Mikrobiološka analiza vode u Riječkoj luci i ušću Rječine

Vukušić, Marin

Undergraduate thesis / Završni rad

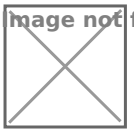
2019

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:137:169133

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

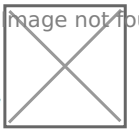
Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Digital Repository Juraj Dobrila University of Pula





Sveučilište Jurja Dobrile u Puli

Preddiplomski sveučilišni studij Znanost o moru

Pula

Marin Vukušić

MIKROBIOLOŠKA ANALIZA VODE IZ RIJEČKE LUKE I UŠĆA RJEČINE

Završni rad

Pula, 2019.

Sveučilište Jurja Dobrile u Puli

Preddiplomski sveučilišni studij Znanost o moru

Pula

Marin Vukušić

MIKROBIOLOŠKA ANALIZA VODE IZ RIJEČKE LUKE I UŠĆA RJEČINE

Završni rad

Ime i prezime: Marin Vukušić

JMBAG: 0303068261, redoviti student

Studijski smjer: Znanost o moru

Kolegij: Mikrobiologija

Mentor: doc.dr.sc Paolo Paliaga,

Komentor: doc.dr.sc Gioconda Millotti

Pula, 2019.

IZJAVA O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, dolje potpisan MARIN VUKUŠIĆ, kandidat za prvostupnika ZNANOSTI O MORU ovime izjavljujem da je ovaj Završni rad rezultat isključivo mojega 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

_____

U Puli, _____2019. godine

IZJAVA

o korištenju autorskog djela

Ja, MARIN VUKUŠIĆ dajem odobrenje Sveučilištu Jurja Dobrile u Puli, kao nositelju prava iskorištavanja, da moj završni rad pod nazivom MIKROBIOLOŠKA ANALIZA VODE IZ RIJEČKE LUKE I UŠĆA RJEČINE 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 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, _____ (datum)

Potpis

_____

Sadržaj

1. Uvod……...1
2. Ciljevi istraživanja……..2
3. Literaturni pregled……..3
   - 3.1. Sanitarna kakvoća mora……..……..3
   - 3.2. Indikatori kakvoće mora……..……..5
     - 3.2.1. Ukupni (totalni) koliformi (UK)…….……..7
     - 3.2.2. Fekalni koliformi (FK)…….……..7
       - 3.2.2.1. Bakterija *Escherichia coli*……7
     - 3.2.3. Fekalni streptokoki (FS)……..……..8
   - 3.3. Bakterijske zajednice u moru…….……..8
     - 3.3.1. Heterotrofne bakterije……8
     - 3.3.2. Cijanobakterije……..10
     - 3.3.3. Flagelati……..…..……11
4. Metode i materijali……...……..……...12
   - 4.1. Područje istraživanja……12
     - 4.1.1. Rijeka……..13
       - 4.1.1.1. Rječina……13
       - 4.1.1.2. Mrtvi kanal……..14
       - 4.1.1.3. Riječka luka……..……15
   - 4.2. Uzorkovanje……..……..16
   - 4.3. Hidrografski uvjeti……..……..…….16
   - 4.4. Sanitarna kakvoća mora…….……16
   - 4.5. Brojnost heterotrofnih bakterija, heterotrofnih nanoflagelata i cijanobakterija……...……..……..……..……17
5. Rezultati i diskusija……..……..……...18
   - 5.1. Rezultati…….……...18
     - 5.1.1. Temperatura……..……..……..18
     - 5.1.2. Salinitet…….……20
     - 5.1.3. Koncentracija *E. coli*……..…….……22
     - 5.1.4. Koncentracija fekalnih streptokoka (FS)…….…..23
     - 5.1.5. Koncentracija heterotrofnih bakterija……..……...24
     - 5.1.6. Koncentracija heterotrofnih nanoflagelata…..……...25
     - 5.1.7. Koncentracija cijanobakterija……..…….26
   - 5.2. Diskusija……27
6. Zaključak…….……30
7. Literatura i internetski izvori……..……...31

1. Uvod

Otpadne vode potječu iz kućanstava naselja i gradova, tvornica, industrijskih pogona ili poljoprivrednih djelatnosti. Njihovim ispuštanjem, putem kanalizacije ili izravnim ispiranjem tla, površinske kopnene vode i more mogu se zagaditi, odnosno može doći do smanjenja uporabne vrijednosti vodenoga sustava (akvatorija) u koji dospijevaju (enciklopedija.hr 01. prosinca 2019). Opasnost od zagađivanja sprječava se tehnološkim postupcima pročišćivanja otpadnih voda načinom prilagođenim njihovu sastavu. Otpadne vode predstavljaju velike probleme za područja u kojima se nalaze jer dovode do akumulacije organskog materijala, hranjivih soli, teških metala i patogenih mikroorganizama (Banić 2017).

Grad Rijeka je u 19. stoljeću, pripajanjem Mađarskoj postalo važno pomorsko i industrijsko središte Austro-Ugarske Monarhije. Povećanjem populacije i industrijalizacijom raslo je ispuštanje otpadnih voda kanalizacijskog i industrijskog porijekla (Tvornica papira – Hartera i rafinerija nafte na Mlaci) dok je razvojem pomorskog prometa povećano direktno ispuštanje otpada i otpadnih voda iz brodova u Riječkoj luci.

Danas u gradu Rijeci industrijske su aktivnosti značajno smanjene gašenjem rafinerije nafte na Mlaci i Tvornice papira – Hartera. Pomorski promet je održan, ali je zbog sve većeg broja jahti koje se sidre u Riječkoj luci povećano otpuštanje otpadnih voda s brodova. Grad Rijeka se sve više okreće turizmu te je zbog sve većeg broja turista koji dolaze u Rijeku tijekom ljetnih mjeseci, povećano otpuštanje otpadnih voda iz kanalizacijskih sustava (rijeka.hr 01. prosinca 2019).

Riječka luka sadrži relativno visoke koncentracije teških metala, od kojih su živa i srebro najzastupljeniji (Cukrov i sur. 2011). Od zatvaranja tvornica počeo je trend opadanja u akumulaciji za većinu teških metala u vodama luke. Jedino srebro i olovo još uvijek pokazuju velike koncentracije, budući da dolaze kanalizacijskim vodama (Cukrov i sur. 2011).

2. Ciljevi istraživanja

Ispitati sanitarnu kvalitetu Rječine, Mrtvoga kanala i Riječke luke tijekom ljeta i zime 2019.

Analizirati stanje mikrobne zajednice Rječine, Mrtvoga kanala i Riječke luke tijekom ljeta i zime 2019.

3. Literaturni pregled

3.1. Sanitarna kakvoća mora

Sanitarna kakvoća mora se definira na temelju prisustva patogenih mikroorganizma dospjelih u more unosom otpadnim vodama, rijekama, zemljom itd. Omogućuje procjenu potencijalnog rizika zaraze patogenim mikroorganizmima (Krstulović i Šolić 2006; Sović 2017). Standardi kakvoće mora za kupanje i rekreaciju na morskim plažama regulirani su Uredbom o kakvoći mora za kupanje (NN 73/08) i EU direktivom o upravljanju kakvoćom vode za kupanje (br. 2006/7/EZ). U moru, mikrobiološki pokazatelji koji se prate su crijevni enterokoki i *Escherichia coli*. Granične vrijednosti mikroorganizama su propisane Tablicama 1. i 2 (propisi.hr 20. lipnja 2008; Sović 2017). Prema Pravilniku o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 87/2010), također su propisane granice vrijednosti fekalnih koliforma i fekalnih streptokoka u vodama koje se koriste za kupanje i rekreaciju. Vrijednosti su prikazane u Tablici 3 (narodne-novine.nn.hr 13. srpnja 2010; Sović 2017).

Tablica 1. Standardi za ocjenu kakvoće mora za kupanje nakon svakog ispitivanja (izvor: NN 73/2008).

Pokazatelj	Kakvoća mora			Metoda ispitivanja
	Izvrsna	Dobra	Zadovoljavajuća	
crijevni enterokoki (bik*/100 mL)	<60	61 – 100	101 – 200	HRN EN ISO 7899-1 ili HRN EN ISO 7899-2
Escherichia coli (bik*/100 mL)	<100	101 – 200	201- 300	HRN EN ISO 9308-1 ili HRN EN ISO 9308-3

(*) bik- broj izraslih kolonija

Tablica 2. Standardi za ocjenu kakvoće mora na kraju sezone kupanja i za prethodne tri sezone kupanja (izvor: NN 73/2008).

Pokazatelj	Izvrsna	Dobra	Zadovoljavajuća	Nezadovoljavajuća
crijevni enterokoki (bik*/100 mL)	≤ 100**	≤ 200**	≤185***	> 185***
Escherichia coli (bik*/100 mL)	≤ 150**	≤ 300**	≤ 300***	> 300***

(**) Temeljeno na vrijednosti 95-og percentila(1)
(***)Temeljeno na vrijednosti 90-og percentila (1)

Tablica 3. Granične vrijednosti emisija pročišćenih komunalnih otpadnih voda koje se ispuštaju u površinske vode, a koje se koriste za kupanje, rekreaciju i referentne metode ispitivanja (izvor: NN 87/2010-2460).

Pokazatelji	Mjerna jedinica	Granične vrijednosti		Referentne metode ispitivanja
		Kopnene površinske vode	Priobalne vode	
1	2	3	4	5
Koliformne bakterije	broj u 100 mL	10 000	2 000	HRN EN ISO 9308-1:2000
Koliformne bakterije fekalnog podrijetla	broj u 100 mL	2 000	500	HRN EN ISO 9308-1:2000
Streptokoki fekalnog podrijetla	broj u 100 mL	400	200	HRN EN ISO 7899-2:2000

3.2. Indikatori sanitarne kakvoće mora

Indikatorski mikroorganizmi su pokazatelji sanitarne kakvoće mora, odnosno stupnja rizika za ljudsko zdravlje. Oni su kvantitativno najznačajnija kategorija alohtonih mikroorganizama u morskom okolišu. Uključuju predstavnike bakterija, virusa, gljivica i protista, koji mogu uzrokovati širok spektar bolesti (Krstulović i Šolić 2006; Sović 2017).

Patogeni i drugi alohtoni mikroorganizmi ulaze u morski okoliš u prvom redu kroz ispuste komunalnih otpadnih voda pa je u većini morskih područja mikrobiološko onečišćenje direktan rezultat ispuštanja nepročišćenih ili djelomično pročišćenih otpadnih voda. Atmosfera također može biti izvor patogenih i drugih mikroorganizama koji dospijevaju u more, budući da je utvrđeno da vjetar koji puše s kopna na more nosi sa sobom bakterije, viruse i parazite koje kiša obara u rijeke i mora. Također, izvor patogenih mikroorganizama u moru može biti i tlo. Razlog tomu je vjetar koji puše s kopna prema moru i ispiranje tla putem kiše (Krstulović i Šolić 2006). Mogući izvor mikroorganizama, pogotovo u obalnim rekreacijskim područjima (plaže i kupališta), su sami kupači (Krstulović i Šolić 2006; Sović 2017). Utvrđeno je da rekreacijska morska područja koja nisu pod utjecajem otpadnih voda mogu biti onečišćena enterovirusima, bakterijama i gljivicama. Prema tome, kupanje na prenapučenim plažama može biti efikasan način prijenosa virusnih, ali i bakterijskih i gljivičnih infekcija (Krstulović i Šolić 2006; Sović 2017).

Za očuvanje ljudskog zdravlja, tijekom korištenja mora u rekreacijske ili prehrambene svrhe, potrebno je poznavati sanitarnu kakvoću mora. Kako bi se odredila sanitarna kakvoća mora, potrebno je odabrati indikatore koji se mogu definirati kao pokazatelji potencijalnog rizika od infekcija kod ljudi prilikom njihovog korištenja morskog okoliša, bilo za kupanje ili konzumiranje hrane iz mora (Krstulović i Šolić 2006; Sović 2017).

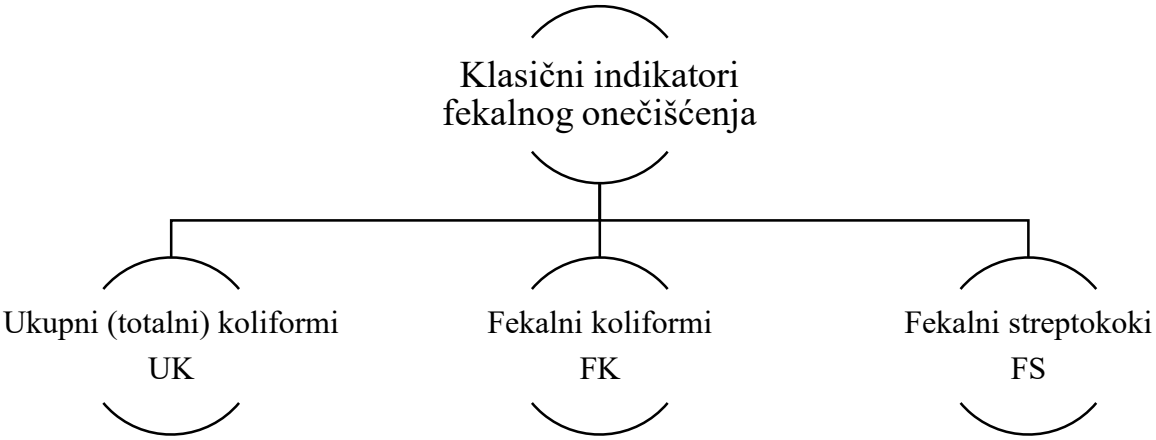
Najbolji indikatori bi bili oni koji pokazuju najveći stupanj korelacije sa stupnjem rizika za zdravlje ljudi. Prilikom odabira indikatorskog organizma treba težiti k tome da se njegove osobine u što većem stupnju približavaju osobinama idealnog indikatora, a to su: uvijek prisutan kada su prisutni patogeni, prisutan u koncentraciji koja je proporcionalna koncentraciji patogena, prisutan i odrediv u svim tipovima onečišćenih medija, ne razmnožava se u onečišćenim medijima, nije patogen za čovjeka, preživljava u okolišu slično koliko i najrezistentniji patogen, može ga se lako, brzo, precizno i jeftino kvantitativno odrediti (Krstulović i Šolić 2006; Sović 2017).

Indikatori mogu biti pokazatelji:

1. Fekalnog onečišćenja
2. Prisustva otpada iz domaćinstva
3. Prisustva patogena
4. Efikasnosti pojedinog procesa u obradi otpadnih voda
5. Sudbine patogena u okolišu
6. Kretanja suspendiranih čestica koje otpadnim vodama dospijevaju u more (Krstulović i Šolić 2006)

Danas, kao indikatori fekalnog onečišćenja se koriste tri skupine bakteria:

1. Ukupni (totalni) koliformi (UK)
2. Fekalni koliformi (FK)
3. Fekalni streptokoki (FS) (Krstulović i Šolić 2006)



Slika 1: Shematski prikaz klasičnih indikatora fekalnog onečišćenja mora (Krstulović i Šolić 2006)

3.2.1. Ukupni (totalni) koliformi (UK)

Ukupni koliformi predstavljaju skupinu aerobnih i fakultativno anaerobnih Gram-negativnih, nesporogenih štapića koji fermentiraju laktozu na temperaturi od 35 °C i pri tome u razdoblju od 24 sati proizvode kiselinu i plin. Skupini ukupnih koliforma pripadaju rodovi *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebisiella* i *Enterobacter*. Koliformi se oslobađaju u okoliš preko fekalija ljudi u koncentraciji od 10^7 stanica /g ili oko 10^9 stanica dnevno. UK se mogu koristiti kao pokazatelji fekalnog onečišćenja u moru (Krstulović i Šolić 2006; Sović 2017). Također, ova skupina indikatora uključuje i koliformne bakterije nefekalnog porijekla što znači da u određenim situacijama UK ne moraju biti specifični pokazatelji onečišćenja fekalnog porijekla. Jedan od nedostataka UK-a kao indikatora je taj što se neki koliformi mogu razmnožavati u prirodnim vodama te ukazivati na lažno onečišćenje. Ukupni koliformi kratko preživljavaju u moru pa njihova prisutnost ukazuje isključivo na svježe onečišćenje fekalnim materijalom ili zemljom nakon kiša (Krstulović i Šolić 2006; Sović 2017).

3.2.2. Fekalni koliformi (FK)

Fekalni koliformi su aerobni i fakultativno anaerobni Gram-negativni, nesporogeni štapići (podskupina unutar ukupnih koliforma) koji fermentiraju laktozu na temperaturi od 44.5 °C i pri tome u razdoblju od 24 sata proizvode kiselinu i plin. FK pokazuju vrlo visoku korelaciju sa stupnjem fekalnog onečišćenja koje potječe od toplokrvnih organizama pa su prema tome bolji indikator sanitarne kakvoće mora u odnosu na UK. Njihova mogućnost razmnožavanja u morskom okolišu je vrlo mala. Najzastupljenija vrsta unutar ove skupine je *E. coli* (75-95%). Fekalni koliformi su, kao i ukupni koliformi, indikator svježeg onečišćenja mora s fekalnim materijalom (Krstulović i Šolić 2006; Sović 2017).

3.2.2.1. *Escherichia coli*

E. coli je vrsta iz porodice Enterobacteriaceae, koji je još bolji indikator fekalnog zagađenja, jer je za razliku od ostalih bakterija prirodno stanište *E. coli* isključivo probavni sustav. Ova bakterija je potencijalni patogen, što znači da u određenim uvjetima (izvan probavnog sustava) može uzrokovati oboljenja (oportunistička oboljenja). Međutim, još važnija činjenica je da su se pojavili novi patogeni sojevi *E. coli* koji uzrokuju vrlo teška oboljenja probavnog sustava (infekcije i intoksikacije) (zzjzdnz.hr 02. prosinca 2019).

3.2.3. Fekalni streptokoki (FS)

Fekalni streptokoki su Gram-pozitivni, izduženi ili ovalni koki koji dolaze u parovima ili kratkim lancima. Budući da su porijeklom iz toplokrvnih organizama, njihovo prisustvo u morskom okolišu također ukazuje na onečišćenje fekalnim materijalom (Krstulović i Šolić 2006; Sović 2017). U kombinaciji s fekalnim koliformima, fekalni streptokoki mogu pružiti precizniju informaciju o izvoru onečišćenja s obzirom da neke vrste unutar ove skupine imaju specifične domaćine. Na taj način je moguće, utvrđivanjem kvantitativnog sastava fekalnih streptokoka, razlikovati je li određeni izvor fekalnog otpada potječe iz domaćinstva ili od životinja, npr. stočarskih farmi (Krstulović i Šolić 2006; Sović 2017). Omjer između koncentracija FK:FS u uzorku može se upotrijebiti kao pokazatelj onečišćenja fekalnog porijekla (Coyne i Howell 1994; Sović 2017).

Omjer FK:FS koji je manji od 0.7 pokazatelj je životinjskog porijekla, dok je FK:FS omjer veći od 4.0 pokazatelj ljudskog porijekla fekalnog materijala, s tim da odnosi vrijede isključivo za svježi fekalni otpad, tj. otpad ne stariji od 24 sata (Krstulović i Šolić 2006).

Fekalni streptokoki su otporniji na morsku vodu tako da u ovom mediju preživljavaju duže u odnosu na ukupne i fekalne koliforme. Zbog te osobine su fekalni streptokoki pokazatelji nešto starijeg onečišćenja u usporedbi s drugim indikatorima. Omjer FK:FS može biti pokazatelj udaljenosti mjesta uzorkovanja od izvora onečišćenja, ili pokazatelj vremena koje je prošlo od dolaska otpadnih voda fekalnog porijekla na mjesto uzorkovanja (Krstulović i Šolić 2006).

3.3. Bakterijske zajednice u moru

3.3.1. Heterotrofne bakterije

Gdje god postoji život, postoje i bakterije. Slobodno živuće bakterije se nalaze u svakom okolišu koji podržava eukariote. Fizikalno ekstremna staništa, sposobna za održavanje života, podržavaju ekstremofilne bakterije. Anoksična staništa također mogu podržavati veliku raznolikost bakterija, čija fiziologija ne zahtjeva potrebu za kisikom (Cohan 2001).

Heterotrofne bakterije predstavljaju najbrojniju komponentu morskih mikrobnih zajednica (Sanders i sur. 1992; Sović 2017). Njihova se brojnost kreće od 10^3 do 10^8 stanica po mililitru te ovisi o trofičkom statusu određenog područja (Krstulović i Šolić 2006; Sanders i sur. 1992; Sović 2017). Veličinski spadaju u kategoriju pikoplanktona (od 0.2 do 2μm), imaju vrlo jednostavnu morfologiju i visoku specifičnu stopu rasta (oko 0.4/sat) koja im omogućava udvostručavanje populacije tijekom kratkog vremena (oko 2 dana) (Krstulović i Šolić 2006; Sović 2017). Bakterije se mogu klasificirati bojanjem po Gramu, prema obliku stanica, prema potrebi za kisikom, njihovoj pokretljivosti te na

temelju metaboličkih i prehrambenih karakteristika (ili osobina) (Krstulović i Šolić 2006; Sović 2017).

Najveći dio pikoplanktonskih zajednica na svjetskoj razini čini razred Alphaproteobacteria (koljeno Proteobacteria). Predstavnici skupine Alphaproteobacteria bakterija mogu sačinjavati 50% ukupne pikoplanktonske zajednice u eufotičkoj i 25% u mezopelagičkoj zoni (Cohan 2001; Korlević 2015; Sović 2017).

Heterotrofnim prokariotima, osim bakterija pripadaju i arheje. Bakterije i arheje pripadaju skupini morskog pikoplanktona te njihova brojnost može biti i do sto puta veća od brojnosti pikoeukariota (protisti veličine 0.2-2 μm). Oni u morskim ekosustavima uključuju različite funkcionalne skupine poput primarnih proizvođača, fotoheterotrofa, heterotrofa, fiksatora dušika, nitrifikatora i denitrifikatora (Sović 2017). Arheje se uglavnom razlikuju od eubakterija („pravih bakterija“) po strukturi stanične stjenke jer ne sadrže peptidoglikan (spoj šećera i aminokiselina) i zbog toga uglavnom žive u ekstremnim staništima npr. ekstremno slana staništa (ekstremni halofili), termofilna staništa (termoacidofili) te anaerobna staništa u kojima se proizvodi metan (metanogeni) (Krstulović i Šolić 2006).

Autohtoni morski prokarioti su uglavnom jednostavnog oblika (štapićasti, kuglasti i filamentni oblici) manjih veličina (1-2 μm). Ekstremna iznimka je gram-pozitivna bakterija *Epulopiscium fishlesoni*, koja je najveća poznata bakterija, veličine 200-800 μm te živi u probavilu nekih riba u Crvenom moru (Krstulović i Šolić 2006).

Veliki tokovi organske tvari, često zasjenjuju hranidbeni lanac u količini. Kreću se kroz otopljenu organsku tvar u bakterije i "mikrobnu petlju". Prethodne metode su promašile > 99% mikroorganizama i grubo su podcijenile njihov metabolizam. Sada iz opsežnih terenskih istraživanja zna se da je u većem dijelu oceana tok organske tvari u bakterije glavni put; polovica oceanske primarne proizvodnje u prosjeku se kanalizira putem bakterija u mikrobnu petlju - glavnu biološku silu u oceanu (Azam 1998).

Morske bakterije razgrađuju otopljenu organsku tvar (eng. *dissolved organic matter*, *DOM*) koju uglavnom luči fitoplankton ili u manjoj količini dolazi iz puknuća stanica kao i ostatak prehrane protista. Bakterije ne koriste samo prethodno oblikovanu DOM, nego razgrađuju i partikulatnu organsku tvar (eng. *particulate organic matter*, *POM*), koristeći egzoenzime za njeno cijepanje na manje molekule koje se mogu koristiti kao supstrat za njihovu ishranu. Općenito, u moru bakterije imaju ključnu ulogu u globalnom kruženju ugljika i od neophodne su važnosti u remineralizaciji organskih spojeva, u oslobađanju hranjivih soli te u prijenosu proizvedene biomase putem mikrobnog kruga prema višim karikama hranidbene mreže (Azam 1998).

3.3.2. Cijanobakterije

Cijanobakterije obuhvaćaju široki raspon pojedinačnih kokoidnih i nitastih-filomenetskih prokariota (Krstulović i Šolić 2006). Posjeduju sposobnost fotosinteze te su jedan od najvećih proizvođača kisika u moru. Cijanobakterije posjeduju klorofil *a* koji se nalazi u parovima fotosintetskih lamela koje se zovu tilakoide, a na čijoj se površini nalaze granule, koje se nazivaju fikobilisomi. U fikobilisomima se nalaze fikobilisomski pigmenti (fikobilini). U skupinu fikobilina pripadaju: fikoeritrin, fikocijanin i alofikocijanin. Građa cijanobakterija može sadržavati stanične plinske vakuole. One su obavijene proteinskim omotačem te su građene od niza komorica i mjehurića ispunjenih plinom. Njihova je funkcija omogućiti stanicama lebdenje (Krstulović i Šolić 2006).

Među skupinom cijanobakterija postoje pokretni i nepokretni oblici. Cijanobakterijski oblici koji se pokreću, čine to klizanjem po površini, a ne pomoću bičeva, kao što to čine druge pokretne bakterije. Postoje 3 osnovna morfološka oblika cijanobakterija: 1) jednostanični štapići i koki, 2) filamenti te 3) filamenti s heterocistama (posjeduju specijalizirane stanice koje djeluju kao centri dušične aktivnosti za fiksaciju molekularnog dušika (N_2)). N_2 također mogu fiksirati i jednostanični štapići i koki te filamenti (Krstulović i Šolić 2006; Sović 2017).

Kao primarni proizvođači, cijanobakterje su otvorile mogućnost stvaranja života kakav je poznat danas, mijenjajući sastav Zemljine atmosfere. To im je omogućilo fotosintetsko korištenje CO_2, stvarajući kao nusprodukt kisik. Danas mogu imati ključnu ulogu u smanjenju utjecaja CO_2 na klimu (Cohan 2001). Fotosintetski prokariotski organizmi koji stvaraju kisik glavna su komponenta oceanskih ekosustava. Budući da ih uglavnom predstavljaju dva roda cijanobakterija (*Synechococcus* i *Prochlorococcus*), raznolikost tih mikroorganizama u pikoplanktonskoj frakciji otvorenog oceana je vrlo niska (Partensky i sur. 1999).

Rod bakterija *Synechococcus* je praktički ubikvitaran u svim morskim sredinama s koncentracijama od $5*10^2$ do $1.5*10^6$ $\mathrm{stanica/mL}$ (ili 0.01 do >$1.3*10^9$ $\mathrm{stanica/cm^2}$). Abundantniji su u područjima bogatim nutrijentima, nego u oligotrofnim područjima te je njihova disperzija uglavnom ograničena na gornji, dobro osvjetljeni sloj (Partensky i sur. 1999; Sović 2017).

Rod *Synechococcus* je zabilježen u relativno visokoj abundanciji u okolišima s niskim salinitetom i/ili temperaturom (Partensky i sur. 1999). U odnosu na *Synechococcus*, *Prochlorococcus* nije toliko ubikvitaran. Rod *Prochlorococcus* je brojniji u oligotrofnim dijelovima mora i oceana, za razliku od roda *Synechococcus* koji je brojniji u eutrofnim područjima (Partensky i sur. 1999; Sović 2017). Koncentracija roda *Prochlorococcus* je 10^5 do $4*10^5$ $\mathrm{stanica/mL}$ (ili 1 do $4*10^9$ $\mathrm{stanica/cm^2}$). Njihov broj drastično padne na geografskoj širini, većoj od 45 °N (Partensky i sur. 1999).

Rodovi *Synechococcus* i *Prochlorococcus* imaju različite vrste adaptacija s obzirom na biogeokemijske uvjete, iako se često pojavljuju zajedno. Unatoč užoj geografskoj rasprostranjenosti, rod *Prochlorococcus* je bitniji od roda *Synechococcus*, jer je oko 100 puta raširenija u toplim oligotrofnim morima, koja pripadaju većem dijelu svjetskog oceana (Partensky i sur. 1999).

3.3.3. Flagelati

Flagelati (bičaši) pripadaju potkoljenu Mastigophora. Oni sadrže jedan, dva ili više protoplazmatskih izraslina koje nalikuju na bičeve te se pomoću njih gibaju i primaju podražaje (enciklopedija.hr 20.07.2019.; Sović 2017.). Bičaši se dalje dijele u 2 razreda, ovisno o njihovom načinu prehrane – biljne bičaše (Phytomastigophora) i na životinjske bičaše (Zoomastigophora). Također postoje neki biljni bičaši koji se mogu hraniti heterotrofno te neki životinjski bičaši koji mogu primati nutrijente putem fotosinteze (enciklopedija.hr 20.07.2019.). Takvi organizmi se nazivaju fakultativnim autotrofnim organizmima ili miksotrofnim organizmima. Prema veličini Phytomastigophora i Zoomastigophora pripadaju skupini nanoplanktona (2-20 μm) (Krstulović, Šolić 2006.). Pretpostavlja se da su pripadnici skupina Choanoflagellates i Chrysomonades najučinkovitiji bakteriovori u moru i da je njihova brojnost veća od 10^3 stanica po mililitru (Bajić 2019.; Krstulović i Šolić, 2006).

Skupini flagelata također pripadaju i dinoflagelati (svjetleći bičaši). Dinoflagelati, uz dijatomeje (alge kremenjašice), su glavni predstavnici fitoplanktona u moru. Oko 90% vrsta dinoflagelata su morski organizmi, od kojih najviše žive slobodno u vodenome stupcu (Krstulović, Šolić 2006.; Sović 2017.). Dinoflagelati veličinski pripadaju skupini mikroplanktona (20-200 μm). Pretjeranim razmnožavanjem (cvjetanjem) dinoflagelata, može doći do promjene boje mora u crvenu (red tide) ili zelenu (green tide). Postoje i toksične vrste dinoflagelata. One pripadaju rodovima: *Dynophysis*, *Gymnodinium*, *Prorocentrum*, *Alexandrium* i *Gyrodinium* te se neki nalaze i u Jadranskome moru (Krstulović, Šolić 2006.).

4. Metode i materijali

4.1 Područje istraživanja

Istraživanja u svrhu ovog završnoga rada su se odvijali na devet lokacija unutar kruga od 2 km od centra grada Rijeke. Postaje su međusobno bile udaljene između 100 i 500 metara. Dvije postaje su se nalazile na rijeci Rječini, tri postaje su bile u Mrtvome kanalu (staro korito rijeke Rječine) te su ostalih četiri postavljene u Riječkoj luci.



Slika 2: Pozicije postaja uzorkovanja
Izvor: Google Earth

4.1.1 Rijeka

Grad Rijeka zauzima površinu od 13.600 ha, a od toga na kopneni dio otpada 4.355 ha. Taj prostor nije dovoljno velik za razvojne potencijale grada, a na njemu žive 128.624 stanovnika (prema popisu stanovništva iz 2011.), što daje jednu od najvećih gustoća naseljenosti u ovom dijelu Europe, od 4.237 $\text{stanovnika}/\text{km}^2$ (Zrilić i sur. 2013).

Smješten uz Kvarnerski zaljev, Grad Rijeka ima iznimno dobar geografski položaj, što je njegova najveća komparativna prednost i preduvjet za razvoj pomorskoga gospodarstva, kao i svih djelatnosti vezanih uz more (Zrilić i sur. 2013).

4.1.1.1 Rječina

Rječina (talijanski Fiumara), rijeka u Hrvatskome primorju; duga je 17,3 km; porječje obuhvaća 243,1 km². Izvire u blizini Brgudca, na 326 m nadmorske visine. Protječe uskim kanjonom. Naplavnim deltastim ušćem utječe u more u gradu Rijeci. U proljeće i jesen Rječina obiluje vodom, dok ljeti gotovo presuši. Nekada je ušće Rječine služilo kao luka Rijeke. Potkraj 20. st., istočnije je iskopano novo korito. Staro korito posve je odvojeno od riječnoga toka i pretvoreno u Mrtvi kanal (dug 530 m, dubok 4 do 5 m), koji služi za čamce i brodice. Preko njega vode dva mosta. Kanal je u prošlosti bio granica između Hrvatske i Rijeke, te između Jugoslavije i Italije (tada je granica vodila njegovom zapadnom obalom). Današnje ušće Rječine prelazi pet mostova. Lijeva, jugoistočna obala dio je riječkoga lučkog kompleksa (kontejnerski terminal Brajdica). Dobivanje električne energije (HE Rijeka s 36,8 MW ukupne snage i proizvodnjom od 141 GWh, 2010); u Martinovu Selu vodenica (enciklopedija.hr 15. veljače 2019.).

Temeljni prirodni resurs Grada Rijeke je obilje pitke visokokvalitetne vode, čiji je glavni izvor rijeka Rječina (fiuman.hr 16. veljače 2019). Dužina Rječine (kroz područje grada do ušća) iznosi 7,5 km, a Rječina se ulijeva u more na području Delte. Sjeveroistočni dio Rijeke vodozaštitno je područje zbog rijeke Rječine, a u samome središtu grada 16 je izvorišta pitke vode. Upravo je taj spoj rijeke Rječine i Jadranskog mora najvažnije obilježje Rijeke i velik potencijal za gospodarski razvoj (Zrilić i sur. 2013).



Slika 3: Rijeka Rječina
1. Gornji tok
Izvor: bs.wikipedia.org
2. Donji tok
Izvor: blog.dnevnik.hr

4.1.1.2 Mrtvi kanal

Mrtvi kanal, nekadašnje korito Rječine, a danas lučica za barke, za Riječane je oduvijek imao važnu povijesnu ulogu. Njegova najznačajnija povijesna uloga je ta da je Mrtvi kanal bio središnja točka neslavne povijesne epizode razdvajanja grada na dva dijela, Rijeku koja je pripadala Kraljevini Italiji i Sušak koji je pripadao Kraljevini SHS (fiuman.hr 16. veljače 2019).

Mrtvi kanal je staro prirodno korito Rječine, ali ime Mrtvi kanal se počinje pojavljivati tek u 19. stoljeću otkad se Rječina račva na novo i staro korito. Prvobitna riječka luka nalazila se je na prostoru Mrtvog kanala, od današnjeg Trga bana Jelačića do Školjića. Zbog čestih poplava i problemima s nabujalom Rječinom došlo je do potrebe za skretanjem njezina toka. Nakon jedne velike poplave koja je poplavila gotovo cijeli Korzo odlučeno je da se Rječina regulira, odnosno da se iskopa novo korito. Uz velika ulaganja taj je kanal iskopan 1855. godine direktnom intervencijom cara Franje Josipa. Novo korito odvelo je Rječinu pravo u more, a u staro je korito puštena morska voda te od tada ono postaje Mrtvi kanal. Tada je nastalo i današnje područje Delte. Između Mrtvog kanala i novog korita Rječine ostao je teren trokutastog oblika koji je zbog sličnosti s grčkim slovom dobio naziv Delta (fiuman.hr 16. veljače 2019).

S vremenom Mrtvi kanal postaje pomoćno pristanište za manje brodove koji su dolazili iz Dalmacije i s kvarnerskih otoka. S Kvarnerskih otoka i primorja u Mrtvi kanal su brodice dovozile razna dobra za prodaju ili daljnji transport, dok su s druge strane te su iste brodice ukrcavale dobra za otoke i primorje, koja su zaprežnim vozilima dovožena iz kopnenih dijelova Kvarnera. Poznata je bila (ne uvijek legalna) razmjena soli za brašno, ponuda ribe, maslinovog ulja, vina i razmjena za alate, proizvode od kože, tkanine i slično (fiuman.hr 16. veljače 2019).



Slika 4: Mrtvi kanal
Izvor: hr.wikipedia.org



Slika 5: Satelitski prikaz Mrtvoga kanala (M) i novog korita rijeke Rječine (R)
Izvor: Google Earth

4.1.1.3 Riječka luka

Luka Rijeka nalazi se u sjevernom dijelu Kvarnerskog zaljeva. Zbog najpogodnije lokacije te izlaza na otvoreno more, uz Hrvatsku je ujedno koriste i susjedne zemlje poput Mađarske, Austrije, Češke, Slovačke, zapadni dio Ukrajine, južni dio Poljske i južni dio Njemačke. Na prostoru luke (200 ha) odvijaju se raznovrsne djelatnosti, te tako svrstavaju luku Rijeka u višenamjensku luku. Preko dva paneuropska koridora (V. i X.) luka Rijeka postaje integrirani dio Europe. Riječka luka postaje važno prometno i industrijsko središte, mjesto dodirivanja morskih i kontinentalnih puteva te glavna tranzitna luka Republike Hrvatske, a u tome joj pomaže njen zemljopisni i prometni položaj. Iz tog razloga luka Rijeka ima objektivne mogućnosti privlačenja stranog tereta iz zemalja u zaleđu, što je ujedno i temelj njenog budućeg uspješnog razvoja (Vilke i sur. 2011).

Uspostavljanje nove riječno-željezničke veze između Podunavlja i Jadrana točnije između luka Rijeke i Vukovara sastoji se od izgradnje višenamjenskog kanala Dunav – Sava, uređenja rijeke Save od Slavonskog Šamca do Siska za dostizanje IV. klase plovnosti te izgradnje nove željezničke pruge visoke učinkovitosti na relaciji Zagreb – Rijeka (Vilke i sur. 2011).

Prometni koridor Podunavlje – Jadran kao kombinirani riječno-željeznički pravac koji povezuje riječku luku sa lukom Vukovar, ukupne duljine 566,9 km. Izgradnja novih i rekonstrukcija postojećih željezničkih kapaciteta treba pratiti razvoj riječke luke. Upravo je željeznica tijekom osamdesetih i devedesetih godina prošlog stoljeća bila ograničavajući čimbenik razvoja riječkog prometnog čvora i luke Rijeka kao njegove krajnje točke. Stoga je za potpunu valorizaciju kombiniranog prometnog pravca Podunavlje – Jadran nužno izvršiti dodatne zahvate u željezničkoj prometnoj infrastrukturi. U prvom redu to se odnosi na izgradnju drugog kolosijeka između Zagreba i Siska, te rekonstrukciju zagrebačkog i riječkog željezničkog čvorišta. Riječka luka postala bi referentna točka koridora, povezujući Sjeverni Jadran sa europskom mrežom unutarnjih vodnih putova (Vilke i sur. 2011).

4.2 Uzorkovanje

Uzorkovanje se odvijalo dva puta u razmaku od 6 mjeseci. Prvo uzorkovanje je izvršeno u zimskom periodu (početak veljače), dok se drugo uzorkovanje odvijalo u ljetnom periodu (početak kolovoza).

Za uzorkovanje vode korišteno je devet sterilnih staklenih boca, označenih po broju postaja, koje su uz pomoć drvenoga štapa uronjene u more kako bi se prikupili uzorci vode iz Rječine, Mrtvog kanala ili Riječke luke. Dio uzorkovane vode sa svake postaje pretočeno je u polietilenske bočice od 20 mL, kako bi se mogla analizirati mikrobna zajednica. Uzorci su bili fiksirani dodavanjem 1 mL 36%-tnog formaldehida te su do analize bili čuvani u frižideru na 4 °C. Boce s uzorcima su transportirane pomoću prijenosnog frižidera kako bi bile na što stabilnijoj temperaturi i kako bi bile što manje izložene svjetlu. Obrada uzoraka odrađena je u Laboratoriju za morsku mikrobnu ekologiju Centra za istraživanje mora (Institut Ruđer Bošković) u Rovinju.

4.3 Hidrografski uvjeti

Tijekom uzorkovanja temperatura i salinitet izmjereni su *in situ* uz pomoć sonde za salinitet koja također ima ugrađeni termometar.

4.4 Sanitarna kakvoća mora

Metodom membranske filtracije pomoću bakterije *E. coli* i fekalnih streptokoka određena je sanitarna kakvoća mora.

Uzorci su profiltrirali kroz membranske filtre s promjerom pora 0.45 μm. Svaki uzorak je profiltriran dva puta, jednom kako bi membranski filtri bili postavljeni u petrijeve zdjelice s hranjivom podlogom kako bi se razvile kolonije bakterije *E. coli* te drugi put kako bi se razvile kolonije fekalnih streptokoka.

Hranjiva podloga za određivanje bakterije *E. coli*, napravljena je korištenjem *Chromogenic coliform agar iso formulation* u petrijevim zdjelicama te su zdjelice inkubirane 24 sata na temperaturi od 36 °C. Kolonije koje su izrasle i pokazale karakterističnu plavu boju identificirane su kao bakterije *E. coli* te su izbrojane.

Izračunata je srednja vrijednost svih razrjeđenja i rezultat je izražen kao broj fekalnih koliforma u 100 mL uzorka. Kroz membranske filtre profiltrirano je oko 100 mL uzorka, osim u zimskom periodu za postaju RI 7 prilikom filtriranja za razvoj kolonija bakterije *E. coli* (20 mL).

Broj fekalnih koliforma je određen paralelno s brojem bakterije *E. coli* korištenjem iste hranjive podloge i temperaturu inkubacije. Kolonije koje su izrasle i pokazale roza boju su izbrojane. Izračunata je srednja vrijednost svih razrjeđenja te je taj broj dodan broju identificiranih bakterije *E. coli*.

Rezultat je izražen kao broj fekalnih koliforma u 100 mL uzorka. Fekalni streptokoki određeni su postavljanjem membranskih filtra na površinu hranjive podloge *Slanetz-Bartley agar* u petrijevim zdjelicama te inkubiranjem 48 sati na temperaturi od 36 °C. Filtri na kojima su bile vidljive crvene kolonije premještene su u petrijevke s hranjivom podlogom *Bile esculin agar* za potvrdno testiranje. Podloge s filtrima inkubirane su 2 sata na temperaturi od 44.5 °C. Kolonije koje su poprimile tamnu boju ili koje su oko sebe stvorile tamni krug su izbrojane. Nakon što je izračunata srednja vrijednost svih razrjeđenja rezultati su izraženi kao broj fekalnih streptokoka u 100 mL uzorka.

4.5 Brojnost heterotrofnih bakterija, heterotrofnih nanoflagelata i cijanobakterija

Za određivanje brojnosti heterotrofnih bakterija, od prethodno prikupljenih uzoraka, napravljeni su poduzorci od 2 mL. Svakom poduzorku je dodano 100 µL DAPI (4',6-diamidino-2-phenilindol) boje. DAPI je fluorescentna boja koja ulazi u stanice te se veže za AT regije u molekuli DNA (thermofisher.com 05.10.2019.). Nakon 15 minuta, uzorci su profiltrirani kroz crne polikarbonatne filtre promjera 25 mm s porama od 0.2 µm. Filtri su postavljeni na mikroskopsko stakalce, dodano je imerzijsko ulje te pokrovno stakalce.

Za određivanje brojnosti flagelata, od prethodno prikupljenih uzoraka, napravljeni su poduzorci od 10 mL. Poduzorcima je dodano 500 µL DAPI boje. Nakon 15 minuta, obojani uzorci su profiltrirani kroz crne polikarbonatne filtre promjera 25 mm s porama od 0.4 µm.

Postupak za određivanje brojnosti cijanobakterija sličan je postupku za određivanje flagelata. Jedina razlika je što uzorcima za određivanje brojnosti cijanobakterija nije potrebno dodavati DAPI budući da njihovi fotosintetski pigmenti prirodno fluoresciraju kad su izloženi zelenom svijetlu.

Nakon pripreme uzoraka, abundancija heterotrofnih bakterija, flagelata i cijanobakterija određena je uz pomoć epifluorescentnog mikroskopa. Uzorci su osvijetljeni UV-svijetlom prouzročivši fluorescenciju DAPI boje koja je emitirala plavu boju te omogućila brojanje heterotrofnih bakterija i heterotrofnih nanoflagelata. Za brojanje cijanobakterija korištena je ekscitacija zelenim svijetlom koja je prouzročila fluorescenciju pigmenata cijanobakterija narančasto-crvene boje. Za heterotrofne bakterije izbrojano je preko 500 stanica po uzorku dok su za cijanobakterije i heterotrofne nanoflagelate izbrojano oko 200 stanica po uzorku.

Za svaki uzorak određena je srednja vrijednost brojnosti po vidnom polju mikroskopa i pomnožena specifičnim faktorom konverzije mikroskopa (6691 u našem slučaju) kako bi se dobio broj mikroorganizama po mL morske vode.

5. Rezultati i diskusija

5.1 Rezultati

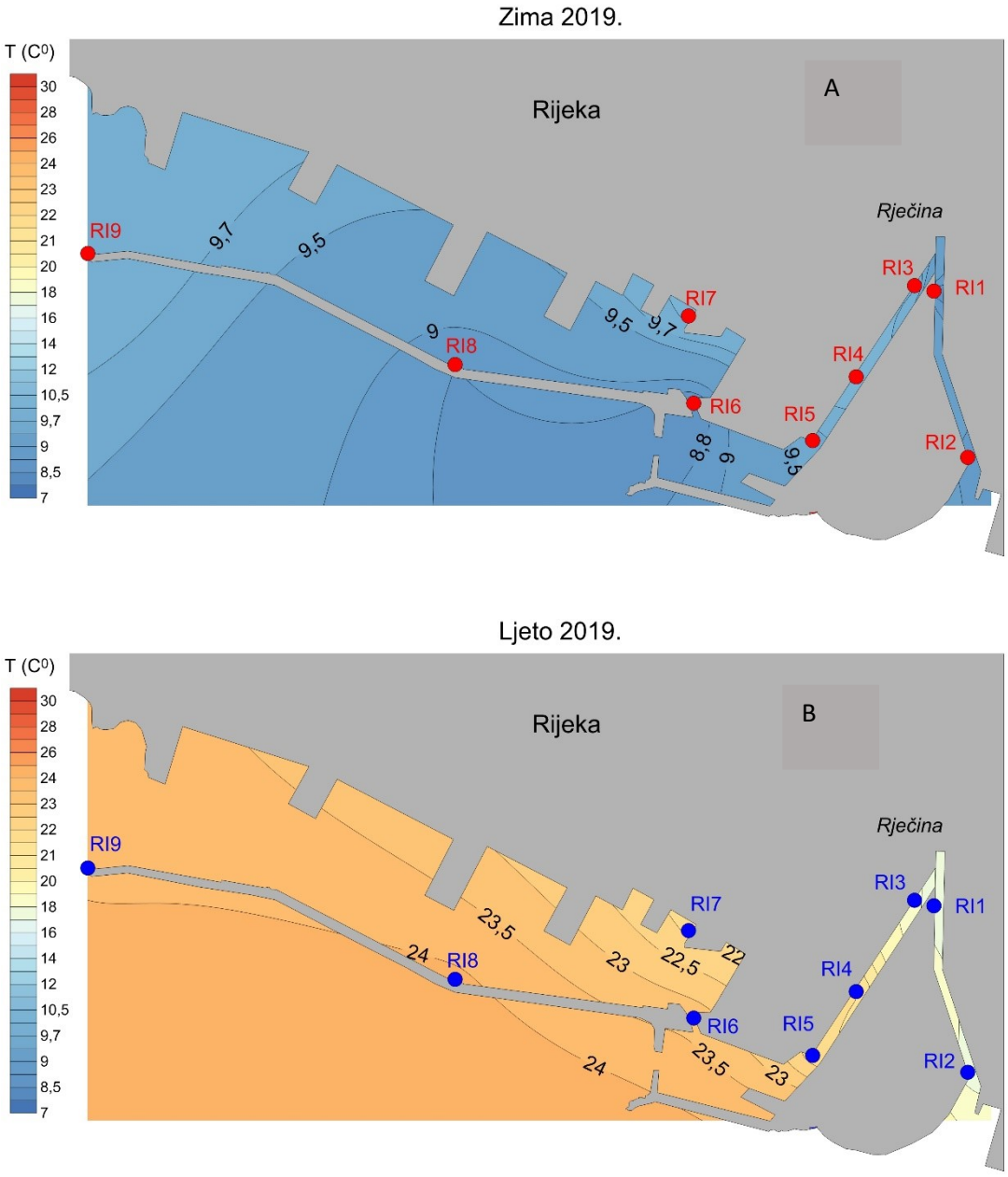
5.1.1 Temperatura

Tijekom veljače 2019. (slika 6A), u Rijeci je temperatura varirala između 8.6 °C i 10.4 °C. Najniža zabilježena temperatura bila je na postaji RI6 (8.6 °C) koja se nalazi na početku Riječke šetnice Molo Longo, dok je najviša temperatura izmjerena na postaji RI4 (10.4 °C) koja se nalazi nedaleko od Riječkog kazališta Ivana Zajca. U kolovozu 2019. (slika 6B), temperatura je iznosila između 17.1 °C i 24.1 °C. Najniža temperatura (17.1 °C) je zabilježena na postaji RI1, nedaleko od hotela Continental, dok je najviša temperatura (24.1 °C) izmjerena na postaji RI8, na središtu Riječke šetnice Molo Longo.

Budući da je tekućica, Rječina je tijekom mjerenja u veljači i kolovozu bila među najnižim temperaturnim rezultatima. Tijekom veljače postaja RI1 je imala temperaturu 8.7 °C, a postaja RI2 je imala temperaturu 8.9 °C. U kolovozu, postaja RI1 je imala temperaturu 17.1 °C, a postaja RI2 je imala temperaturu 17.6 °C.

Zbog zatvorenijeg sustava cirkuliranja vode, Mrtvi kanal imao je konstantniju temperaturu nego Rječina. Tijekom veljače, temperatura Mrtvoga kanala je varirala od 9.6 °C (postaja RI5) do 10.4 °C (postaja RI4). Za razliku od veljače, u kolovozu su temperature varirale od 18.5 °C (postaja RI3) do 21.7 °C (postaja RI5).

U Riječkoj luci, rezultati mjerenja temperature su bili različit tijekom veljače i kolovoza. Tijekom veljače, najnižu izmjerenu temperaturu je imala postaja RI6 (8.6 °C), dok je najvišu temperaturu imala postaja RI7 (10.1 °C). Za razliku od veljače, u kolovozu je najniža temperatura zabilježena bila na postaji RI7 (21.9 °C), dok je najviša temperatura bila zabilježena na postaji RI8 (24.1 °C).

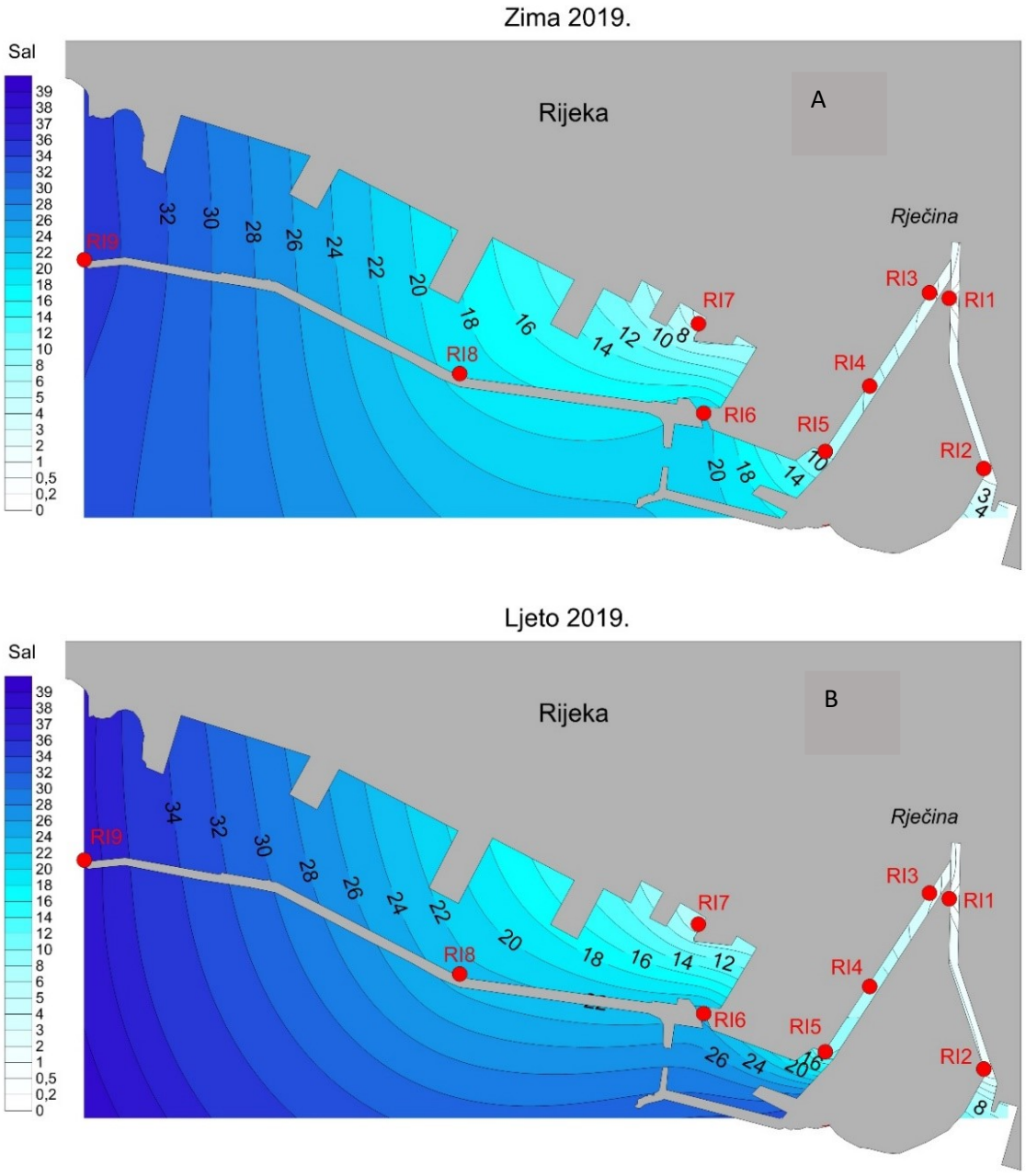


Slika 6: Raspodjela temperature mora (°C) u površinskom sloju tijekom zime 2019. (A) i ljeta 2019. (B)

5.1.2 Salinitet

Salinitet se tijekom veljače (slika 7A) kretao između 0.2 i 35.4 psu, ovisno o mjestu uzorkovanja. Najniži izmjereni salinitet je bio u Rječini (postaje RI1 i RI2). Na postaji RI1, salinitet je iznosio 0.2 psu, dok je na postaji RI2 salinitet bio 1.2 psu. U Mrtvome kanalu salinitet je varirao od 3.2 (postaja RI3) do 7.1 psu (postaja RI5). U Riječkoj luci je salinitet varirao od 4,6 psu (postaja RI7) do 35,4 psu (postaja RI9). Ovdje je na salinitet utjecao donos slatke vode iz kanalizacijskog ispusta koji se nalazi kod postaje RI7.

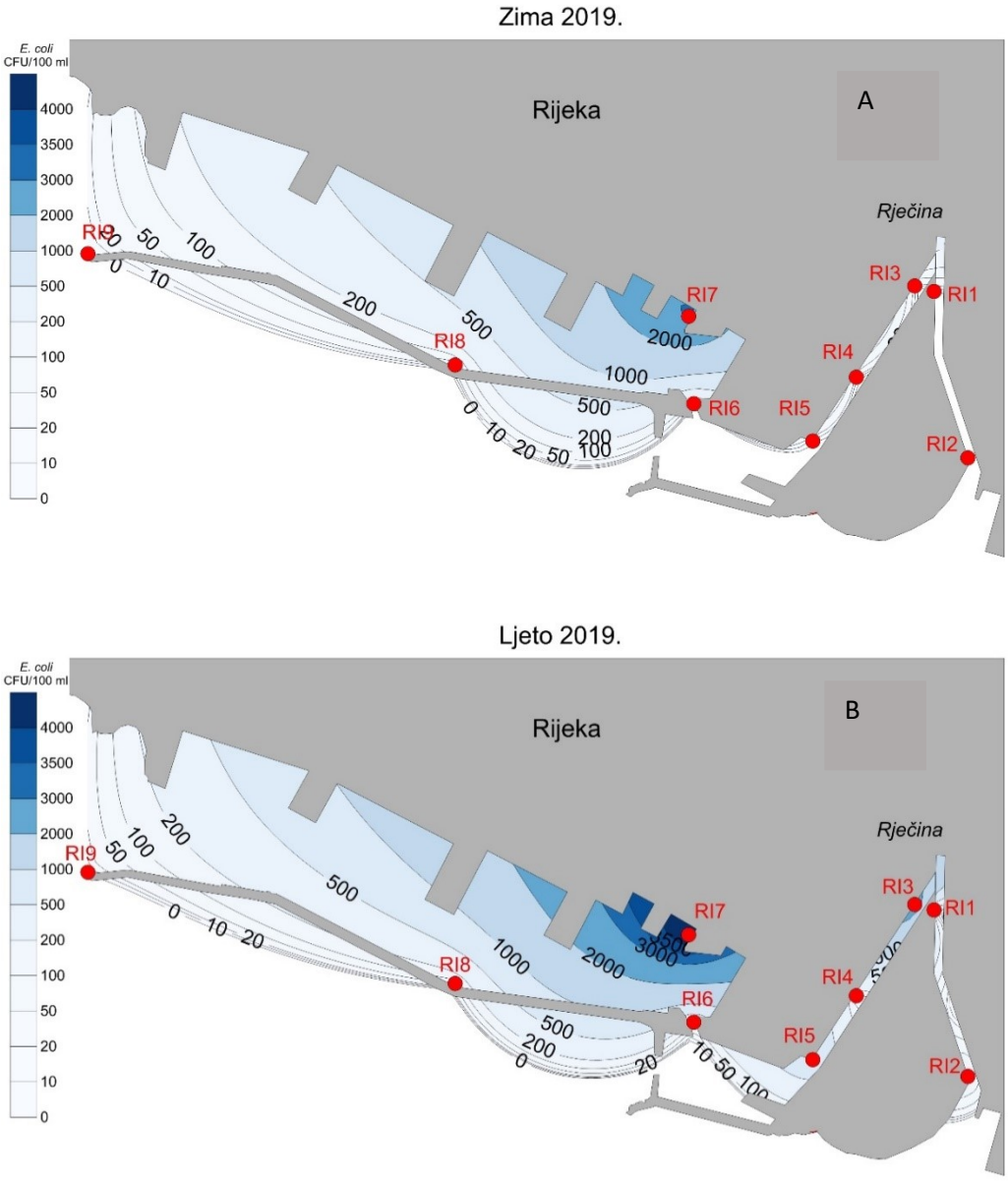
Tijekom kolovoza (slika 7B), salinitet se kretao između 0,5 i 38,5 psu, također ovisno o mjestu uzorkovanja. U Rječini se salinitet na postajama RI1 i RI2 kretao između 0,5 i 2,0 psu. Salinitet Mrtvoga kanala je tijekom kolovoza varirao između 4,2 psu na postaji RI3 i 12,0 psu na postaji RI5. U Riječkoj luci je salinitet varirao od 7,6 psu na postaji RI7 do 38,5 psu na postaji RI9.



Slika 7: Raspodjela saliniteta u površinskom sloju tijekom zime 2019. (A) i ljeta 2019. (B)

5.1.3 Koncentracija *E. coli*

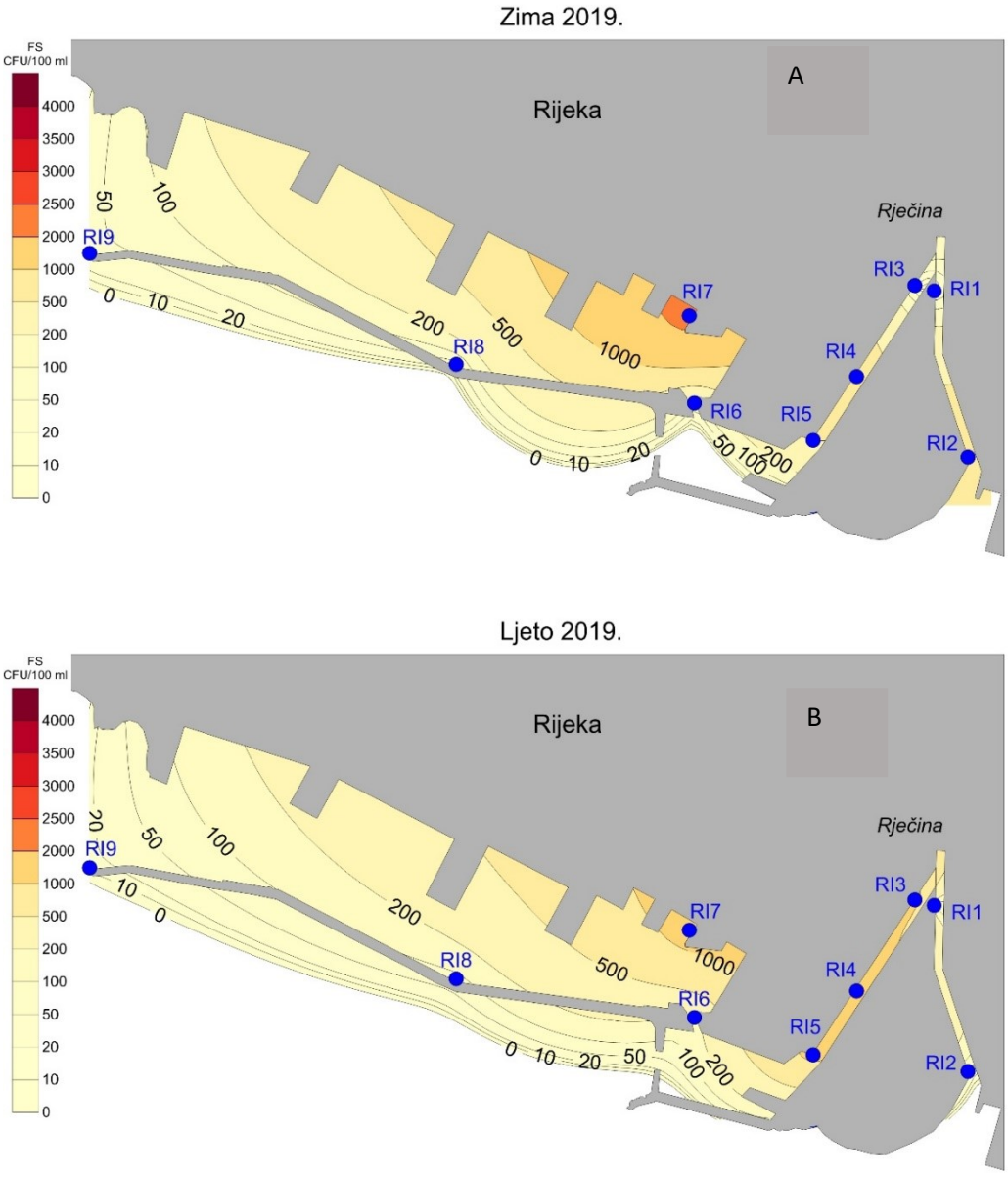
Koncentracija bakterije *E. coli* je tijekom veljače 2019. (slika 8A) varirala između $0\ \mathrm{CFU/100\ mL}$ i $3140\ \mathrm{CFU/20\ mL}$. Najniža koncentracija ($0\ \mathrm{CFU/100\ mL}$) je bila izmjerena na postajama RI3 i RI9, a najviša koncentracija ($3140\ \mathrm{CFU/20\ mL}$) je bila izmjerena na postaji RI7. Prosječna koncentracija bakterije *E. coli* u veljači je iznosila $1750\ \mathrm{CFU/100\ mL}$. U kolovozu 2019. (slika 8B), koncentracija bakterije *E. coli* je iznosila između $5\ \mathrm{CFU/100\ mL}$ i $4576\ \mathrm{CFU/100\ mL}$. Najniža koncentracija je ponovno izmjerena na postaji RI9, dok je najviša koncentracija ponovno izmjerena na postaji RI7. Prosječna koncentracija bakterije *E. coli* je tijekom kolovoza 2019. iznosila oko $962\ \mathrm{CFU/100\ mL}$.



Slika 8: Raspodjela *E. coli* (CFU/100 mL) u površinskom sloju tijekom zime 2019. (A) i ljeta 2019. (B)

5.1.4 Koncentracija fekalnih streptokoka (FS)

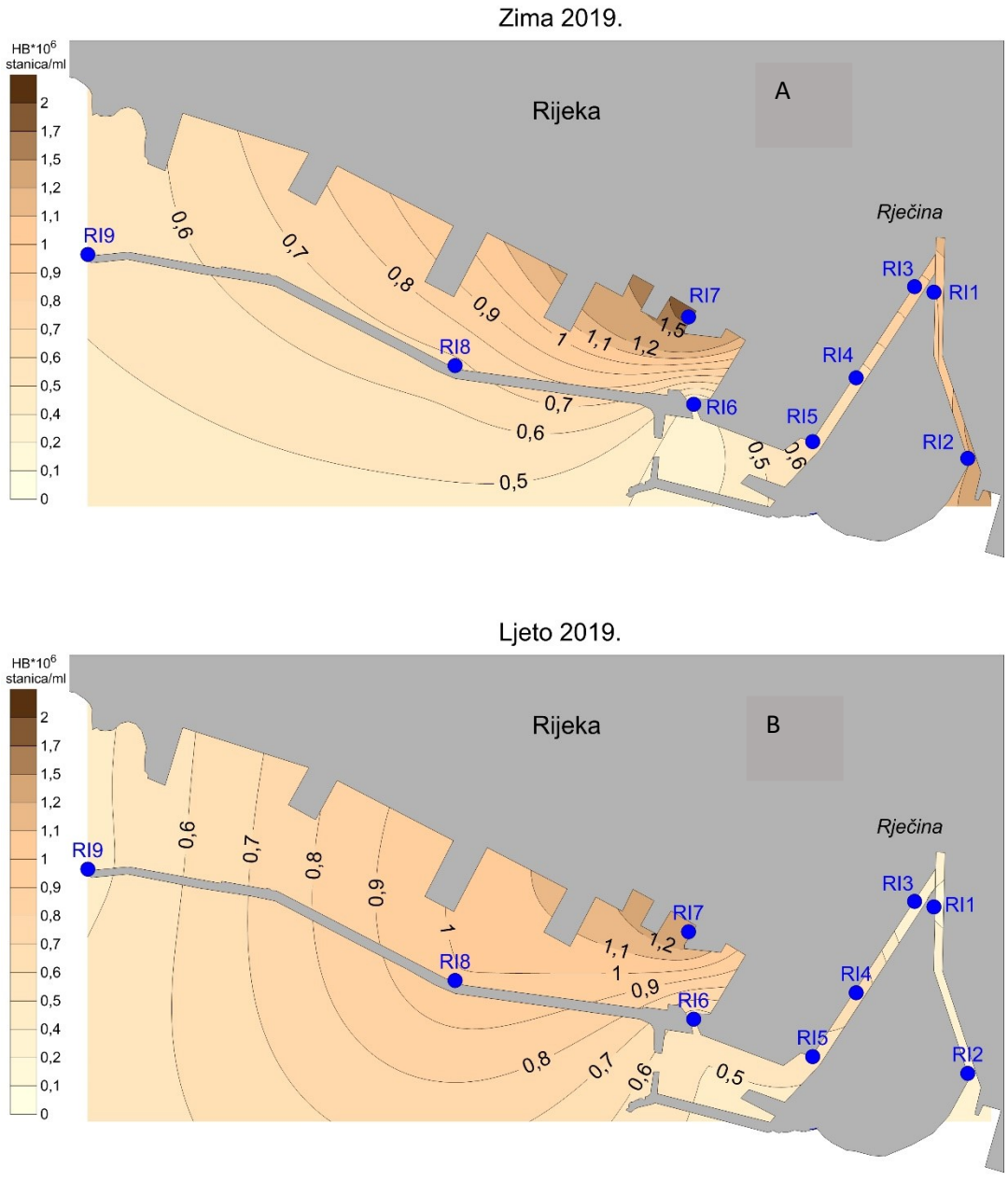
Tijekom veljače 2019. (slika 9A), koncentracija fekalnih streptokoka je iznosila između $0\,\mathrm{CFU/100\,mL}$ (postaja RI1) i $2420\,\mathrm{CFU/100\,mL}$ (postaja RI7). Prosječna koncentracija fekalnih streptokoka tijekom veljače je bila oko $501\,\mathrm{CFU/100\,mL}$. U kolovozu (slika 9B) je koncentracija fekalnih streptokoka varirala između $13\,\mathrm{CFU/100\,mL}$ i $1289\,\mathrm{CFU/100\,mL}$. Najniža izmjerena koncentracija je bila na postaji RI9 ($12\,\mathrm{CFU/100\,mL}$), dok je najviša koncentracija ($1289\,\mathrm{CFU/100\,mL}$) u kolovozu bila izmjerena na postaji RI4. Prosječna koncentracija fekalnih streptokoka je iznosila oko $593\,\mathrm{CFU/100\,mL}$.



Slika 9: Raspodjela fekalnih streptokoka (CFU/100 mL) u površinskom sloju tijekom zime 2019. (A) i ljeta 2019. (B)

5.1.5 Koncentracija heterotrofnih bakterija

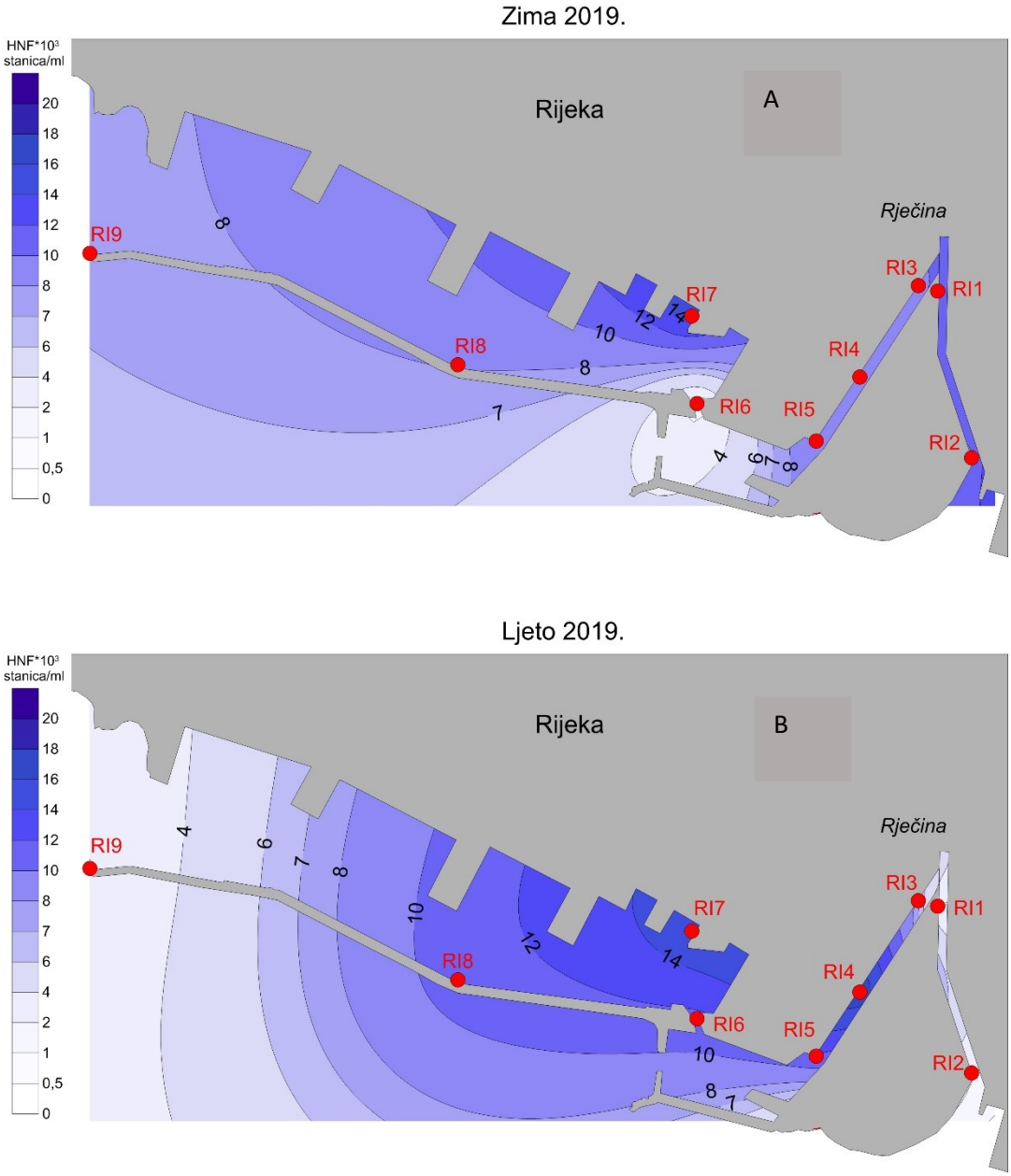
Tijekom veljače (slika 10A), koncentracija heterotrofnih bakterija varirala je između 0.4*10^6 stanica/mL i 1.71*10^6 stanica/mL. Najniža koncentracija (0.4*10^6 stanica/mL) bila je izmjerena na postaji RI6, a najviša koncentracija (1.71*10^6 stanica/mL) bila je izmjerena na postaji RI7. Prosječna koncentracija heterotrofnih bakterija, izmjerenia u veljači, iznosila je 0.87*10^6 stanica/mL. U kolovozu (slika 10B) je koncentracija heterotrofnih bakterija varirala između 0.1*10^6 stanica/mL i 1,25*10^6 stanica/mL. Najniža koncentracija je izmjerena na postaji RI1, a najviša koncentracija na postaji RI7. Prosječna koncentracija heterotrofnih bakterija je iznosila 0.54*10^6 stanica/mL.



Slika 10: Raspodjela heterotrofnih bakterija (HB*10^6 stanica/mL) u površinskom sloju tijekom zime 2019. (A) i ljeta 2019. (B)

5.1.6 Koncentracija heterotrofnih nanoflagelata

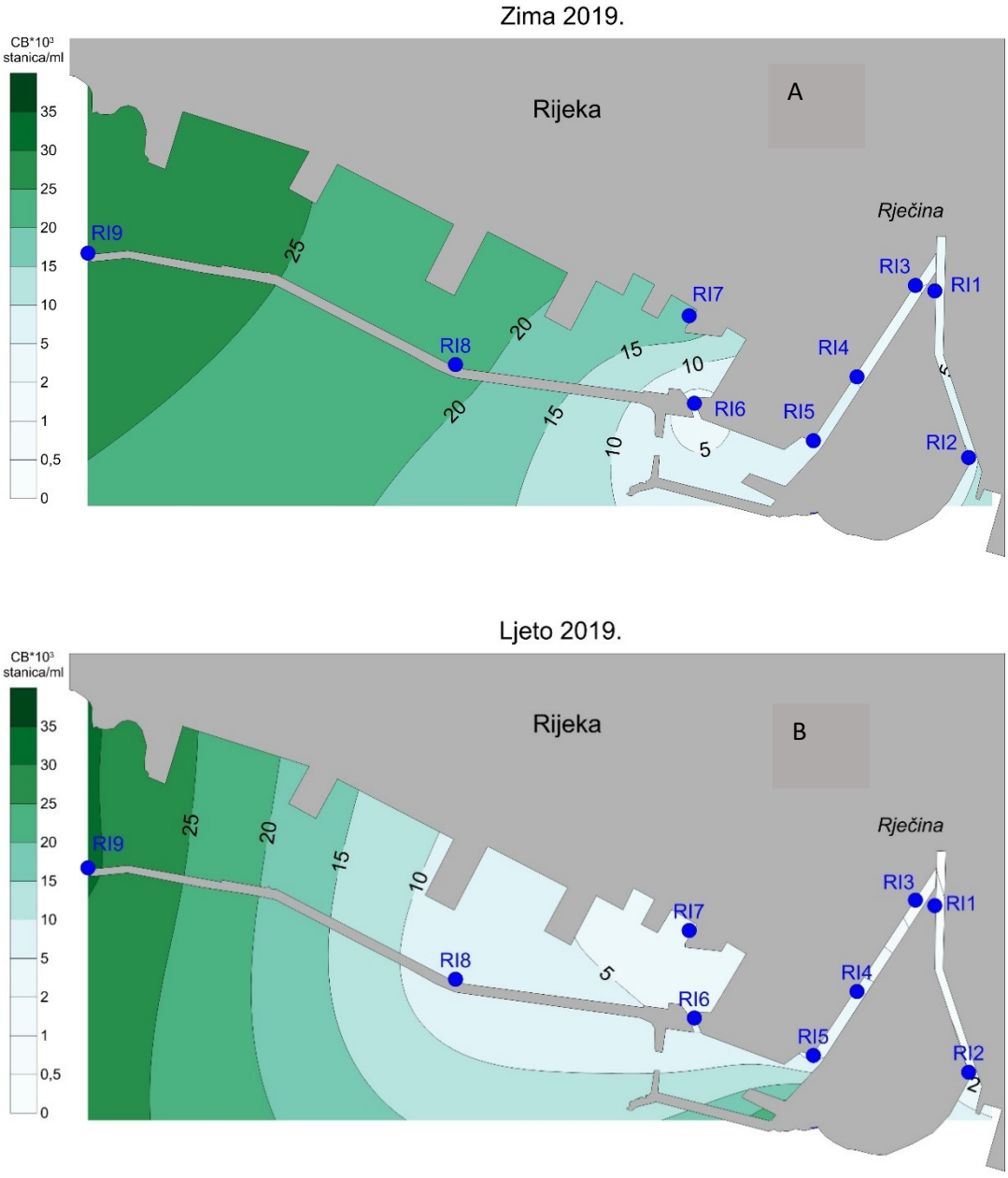
Koncentracija heterotrofnih nanoflagelata je tijekom veljače (slika 11A) iznosila između 2.1*10^3 stanica/mL i 14*10^3 stanica/mL. Najniža koncentracija je zabilježena na postaji RI6, dok je najviša koncentracija bila zabilježena na postaji RI7. Prosječna koncentracija heterotrofnih nanoflagelata je tijekom veljače iznosila 8.16*10^3 stanica/mL. Tijekom kolovoza (slika 11B) je koncentracija heterotrofnih nanoflagelata varirala između 2*10^3 stanica/mL (postaja RI1) i 16*10^3 stanica/mL (postaja RI4). Prosječna koncentracija heterotrofnih nanoflagelata tijekomkolovoza je iznosila 8.77*10^3 stanica/mL.



Slika 11: Raspodjela heterotrofnih nanoflagelata (HNF*10^3 stanica/mL) u površinskom sloju tijekom zime 2019. (A) i ljeta 2019. (B)

5.1.7 Koncentracija cijanobakterija

U veljači 2019. (slika 12A) je koncentracija cijanobakterija iznosila između 2.1*10^3 stanica/mL i 28*10^3 stanica/mL. Najniža koncentracija (2.1*10^3 stanica/mL) je izmjerena na postaji RI3, dok je najviša koncentracija (28*10^3 stanica/mL) izmjerena na postaji RI9. Prosječna koncentracija cijanobakterija u veljači je iznosila 9.93*10^3 stanica/mL. Tijekom kolovoza 2019. (slika 12B) je koncentracija cijanobakterija iznosila između 0.25*10^3 stanica/mL (postaja RI3) i 30.2*10^3 stanica/mL (postaja RI9) te je prosječna vrijednost koncentracije cijanobakterija u kolovozu oko 6.37*10^3 stanica/mL.



Slika 12: Raspodjela cijanobakterija (CB*10^3 stanica/mL) u površinskom sloju tijekom zime 2019. (A) i ljeta 2019. (B)

5.2 Diskusija

Najveće opterećenje na kvalitetu mora i onečišćenje u sjevernom Jadranu se događa na riječnim ušćima, dok su gradovi glavni izvori lokalnog onečišćenja. S talijanske strane to su rijeke Po i Adige te gradovi Ravena, Rimini, Ancona, Trst i Venecija, dok su na istočnoj obali Kopar, Pula i Rijeka, kao i velike industrije (Venecijanska laguna) te rafinerije (Riječka rafinerija). Teški metali (živa, kadmij, olovo, srebro itd.) također utječu na kvalitetu mora. Riječka luka sadrži koncentracije teških metala, slične drugim velikim lukama; živa i srebro su glavni zagađivači; trend smanjenja za većinu teških metala u vodama luke od kada su mnoge industrije zatvorene; samo srebro i olovo pokazuju visoku koncentraciju jer dospijevaju kroz kanalizacijske vode.

Jedan od najvećih pritisaka na priobalje dolazi tijekom sezonskog turizma, zbog čega u nekim regijama poput Istarske i Primorsko-goranske županije dolazi do udvostručenja populacije (Krpan i sur. 2015; Sović 2017).

Godišnja temperatura Jadrana varira između 8 °C i 24 °C, dok salinitet varira između 33 i 38 psu (Cibić i sur. 2017). Temperature su na svim postajama tijekom veljače, bez obzira što se neke nisu nalazile u morskoj vodi, bile iznad minimalne godišnje temperature za Jadran. Tijekom kolovoza izmjerene temperature su bile ispod maksimalne godišnje vrijednosti, osim na postaji RI8 koja je bila nešto toplija. Salinitet je na postajama koje se nalaze u morskoj vodi (Riječka luka) ispod minimalnog prosječnog saliniteta zbog dotoka slatkih voda, jedino je salinitet na postaji RI9 u veljači bio iznad minimalne vrijednosti, dok je u kolovozu bio iznad maksimalne vrijednosti.

Kao što je očekivano u razdoblju od 6 mjeseci temperatura se povećala ljeti. U Rječini, temperatura u kolovozu iznosila je 8.55 °C više, nego u veljači, u Mrtvome kanalu se temperatura povećala za 10.53 °C, dok je u Riječkoj luci izmjerena temperatura bila veća za 13.93 °C. Salinitet se također povećao. U Rječini se je prosječni salinitet povećao 1.78 puta, u Mrtvome kanalu se salinitet povećao 1.53 puta, dok se u Riječkoj luci povećao 1.15 puta. Prosjek koncentracije bakterije *E. coli* se tijekom 6 mjeseci u Rječini povećao 84 puta, u Mrtvome kanalu je zabilježen znatno veći prosjek koncentracije (za oko dva reda veličine), dok je u luci prosjek veći tek 1,44 puta.

Granične vrijednosti su pređene na postaji RI7 tijekom zimskog uzorkovanja te na postajama RI3, RI5 i RI7 tijekom ljetnog uzorkovanja. Prosjek koncentracija fekalnih streptokoka je tijekom 6 mjeseci u Rječini i Riječkoj luci pao te je tijekom kolovoza u Rječini iznosio 17.37%, a u luci je iznosio 58.58% iznosa koji je izmjeren tijekom veljače. Fekalni streptokoki su pokazali rast jedino u Mrtvome kanalu, gdje se njihov prosjek koncentracije u kolovozu povećao oko 3 puta u odnosu na veljaču. Tijekom zime, FS su prelazili dozvoljenu graničnu koncentraciju na postajama RI2, RI4, RI5 i RI7, dok su tijekom ljeta prelazili dozvoljenu graničnu koncentraciju na postajama RI3, RI4, RI5 i RI7.

Tijekom zimskog uzorkovanja, jedino je na postaji RI7 zabilježen fekalni materijal ljudskog porijekla (FK:FS>4.0), na postaji RI8 nije potpuno sigurno kojeg porijekla je fekalni materijal, dok su na ostalim postajama zabilježeni fekalni materijali životinjskog porijekla (FK:FS<0.7). Tijekom ljetnog uzorkovanja je uz postaju RI7, fekalni materijal ljudskog porijekla zabilježen i na postaji RI2 te je na postaji RI3, RI5, RI6 i RI8 zabilježen omjer FK:FS između 0.7 i 4.0 što znači da nije potpuno sigurno kojeg porijekla je fekalni materijal.

U ljetnom razdoblju zabilježene su smanjene koncentracije heterotrofnih bakterija što nije bilo u skladu s očekivanjima (Krstulović i Šolić, 2006) budući da u sjevernom Jadranu općenito bakterije pokazuju sezonsko povećanje u ljetnim mjesecima. Tijekom ljeta u Rječini, prosjek koncentracije heterotrofnih bakterija pao je za 86.3%, u Mrtvome kanalu je pao za 40.82%, a u luci je pao za 4.85% u odnosu na zimu. Najvjerojatnije veći donos slatkih voda zabilježen tijekom zime obogatio je priobalne vode većim količinama nutrijenata i otopljene organske tvari koje su omogućili veći bakterijski rast na području pod direktnim utjecajem rijeke i kanalizacijskih ispusta.

Heterotrofni nanoflagelati su tijekom kolovoza u odnosu na veljaču zabilježili pad jedino u Rječini (26.93%), dok su u Mrtvome kanalu i Riječkoj luci zabilježili porast od oko 28%. Heterotrofni nanoflagelati su tijekom zime i ljeta na svim postajama prelazili koncentraciju od 10^3 stanica po mililitru. Općenito, ove praživotinje pratile su raspodjelu heterotrofnih bakterija koje su njihov omiljeni plijen.

Prosjek koncentracije cijanobakterija se tijekom ljeta smanjio. Cijanobakterije su tijekom zime prelazile vrijednost od 10^3 stanica po mililitru, dok je tijekom ljeta najniža koncentracija iznosila ispod $5*10^2$ stanica po mililitru ($0.25*10^3$ stanica po mililitru). Prostorna raspodjela cijanobakterija pokazala je da su njihove brojnosti bile najniže na područjima smanjenog saliniteta. Na tim lokacijama zabilježena je i smanjena prozirnost mora koja je najvjerojatnije limitirala njihovu mogućnost provedbe fotosinteze.

Usporedbom dobivenih rezultata s mjerenjima prethodnih završnih radova koji su provedeni uz južnu i istočnu obalu Istre vidljivo je kako ljudsko opterećenje na području Riječke luke predstavlja značajan problem koji potencijalno ugrožava ljudsko zdravlja te istovremeno mijenja sastav mikrobne zajednice. Na primjer, prosječna koncentracija bakterije *E. coli* u Rijeci tijekom zime je iznosila $1750\ \mathrm{CFU}/100\ \mathrm{mL}$, dok je u Medulinu iznosila $18\ \mathrm{CFU}/100\ \mathrm{mL}$ (Sović 2017), a u uvali Vinjole je iznosila $9\ \mathrm{CFU}\ /\ 100\ \mathrm{mL}$ (Bajić 2019). Tijekom ljeta 2019., koncentracija bakterije *E. coli* je u Rijeci također bila veća, nego u Medulinu i u Vinjolama. Koncentracija fekalnih streptokoka je također bila za oko red veličine viša u odnosu na Medulin i uvalu Vinjole.

Heterotrofne bakterije su tijekom zime imale abundancije , povišene za oko dva puta na području Rijeke u odnosu na istarske priobalne lokacije. Međutim tijekom ljeta su bile niže u odnosu na Medulin za oko dva puta i veće od uvale Vinjole za oko deset puta.

Najveća prosječna koncentracija heterotrofnih nanoflagelata tijekom zime je izmjerena u Rijeci 2019. ($8.16*10^3$ $\mathrm{stanica/mL}$), koja je bila oko 4 puta viša u odnosu na uvalu Vinjole i oko deset puta viša u odnosu na Medulin. Sličan trend je zabilježen i tijekom ljetnog uzorkovanja. Što se tiče cijanobakterija, tijekom zime njihova brojnost je bila oko dva puta niža u odnosu na uvalu Vinjole i oko 3 puta viša u odnosu na Medulin. Tijekom ljeta, brojnost cijanobakterija u Rijeci je bila za oko 5 puta niža u odnosu na Medulin i približno ista vrijednostima iz uvale Vinjole.

6. Zaključak

U ovome radu analizirani su mikrobiološki sastav i sanitarna kvaliteta vode iz Riječke luke, Mrtvoga kanala te iz ušća rijeke Rječine, kao i termohalini uvjeti na navedenim lokacijama. Rezultati su ukazali da Rječina značajno utječe na termohaline uvijete u riječkoj luci i mrtvom kanalu. Slatke vode obogaćene nutrijentima i organskim materijalom pogodovale su rastu heterotrofnih bakterija i heterotrofnih nanoflagelata, dok je njihov utjecaj na cijanobakterije bio negativan.

Ispostavilo se, prema omjerima fekalnih indikatora, da je tijekom veljače fekalni materijal bio u većini slučajeva životinjskog porijekla, dok je tijekom kolovoza, najvjerojatnije zbog povećanog broja turista, povećan i broj postaja na kojima je potvrđeno ljudsko porijeklo fekalnih indikatora, pogotovo na mjestima uz neposredne kanalizacijske ispuste.

Općenito, vode unutrašnjeg dijela Riječke luke oko postaje RI7 imale su nezadovoljavajuće sanitarne karakteristike i predstavljaju potencijalni rizik za ljudsko zdravlje, dok su ostale lokacije pokazale samo manju razinu fekalne kontaminacije.

Uz unos slatkih voda, ispuštanje kanalizacije vidljivo se odrazio na sastav i na brojnost mikrobne zajednice tijekom oba uzorkovanja. Usporedbom mikrobne zajednice na području Rijeke i drugih lokacija na južnoj i istočnoj obali Istre uočeno je da akvatorij Rijeke ima znatno više razine kontaminacije i pokazuje razlike u sezonskoj dinamici morske mikrobne zajednice.

7. Literatura i internet izvori

1. **Azam 1998.**, Microbial Control of Oceanic Carbon Flux: The Plot Thickens
2. **Bajić I. 2019.** Dinamika hranjivih soli i mikrobne zajednice, Pula; Završni rad
3. **Banić I. 2017.** Obrada i zbrinjavanje mulja s uređaja za pročišćavanje otpadnih voda, Pula; završni rad
4. **Cibić i sur. 2017.** The Port of Trieste (Northern Adriatic Sea)—A Case Study of the "Ecosystem Approach to Management"
5. **Cukrov, N., Frančišković-Bilinski, S., Hlača, B., Barišić, D. 2011.**, „A recent history of metal accumulation in the sediments of Rijeka harbour, Adriatic Sea, Croatia" *Marine pollution bulletin*, 62, pp 154-167.
6. **Cohan F.M. 2001.**, Bacterial Species and Speciation
7. **Coyne, M.S., Howell, J.M., 1994.**, The Fecal Coliform/Fecal Streptococci Ratio (FC/FS) And Water Quality in the Bluegrass Region of Kentucky Soil Sci 1994, News and Views. 34
8. **Drosg i sur. 2015.**, Photo-autotrophic Production of Poly(hydroxyalkanoates) in Cyanobacteria
9. **Korlević M. 2015.**, Detaljna analiza bakterijske raznolikosti Jadranskoga mora, Zagreb; doktorski rad
10. **Krpan i sur. 2015.**, Razvojna strategija Primorsko-goranske županije 2016.-2020.
11. **Krstulović, N., Šolić M., 2006.**, Mikrobiologija mora. Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split
12. **Partensky i sur. 1999.**, Differential distribution and ecology of Prochlorococcus and Synechococcus in oceanic waters: a review
13. **Sanders i sur. 1992.**, Relationships between bacteria and heterotrophic nanoplankton in marine and fresh waters: an inter-ecosystem comparison
14. **Sović T. 2017.**, Procjena mikrobiološkog stanja mora priobalja zapadne Istre, Pula; završni rad
15. **Vilke i sur. 2011.**, Luka Rijeka – referentna točka prometnog koridora Podunavlje – Jadran
16. **Zrilić i sur. 2013.**, Strategija razvoja Grada Rijeke za razdoblje 2014.–2020. godine Rijeka
17. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2010_07_87_2460.html, **13. srpnja 2010.**
18. http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=53040, **15. veljače 2019.**
19. http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=7483, **20. srpnja 2019.**
20. http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=45899, **01. prosinca 2019.**
21. https://www.fiuman.hr/prica-o-mrtvom-kanalu/, **16. veljače 2019.**
22. http://www.propisi.hr/print.php?id=8235, **20. lipnja 2008.**
23. https://www.rijeka.hr/rijecki-turizam-biljezi-jos-jednu-rekordnu-godinu/, **19.rujna 2018.**
24. https://www.thermofisher.com/hr/en/home/life-science/cell-analysis/fluorophores/dapi-stain.html, **05. listopada 2019.**
25. https://www.zzjzdnz.hr/hr/o-nama/rjecnik-pojmova/964, **02. prosinca 2019.**

Tablica 1. Izvor: Kakvoća mora u Republici Hrvatskoj – Uredba o kakvoći mora za kupanje, dostupno na: http://baltazar.izor.hr/plazepub/kakvoca_detalji10 (07.03.2019.)
Tablica 2. Izvor: Kakvoća mora u Republici Hrvatskoj – Uredba o kakvoći mora za kupanje, dostupno na: http://baltazar.izor.hr/plazepub/kakvoca_detalji10 (07.03.2019.)
Tablica 3. Izvor: Narodne novine – Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda, dostupno na: http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2010_07_87_2460.html (07.03.2019.)