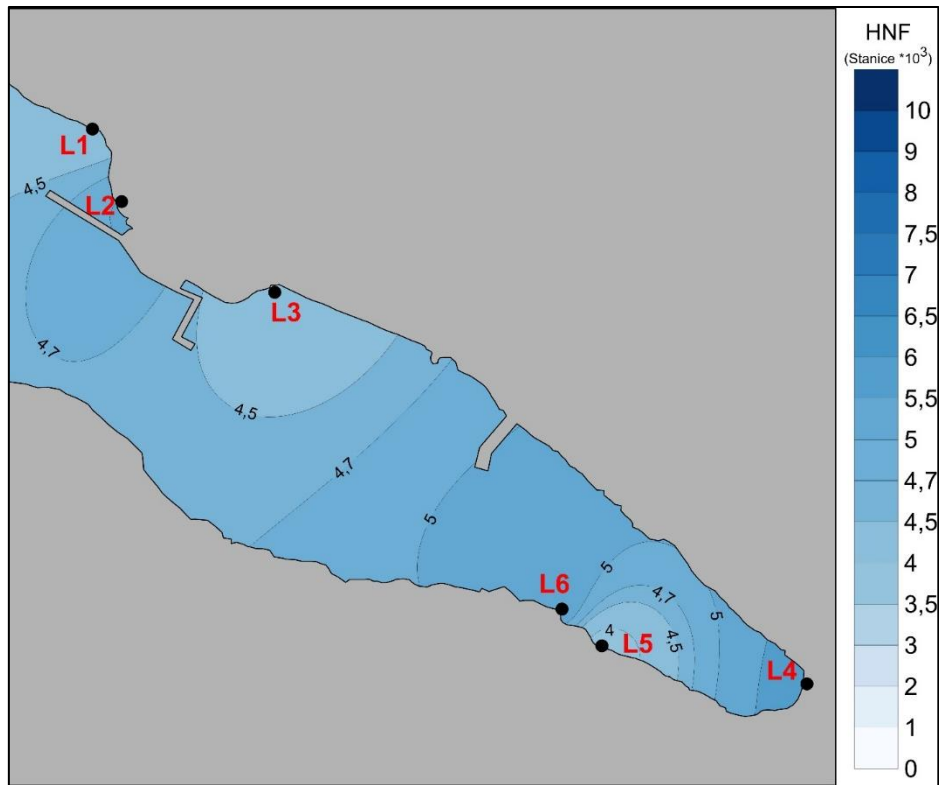
### 5.3.3. Heterotrofni nanofalagelati

U proljeće, najviša koncentracija heterotrofnih nanoflagelata bila je na postaji L4 s vrijednošću od  $4,013 \cdot 10^3$  stanica/mL, dok je najniža koncentracija zabilježena na postaji L1 od  $1,182 \cdot 10^3$  stanica/mL. Prosječna vrijednost koncentracije prilikom proljetnog uzorkovanja bila je  $3,024 \cdot 10^3$  stanica/mL. Raspodjela heterotrofnih nanoflagelata u proljeće prikazana je na Slici 42.



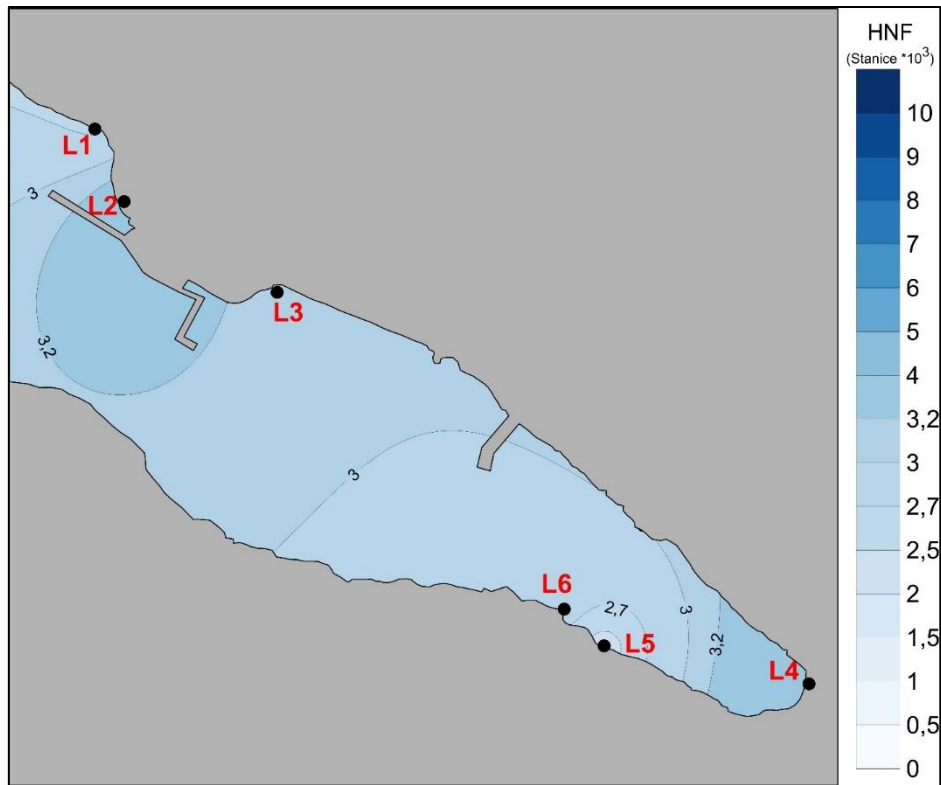
Slika 42. Raspodjela koncentracije heterotrofnih nanoflagelata tijekom proljeća na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

Tijekom ljeta, koncentracije heterotrofnih nanoflagelata kretale su se u rasponu od 3,462 do 6,044 \*10<sup>3</sup> stanica/mL, s prosječnom vrijednošću od 4,721 \*10<sup>3</sup> stanica/mL. Najviša koncentracija je ponovo zabilježena na postaji L4, a najniža na postaji L5. Raspodjela heterotrofnih nanoflagelata tijekom ljeta prikazana je na Slici 43.



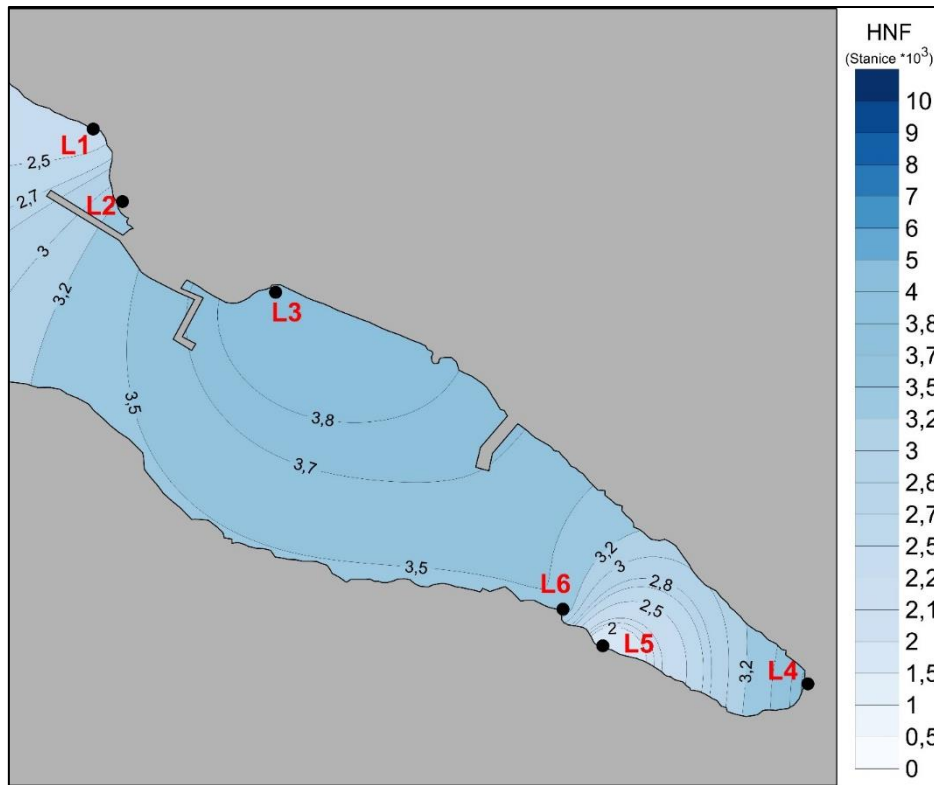
Slika 43. Raspodjela koncentracije heterotrofnih nanoflagelata tijekom ljeta na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

Koncentracija heterotrofnih nanoflagelata u jesen kretala se u rasponu od 2,361 do 3,887 \*10<sup>3</sup> stanica/mL pri čemu je najviša koncentracija zabilježena na postaji L4, a najniža na postaji L5. Prosječna vrijednost koncentracije heterotrofnih nanoflagelata u jesen iznosi 3,061 \*10<sup>3</sup> stanica/mL. Raspodjela heterotrofnih nanoflagelata u jesen prikazana je na Slici 44.



Slika 44. Raspodjela koncentracije heterotrofnih nanoflagelata tijekom jeseni na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

Zimskim uzorkovanjem utvrđena je prosječna koncentracija heterotrofnih nanoflagelata od  $3,0585 \cdot 10^3$  stanica/mL. Najviša zabilježena vrijednost iznosila je  $3,983 \cdot 10^3$  stanica/mL u uzorku s postaje L3, dok je najniža vrijednost od  $1,421 \cdot 10^3$  stanica/mL zabilježena u uzorku s postaje L5. Raspodjela heterotrofnih nanoflagelata u zimskom periodu prikazana je na Slici 45.



Slika 45. Raspodjela koncentracije heterotrofnih nanoflagelata tijekom zime na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022).

## 6. DISKUSIJA

Prosječne izmjerene vrijednosti temperature u površinskom, obalnom dijelu Limskog zaljeva kroz sezonska mjerenja ne odstupaju značajno od prosječnih vrijednosti temperatura otvorenog mora (Lipovscak i Lakoš, 2022; Hrvatska enciklopedija, 2021b), no ako se sagledaju pojedinačna mjerenja tada su odstupanja od prosjeka vidljiva. Postaja L5 kroz sva četiri mjerenja pokazuje približno konstantnu temperaturu od  $14,36 \pm 0,69$  °C usprkos sezonskim uvjetima, dok su na postaji L1 vrijednosti temperature vrlo slične onima s postaje L5. Konstante vrijednosti temperature vode na postaji L5 posljedica su izviranja slatke vode u more, kao što se to događa i na području drugih priobalnih i podvodnih izvora, poput onih u uvali Vrulja u akvatoriju Bračkog kanala (IRES, 2014). Također, prema istraživanju o vodama rijeke Mirne (Kodela Pacenti, 2020) navodi se kako nema značajnih kolebanja u temperaturi vode rijeke tijekom cijele godine, pri čemu je prosječna vrijednost temperature iznosila 11,3 °C, dok su prema Mlakić (2020) konstante temperature vode zabilježene na izvorima krških rijeka Cetine i Jadro koje služe za vodoopskrbu okolnog stanovništva. S obzirom na navedene podatke, dobiveni rezultati temperature izmjereni na postajama L5 i povremeno na L1 ukazuju na dotok kopnenih i podzemnih voda u Limski zaljev. Salinitet je u Limskom zaljevu značajno niži u odnosu na vrijednosti saliniteta Jadranskog mora i bazena sjevernog Jadrana. U Jadranskom moru prosječni salinitet iznosi oko 38‰ (Lipovscak i Lakoš, 2022; Hrvatska enciklopedija, 2021b) no, bazen sjevernog Jadrana ima niži salinitet od srednjeg i južnog Jadrana, oko 35‰ zbog utjecaj dotoka rijeke Po, posebice u proljeće i jesen (Supić i sur., 2004; Hrvatska enciklopedija, 2021b). Rezultati s postaje L5 ukazuju na izrazito nizak salinitet, čime se uočavaju sličnosti s Kodela Pacenti (2020) gdje je izrazito nizak salinitet uočen u estuariju rijeke Mirne, odnosno na ušću rijeke Mirne što jasno pokazuje dotok slatke vode u more. Također, Bajić (2019) navodi kao se u Raškom zaljevu u površinskom sloju uočava sniženi salinitet i do 8 km udaljenosti od ušća rijeke Raše u more, dok je pri dubini od 5 m salinitet više ujednačen. Postaja L1 također pokazuje snižene vrijednosti saliniteta, vrlo slične onima s postaje L5, u proljetnom i ljetnom periodu mjerenja. Međutim, povećavanje saliniteta u ostalim sezonama upućuje na smanjenu aktivnost vrulje, što je potvrđeno i očevitom. Saturacija kisikom tijekom mjerenja varira ovisno o postajama mjerenja i sezoni mjerenja. U proljeće i ljeto zabilježene su niže

koncentracije kisika od onih u jesen i zimu. Međutim, postaja L5 ponovno se ističe s najnižim postotcima saturacije kisikom tijekom ovog istraživanja. Uz navedenu postaju, na postaji L1 su u proljeće i ljeto izmjerene niske vrijednosti saturacije, vrlo slične onima s postaje L5. Prema Jendričko (2015) niža saturacija kisikom u vodi može ukazivati na slabiju prozračenost vodenih slojeva što je slučaj pri većim dubinama ili na organsku potrošnju kisika što je karakteristično kod otpadnih voda jer se bakterijskom razgradnjom organske tvari troši otopljeni kisik. U slučaju Lima može se pretpostaviti da niža saturacija kisikom na području vrulja je rezultat donosa podzemnih voda koje su siromašnije kisikom zbog toga što se u njima kisik potrošio bakterijskom respiracijom, nije odvijala fotosinteza i nije došlo do prozračivanja tijekom podzemnog toka voda. Prilikom mjerenja pH vrijednosti uočena su blaga smanjenja na postajama L5 i L1 što se može povezati sa većim koncentracijama ugljikovog dioksida u podzemnim vodama koje su zbog toga kiselije u odnosu na prirodno, blago lužnate morske vode. Kada se sagledaju rezultati hidrografskih parametara, postaja L5 se ističe prema više izmjerenih parametara. Kao što je prethodno spomenuto, relativno konstantne vrijednosti temperature i smanjeni salinitet na navedenoj postaji mogu ukazivati na dotok podzemnih slatkih voda u Limski zaljev.

Dobivene vrijednosti indikatora sanitarne kakvoće mora analizirane su prema Uredbi o kakvoći mora za kupanje (NN 73/2008) temeljem standarda za ocjenu kakvoće mora nakon svakog ispitivanja, čije su granične vrijednosti prikazane u Tablici 1. Prema brojnosti fekalnih streptokoka, odnosno crijevnih enterokoka, te prema brojnosti bakterije *E. coli*, sve postaje su tijekom svih mjerenja ocijenjene kao izvrsne s iznimkom postaja L1, L2 i L5 u proljetnom uzorkovanju, te postaje L2 u ljetnom uzorkovanju. Uzorci s postaje L1 u proljeće ocijenjeni su kao nezadovoljavajući, dok su uzorci s postaje L2 i L5 u proljeće, te L2 u ljeto ocijenjeni kao dobri. Povišene vrijednosti mjerenih parametara u proljeće za postaju L1 mogu ukazivati na dotok onečišćenih voda u Limski zaljev.

Raspodjela koncentracije cijanobakterija u Limskom zaljevu je poprilično ujednačena duž ispitivanog područja tijekom svih sezonskih mjerenja, uz iznimku u ljeto kada se uočava razlika na postaji L5 gdje koncentracija cijanobakterija najviše odstupa od prosjeka ljetnog mjerenja. U tom slučaju unos slatkih voda očito ne pogoduje rastu morskih cijanobakterija, a uz to, vode samih vrulja teško će sadržavati cijanobakterije s obzirom da se u njima ne može odvijati fotosinteza, zbog dužeg boravka u mraku

podzemlja. Osim prostornih razlika u distribuciji cijanobakterija, uočene su i sezonske razlike u prosječnim brojnostima tijekom godine pri čemu su koncentracije bile više u ljeto i jesen u odnosu na proljeće i zimu, što se može povezati sa dostupnosti svjetla i hranjivih soli. Prosječna brojnost heterotrofnih nanoflagelata u Limskom zaljevu, na temelju cjelogodišnjeg mjerenja, s vrijednošću od  $3,47 \cdot 10^3$  stanica/mL izrazito je povećana u odnosu na tipične vrijednosti za sjeverni Jadran dobivene u istraživanju Ivančić i sur. (2010) s vrijednošću od  $0,57 \cdot 10^3$  stanica/mL. Međutim, ako se usporede vrijednosti iz Limskog kanala sa onima izmjerenim u Raškom zaljevu ( $6,32 \cdot 10^3$  stanica/mL) (Bajić, 2019) i u estuariju Mirne ( $2 - 3,12 \cdot 10^3$  stanica/mL) (Kodela Pacenti, 2020) vidimo da su relativno bliske. Vrijednosti brojnosti heterotrofnih prokariota u Limskom zaljevu slične su izmjerenim vrijednostima na ušću rijeke Po (Zaccone i sur., 2002), međutim ako ih usporedimo sa vrijednostima otvorenog mora sjevernog Jadrana (Ivančić i sur., 2010) vrijednosti dobivene u ovom istraživanju više su od prosječnih. Povišene vrijednosti u odnosu na Ivančić i sur. (2010) mogu se objasniti time da su estuariji pogodnija područja zarast prokariota u odnosu na otvoreno more, zbog viših koncentracija organske tvari i hranjivih soli.

Gledajući sezonsku dinamiku, mogu se vidjeti razlike u brojnosti pojedinih mikrobioloških parametara u ovisnosti o godišnjem dobu. Brojnost heterotrofnih prokariota ujednačena je tijekom proljeća i zime, te tijekom ljeta i jeseni pri čemu je brojnost tijekom proljeća i zime znatno smanjena u odnosu na ljeto i jesen. Brojnost heterotrofnih nanoflagelata tijekom godine je poprilično ujednačena osim u ljetnim mjesecima kada brojnost dostiže maksimum te je znatno povećana u odnosu na preostale periode mjerenja. Cijanobakterije imaju najnižu brojnost tijekom zimskih mjeseci te se tijekom proljeća brojnost povećava i dostiže maksimum u ljetnim mjesecima. Potkraj ljeta i tijekom jeseni brojnost se postepeno smanjuje sve do minimuma u zimskom periodu. Što se tiče brojnosti sanitarnih indikatora, gledajući prosječne vrijednosti tijekom mjerenja, najviše koncentracije bakterije *E. coli* zabilježene su u proljeće, kao što je to slučaj i s fekalnim streptokokima. Bakterija *E. coli* najnižu koncentraciju pokazuje tijekom zime, pri čemu je koncentracija tijekom jeseni povišena u odnosu na koncentraciju tijekom ljeta. Najniža koncentracija fekalnih streptokoka zabilježena je tijekom jeseni i zime, dok je u ljetnim mjesecima koncentracija viša, međutim u usporedbi s proljećem je znatno niža.



Uzevši u obzir sve navedene podatke, može se razlučiti kako se je postavljena hipoteza o značajnom utjecaju vrulja na hidrografske parametre i brojnost mikrobne zajednice u površinskom djelu Limskog zaljeva pokazala točnom. Vrulje utječu na osnovne hidrografske parametre čime Limski zaljev postaje drugačiji ekosustav u odnosu na onaj u otvorenom moru čiji specifični uvjeti pogoduju morskoj mikrobnoj zajednici. Također, referirajući se na vrijednosti dobivene na postajama L1 i L5, točnom se je pokazala i druga postavljena hipoteza da obalne vrulje u Limskom zaljevu predstavljaju potencijalni izvor fekalnih bakterija.

## 7. ZAKLJUČAK

Temeljem provedenog istraživanja može se zaključiti da u obalnom dijelu Limskog zaljeva dotok slatke vode putem vrulja dovodi do promjena hidrografskih uvjeta čime nastaju specifični uvjeti ekosustava, poput snižene temperature i saliniteta. Takvi uvjeti čine pogodnu sredinu za rast i razvoj morske mikrobne zajednice što rezultira visokom biološkom produkcijom. Također, u slatkim vodama vrulja koje se ulijevaju u Limski zaljev, povremena prisutnost većih koncentracija fekalnih indikatora ukazuje na postojanje nepoželjnih izvora fekalnog onečišćenja u široj okolini Limske drage koji negativno utječu na sanitarnu kvalitetu voda vrulja, a time i okolnog mora. Stoga, područja oko vrulja pod povećanim su rizikom u kontekstu potencijalne fekalne kontaminacije i trebala bi biti redovito praćena kako bi se očuvalo ljudsko zdravlje kupaca, ali i mogućih potrošača školjkaša koji se uzgajaju u neposrednoj blizini. Uz to, trebao bi identificirati izvore onečišćenja, koji su najvjerojatnije nepropisne septičke jame okolnih sela i intervenirati u njihovoj sanaciji kako bi se riješio sam korijen problema.

Limski zaljev, kao poseban rezervat u moru, priznat je kao specifično i izrazito važno stanište za mnoge vrste. S obzirom na status zaštite i na ekološki, kulturološki i ekonomski značaj ovog područja, potrebno ga je očuvati od sve više prisutnog antropogenog onečišćenja kako bi i dalje zadržao svoju jedinstvenu i vrijednu ekološku, turističko – rekreativnu, estetsku i prehrambenu ulogu.

## 8. POPIS LITERATURE

**Bajić I.** (2019) Dinamika hranjivih soli i mikrobne zajednice. Završni rad. Sveučilište Jurja Dobrile u Puli. Dostupno na <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:137:678597>

**Benac Č., Rubinić J., Ružić I., Radišić M.** (2017) Geomorfološka evolucija riječnih dolina i ušća na istarskom poluotoku. *Hrvatske vode* 25 (100): 71 – 80 pp.

**Bosch A., Abad F. X., Pintó R. M.** (2005) Human Patogenic Viruses in the Marine Environment. In: Belkin S., Colwell R.R. (editors) *Oceans and Health: Pathogens in the Marine Environment*. Springer, Boston, MA. p. 109 – 125.

**Boživčević S.** (2020) Limski zaljev (Limski kanal). Istarska enciklopedija. Internet, dostupno na <https://www.istrapedia.hr/hr/natuknice/79/limski-zaljev-limski-kanal> (Pristupljeno 31.08. 2021.)

**Brettar I., Guzman C.A., Höfle M.G.** (2006) Human pathogens in the marine environment – an ecological perspective. In: CIESM Workshop Monographs No. 31: *Marine Sciences and Public Health*, Geneva (Switzerland) CIESM 2007, p. 59 – 68.

**Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje** (2021) Rijas. Leksikografski zavod Miroslav Krleža. Internet, dostupno na <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=52860> (Pristupljeno 31.08. 2021.)

**Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje** (2021a) Estuarij. Leksikografski zavod Miroslav Krleža. Internet, dostupno na <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=18450> (Pristupljeno 13.04. 2022.)

**Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje** (2021b) Jadransko more. Leksikografski zavod Miroslav Krleža. Internet, dostupno na <https://enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=28478> (Pristupljeno 27.07. 2022.)

**Institut za istraživanje i razvoj održivih eko sustava – IRES** (2014) Studija za Glavnu ocjenu prihvatljivosti za ekološku mrežu, Sanacija obale i rekonstrukcija zaštitnih gatova u svrhu zaštite ljudskog zdravlja i imovine u uvali Vrulja.

**Ivančić I., Fuks D., Najdek M., Blažina M., Devescovi M., Šilović T., Paliaga P., Orlić S.** (2010) Long-term changes in heterotrophic prokaryotes abundance and

growth characteristics in the northern Adriatic Sea. *Journal of Marine Systems* 82 (2010): 206–216 pp.

**Jendričko V.** (2015) Pročišćavanje otpadnih voda. Završni rad. Veleučilište u Karlovcu. Dostupno na <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:128:163396>

**Kaćan L.** (2021) Fenomen vrulja kao izvora slatke vode u moru. Diplomski rad. Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu. Sveučilište u Zadru. Dostupno na <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:162:899316>

**Kodela Pacenti I.** (2020) Mikrobiološko stanje estuarija rijeke Mirne. Završni rad. Sveučilište Jurja Dobrile u Puli. Dostupno na <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:137:438552>

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

**Lipovscak B., Lakoš S.** (2022) Meteorološki priručnik za nautičare. Internet, dostupno na <http://lipovscak.com/meteo/more.html> (Pristupljeno 27.07. 2022.)

**Ministarstvo gospodarstva i održivog razvoja** (2021) Kakvoća mora za kupanje na plažama hrvatskog Jadrana. Ministarstvo gospodarstva i održivog razvoja Republike Hrvatske. Internet, dostupno na <https://mingor.gov.hr/o-ministarstvu-1065/djelokrug/uprava-vodnoga-gospodarstva-i-zastite-mora-2033/kakvoca-mora-za-kupanje-na-plazama-hrvatskog-jadrana/1450> (Pristupljeno 15.04. 2022.)

**Mlakić A.** (2020) Kemijska analiza vode za piće. Završni rad. Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet. Dostupno na <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:157232>

**Munn C.B.** (2005) Pathogens in the Sea: An Overview. In: Belkin S., Colwell R.R. (editors) *Oceans and Health: Pathogens in the Marine Environment*. Springer, Boston, MA. p. 1 – 28.

**Narodne Novine** (2005) Plan praćenja kvalitete mora i školjkaša na područjima uzgoja, izlova i ponovnog polaganja školjkaša (NN 53/2005). *Narodne novine* d.d., 1007. Internet, dostupno na [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2005\\_04\\_53\\_1007.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2005_04_53_1007.html) (Pristupljeno 15.04. 2022.)

**Narodne Novine** (2008) Uredba o kakvoći mora za kupanje (NN 73/2008). *Narodne novine* d.d., 2426. Internet, dostupno na [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2008\\_06\\_73\\_2426.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2008_06_73_2426.html) (Pristupljeno 15.04. 2022.)

**National Oceanic and Atmospheric Administration – NOAA** (2022) Estuary Habitat. U.S. Department of Commerce. Internet, dostupno na <https://www.fisheries.noaa.gov/national/habitat-conservation/estuary-habitat>

(Pristupljeno 13.04. 2022.)

**Paliaga P.** (2015) Akumulacija i postojanost fekalnoga onečišćenja u rovinjskom priobalju. Doktorska disertacija. Geološki odsjek, prirodoslovno – matematički fakultet. Sveučilište u Zagrebu. Dostupno na <https://dr.nsk.hr/islandora/object/pmf:242>

**Paljar I., Janjanin L., Perić V., Kuhar G., Mišković D., Carlin A.** (2017) Prostorno programska osnova Linskog zaljeva i Limske drage. Javna ustanova Zavod za prostorno uređenje Istarske županije.

**Sinton W.L.** (2005) Biotic and Abiotic Effects. In: Belkin S., Colwell R.R. (editors) Oceans and Health: Pathogens in the Marine Environment. Springer, Boston, MA. p. 69 – 92.

**Supić N., Grbec B., Vilibić I., Ivančić I.** (2004) Long-term changes in hydrographic conditions in northern Adriatic and its relationship to hydrological and atmospheric processes. *Annales Geophysicae* 22 (2004): 733 – 745 pp.

**Šafarek G.** (2022) Ušća rijeka. Priroda Hrvatske. Internet, dostupno na <https://priodahrvatske.com/usca-rijeka/> (Pristupljeno 07.07. 2022.)

**Thompson J.R., Marcelino L.A., Polz M.F.** (2005) Diversity, Sources, and Detection of Human Bacterial Pathogens in Marine Environment. In: Belkin S., Colwell R.R. (editors) Oceans and Health: Pathogens in the Marine Environment. Springer, Boston, MA. p. 29 – 68.

**United States Environmental Protection Agency – EPA** (2022) Basic Information about Estuaries. Official website of the United States government. Internet, dostupno na <https://www.epa.gov/nep/basic-information-about-estuaries> (Pristupljeno 13. 04. 2022.)

**Vukušić M.** (2019) Mikrobiološka analiza vode iz Riječke luke i ušća Rječine. Završni rad. Sveučilište Jurja Dobrile u Puli. Dostupno na <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:137:169133>

**Yi J., Lo Him Shing L., Cheng J.** (2020) Dynamics of Microbial Community Structure and Ecological Functions in Estuarine Intertidal Sediments. *Frontiers in Marine Science* 7: 585970.

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

## 9. POPIS SLIKA

Slika 1. Fotografija Linskog zaljeva (Izvor: Vladimir Bugarin, Istarska enciklopedija, 2012) .....	2
Slika 2. Objekt i pomoćni objekt za uzgoj školjkaša (Izvor: vlastita fotografija, 2022). 3	
Slika 3. Shematski prikaz puteva enterovirusa kroz morski okoliš (Izvor : Prilagođeno prema Bosch i sur., 2005).....	11
Slika 4. Mapa s postajama uzorkovanja (Izvor: prilagođeno s mape Bioportala, <a href="https://www.bioportal.hr/gis/">https://www.bioportal.hr/gis/</a> , 2022) .....	19
Slika 5. Sonda za određivanje hidrografskih parametara (Izvor: vlastita fotografija, 2022) .....	21
Slika 6. Oprema za filtraciju uzoraka (Izvor: vlastita fotografija, 2022) .....	22
Slika 7. Izrasle kolonije fekalnih koliforma (ružičasta boja) i E. coli (plava boja) na postaji L4 – jesensko uzorkovanje (Izvor: vlastita fotografija, 2022) .....	23
Slika 8. Izrasle kolonije fekalnih streptokoka na postaji L1 – jesensko uzorkovanje (Izvor: vlastita fotografija, 2022).....	24
Slika 9. Morska mikrobna zajednica na epifluorescentnom mikroskopu pod UV svjetlom na povećanju od 1000 X (Izvor: vlastita fotografija, 2022) .....	25
Slika 10. Raspodjela i vrijednosti temperature za razdoblje proljeća na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	26
Slika 11. Raspodjela i vrijednosti temperature za razdoblje ljeta na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	27
Slika 12. Raspodjela i vrijednosti temperature za razdoblje jeseni na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	28
Slika 13. Raspodjela i vrijednosti temperature za razdoblje zime na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	29
Slika 14. Raspodjela i vrijednosti saliniteta za razdoblje proljeća na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	30
Slika 15. Raspodjela i vrijednosti saliniteta za razdoblje ljeta na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	31
Slika 16. Raspodjela i vrijednosti saliniteta za razdoblje jeseni na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	32

Slika 17. Raspodjela i vrijednosti saliniteta za razdoblje zime na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	33
Slika 18. Raspodjela saturacije kisikom istraživanog područja u proljetnom periodu (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	34
Slika 19. Raspodjela saturacije kisikom istraživanog područja u ljetnom periodu (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	35
Slika 20. Raspodjela saturacije kisikom istraživanog područja u jesenskom periodu (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	36
Slika 21. Raspodjela saturacije kisikom istraživanog područja u zimskom periodu (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	37
Slika 22. Raspodjela pH vrijednosti na istraživanom području u proljetnom periodu (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	38
Slika 23. Raspodjela saturacije kisikom istraživanog područja u ljetnom periodu (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	39
Slika 24. Raspodjela saturacije kisikom istraživanog područja u jesenskom periodu (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	40
Slika 25. Raspodjela saturacije kisikom istraživanog područja u zimskom periodu (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	41
Slika 26. Raspodjela koncentracije <i>E. coli</i> tijekom proljeća na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	42
Slika 27. Raspodjela koncentracije <i>E. coli</i> tijekom ljeta na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	43
Slika 28. Raspodjela koncentracije <i>E. coli</i> tijekom jeseni na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	44
Slika 29. Raspodjela koncentracije <i>E. coli</i> tijekom zime na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	45
Slika 30. Raspodjela koncentracije fekalnih streptokoka tijekom proljeća na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	46
Slika 31. Raspodjela koncentracije fekalnih streptokoka tijekom ljeta na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	47
Slika 32. Raspodjela koncentracije fekalnih streptokoka tijekom jeseni na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	48
Slika 33. Raspodjela koncentracije fekalnih streptokoka tijekom zime na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	49



Slika 34. Raspodjela koncentracije cijanobakterija tijekom proljeća na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	50
Slika 35. Raspodjela koncentracije cijanobakterija tijekom ljeta na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	51
Slika 36. Raspodjela koncentracije cijanobakterija tijekom jeseni na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	52
Slika 37. Raspodjela koncentracije cijanobakterija tijekom zime na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	53
Slika 38. Raspodjela koncentracije heterotrofnih bakterija tijekom proljeća na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	54
Slika 39. Raspodjela koncentracije heterotrofnih bakterija tijekom ljeta na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	55
Slika 40. Raspodjela koncentracije heterotrofnih bakterija tijekom jeseni na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	56
Slika 41. Raspodjela koncentracije heterotrofnih bakterija tijekom zime na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	57
Slika 42. Raspodjela koncentracije heterotrofnih nanoflagelata tijekom proljeća na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	58
Slika 43. Raspodjela koncentracije heterotrofnih nanoflagelata tijekom ljeta na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	59
Slika 44. Raspodjela koncentracije heterotrofnih nanoflagelata tijekom jeseni na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	60
Slika 45. Raspodjela koncentracije heterotrofnih nanoflagelata tijekom zime na istraživanom području (Izvor: vlastita slika, 2022). .....	61

## 10. POPIS TABLICA

Tablica 1. Standardi za ocjenu kakvoće mora (*bik – broj izraslih kolonija).....	6
Tablica 2. Standardi za ocjenu kakvoće mora na kraju sezone kupanja (*bik – broj izraslih kolonija) .....	6
Tablica 3. Prikaz patogenih bakterija i njihovog štetnog učinka za čovjeka .....	8
Tablica 4. Prikaz patogenih virusa i njihovog štetnog učinka za čovjeka .....	11

## 11. SAŽETAK

Područja estuarija od velikog su ekološkog, estetskog, ekonomskog i kulturološkog značaja te kao takvi spadaju među najproduktivnije i najdinamičnije ekosustave na Zemlji. Zbog specifičnih uvjeta kao što su miješanja vodenih masa različitog saliniteta i obilja hranjivih tvari prisutnih na tom području, estuariji se smatraju vrlo važnim staništima za mnoge vrste kopnenih i vodenih organizama što ih čini staništima s izrazito visokom biološkom raznolikošću. Primjer takvog područja nalazi se na zapadnoj obali Istre, poznato pod nazivom Limski zaljev. Unutrašnje područje Limskog zaljeva pod jakim je utjecajem vrulja što ga čini izrazito biološki produktivnim područjem. U ovom istraživanju pratili su se hidrografski parametri – temperatura, salinitet, pH vrijednost i saturacija kisikom i mikrobiološki pokazatelji poput brojnosti morske mikrobne zajednice, te je provedena sanitarna kontrola mora kroz četiri godišnja doba. Postavljena hipoteza o značajnom utjecaju vrulja na hidrografske parametre i brojnost mikrobne zajednice u površinskom dijelu zaljeva, te hipoteza da obalne vrulje u Limskom zaljevu predstavljaju potencijalni izvor fekalnih bakterija potvrđene su dobivenim rezultatima. Temeljem provedenog istraživanja može se zaključiti da u obalnom dijelu Limskog zaljeva dotok slatkih i hladnih voda putem vrulja dovodi do promjena hidrografskih uvjeta čime nastaju specifični uvjeti ekosustava koji su pogodni heterotrofnoj komponenti mikrobne zajednice. Uz to, povremena prisutnost većih koncentracija fekalnih indikatora u slatkoj vodi iz vrulja negativno utječe na sanitarnu kvalitetu mora u zaljevu. Potrebno je provoditi redovne sanitarne kontrole mora i precizno identificirati i sanirati izvore fekalnog onečišćenja u svrhu očuvanja od antropogenog onečišćenja ovog posebnog rezervata u moru.

## 12. SUMMARY

Estuary areas are of great ecological, aesthetic, economic and cultural importance and as such are among the most productive and dynamic ecosystems on Earth. Due to specific conditions such as the mixing of water masses of different salinity and the abundance of nutrients present in the area, estuaries are considered very important habitats for many types of terrestrial and aquatic organisms, which makes them habitats with an extremely high biological diversity. An example of such an area is located on the west coast of Istria, known as the Lim Bay. The inner area of the Lim Bay is strongly influenced by underwater freshwater springs, which makes it an extremely biologically productive area. In this research, hydrographic parameters were monitored - temperature, salinity, pH value and oxygen saturation, and microbiological indicators such as the abundance of the marine microbial community, and sanitary control of the sea was carried out through four seasons. The hypothesis about the significant influence of underwater freshwater springs on hydrographic parameters and the abundance of the microbial community in the surface part of the bay, and the hypothesis that coastal underwater freshwater springs in the Lim Bay represent a potential source of fecal bacteria, were confirmed by the obtained results. Based on the conducted research, it can be concluded that in the coastal part of the Lim Bay, the inflow of fresh and cold water through underwater freshwater springs leads to changes in hydrographic conditions, which creates specific ecosystem conditions that are suitable for the heterotrophic component of the microbial community. In addition, the occasional presence of higher concentrations of fecal indicators in fresh water from underwater freshwater springs negatively affects the sanitary quality of the sea in the bay. It is necessary to carry out regular sanitary controls of the sea and precisely identify and remediate the sources of fecal pollution in order to protect this special reserve in the sea from anthropogenic pollution.