Dinamika hranjivih soli i mikrobne zajednice

Bajić, Iva

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:137:678597

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

Image not found or type unknown

Repository / Repozitorij:

Digital Repository Juraj Dobrila University of Pula

zir.nsk.hr

Image not found or type unknown

Sveučilište Jurja Dobrile u Puli

Preddiplomski studij Znanost o moru

Pula

Iva Bajić

DINAMIKA HRANJIVIH SOLI I MIKROBNE ZAJEDNICE

Završni rad

Pula, 2019.

Sveučilište Jurja Dobrile u Puli

Preddiplomski studij Znanost o moru

Pula

Iva Bajić

DINAMIKA HRANJIVIH SOLI I MIKROBNE ZAJEDNICE

Završni rad

Ime i prezime: Iva Bajić

JMBAG: 0125144334, redoviti student

Studijski smjer: Znanost o moru

Kolegij: Kemija mora

Mentor: izv. prof. dr. sc. Tamara Đakovac

Neposredni voditelj: doc. dr. sc. Paolo Paliaga

Pula, rujan 2019.

IZJAVA O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, dolje potpisana IVA BAJIĆ, kandidatkinja za prvostupnicu 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, 27. rujna 2019.

IZJAVA

o korištenju autorskog djela

Ja, IVA BAJIĆ dajem odobrenje Sveučilištu Jurja Dobrile u Puli, kao nositelju prava iskorištavanja, da moj završni rad pod nazivom DINAMIKA HRANJIVIH SOLI I MIKROBNE ZAJEDNICE 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, 27. rujna 2019.

Potpis

_____

Sadržaj

1 Uvod 7

2 Ciljevi istraživanja 9

3 Literaturni pregled 10

3.1 Biogeokemijski ciklusi hranjivih soli 10

3.1.1 Fosforni spojevi 11

3.1.2 Dušikovi spojevi 11

3.1.3 Silicijevi spojevi 12

3.2 Bakterijske zajednice u moru 12

3.2.1 Heterotrofne bakterije 12

3.2.2 Heterotrofni nanoflagelati 14

3.2.3 Cijanobakterije 14

3.3 Sanitarna kakvoća mora 15

3.4 Indikatori sanitarne kakvoće mora 18

3.4.1 Ukupni (totalni) koliformi 19

3.4.2 Fekalni koliformi (FK) 19

3.4.3 Fekalni streptokoki (FS) 19

4 Materijali i metode 21

4.1 Područje istraživanja 21

4.1.1 Raški zaljev 21

4.1.2 Raša 21

4.1.3 Uvala Vinjole 22

4.2 Uzorkovanje 22

4.3 Sanitarna kvaliteta mora 24

4.4 Brojnost heterotrofnih bakterija, heterotrofnih nanoflagelata i cijanobakterija 25

4.5 Osnovni hidrografski parametri 26

4.5.1 Temperatura 26

4.5.2 Salinitet 26

4.5.3 Sadržaj kisika i udio zasićenja kisikom 26

4.5.4 Hranjive soli 27

4.6 Obrada podataka 29

5 Rezultati i diskusija 30

5.1 Rezultati 30

5.1.1 Raški zaljev 30

5.1.2 Uvala Vinjole 41
5.2 Diskusija 47
6 Zaključci 50
Literatura 51
Popis tablica 57
Popis slika 58
PRILOG 60

1 Uvod

Estuarij je potopljeno riječno ušće ljevkasta oblika, gdje se zbog smanjene energije i brzine riječnog toka taloži pretežiti dio donesenih sedimenata. Taj stanišni tip čine donji dijelovi riječnih dolina koji su izloženi utjecaju plime i oseke.

Estuariji naših krških rijeka zbog svog oblika i zbog toga što se nalaze u područjima malih morskih mijena imaju posebna oceanografska svojstva: stalnu stratificiranost vodenoga stupca zbog nagloga povećanja slanosti po dubini, potpovršinski temperaturni maksimum i vrlo dugo zadržavanje morske vode u estuariju. Tu su zato razvijene drugačije životne zajednice nego u okolnom moru. Živi svijet katkad je toliko bogat, a izmjena vode toliko spora da na nekim mjestima, čak i bez čovjekova utjecaja, može nestati otopljeni kisik u vodi, što će prouzročiti masovno ugibanje organizama.

Estuariji, pogotovo estuariji u kršu u koje se procjeđuje voda s okolnih kopnenih površina, vrlo su osjetljiva staništa izložena izrazitom utjecaju čovjeka. Ugrožava ih nasipavanje obale, onečišćenje i intenzivno iskorištavanje (urbanizacija, marikultura, turizam, poljoprivreda u zaleđu). Zbog prirodne eutrofnosti estuariji su osjetljiviji na antropogene utjecaje u odnosu na većinu obalnih ekosustava i ponekad se u njima zabilježe pridnene hipoksije, anoksije te bentoski pomori (Fadhullah i Grant, 2013). U Hrvatskoj samo estuariji Zrmanje, Krke i Neretve zauzimaju nešto veće prostore, ostali estuariji maleni su, što njihovu ugroženost čini još većom. Zbog privlačnosti za marikulturu postoji opasnost od (namjernog i nenamjernog) unošenja alohtonih svojti (što predstavlja rizik jer neke od njih mogu postati invazivne).

Važno je što potpunije opisati takva kompleksna područja s multidisciplinarnim pristupom (kemija, fizika i biologija) kako bi se što bolje shvatilo njihovo funkcioniranje, uzroci ugroženosti i predložile što efikasnije mjere zaštite. Neke od mjera zaštita su nadziranje kakvoće morske vode, ali i slatke vode koja u tom području ima znatan utjecaj; uspostavljanje sustavnog praćenja kvalitete različitih staništa, naročito ako dio područja služi marikulturi; potrebno je regulirati ribolov te uspostaviti zaštićena područja na mjestima gdje stanište još nije degradirano.

Razumijevanje dinamike hranjivih soli i mikrobne zajednice predstavlja temelj za opisivanje cijele biološke dinamike estuarija jer o njima ovisi primarna i sekundarna proizvodnja, razgradnja i remineralizacija organskog materijala i prijenos biomase prema višim karikama hranidbene mreže.

Uvala Vinjole koja je izvan sustava donosa slatkih voda, korištena je kao referentno područje.

2 Ciljevi istraživanja

Istražiti sezonsku dinamiku hidrografskih uvjeta i hranjivih soli u Raškom zaljevu i Uvali Vinjole.

Analizirati stanje i dinamiku mikrobne zajednice tijekom ljeta i zime u Raškom zaljevu i Uvali Vinjole.

Procijeniti sanitarnu kvalitetu mora u istraženom području.

3 Literaturni pregled

3.1 Biogeokemijski ciklusi hranjivih soli

Hranjive soli su anorganski spojevi fosfora, dušika i silicija otopljeni u morskoj vodi. Imaju važnu ulogu u procesima primarne proizvodnje organske tvari i ograničavanju brzine tih procesa. Prilikom primarne proizvodnje ugrađuju se u partikularnu fazu, plankton i detritus, te uključuju u prehrambeni lanac. Njihovo kruženje u ekosustavu obnavlja se procesima regeneracije (remineralizacije) iz organske (N i P) i anorganske tvari (Si). Taloženjem detritusa i izmjenom vodenih masa dolazi do prijenosa hranjivih soli u vodenom stupcu između različitih područja. U obalnom su moru također važni vanjski donosi, prvenstveno kopnenim vodama.

Prema „Karakterizaciji područja i izradi prijedloga programa i provedba monitoringa stanja voda u prijelaznim i priobalnim vodama Jadranskog mora prema zahtjevima Okvirne direktive o vodama EU (2000/60/EC)“ (Tablica 1) vode istraženog područja klasificirane su pomoću ukupnog anorganskog dušika i ortofosfata kao pokazatelje za biološki element kakvoće (BEK) fitoplanktona.

Tablica 1. Granice klasa za procjenu ekološkog stanja

	Anorganski dušik (TIN)				
	Salinitet	0,5 < s < 10		s > 10	
	Supstrat	KZ	SZ	KZ	SZ
Ekološko stanje	R/VD	P: < 80 µmol l^{-1} D: < 5 µmol l^{-1}		P: < 60 µmol l^{-1} D: < 5 µmol l^{-1}	
	D	P: < 150 µmol l^{-1} D: < 20 µmol l^{-1}		P: < 125 µmol l^{-1} D: < 20 µmol l^{-1}	
	U/L/VL	P: > 150 µmol l^{-1} D: > 20 µmol l^{-1}		P: > 125 µmol l^{-1} D: > 20 µmol l^{-1}	
	Ortofosfati				
	Salinitet	0,5 < s < 10		s > 10	
	Supstrat	KZ	SZ	KZ	SZ
	R/VD	< 0,1 µmol l^{-1}		< 0,1 µmol l^{-1}	
	D	< 0,3 µmol l^{-1}		< 0,5 µmol l^{-1}	
	U/L/VL	> 0,3 µmol l^{-1}		> 0,5 µmol l^{-1}	

KZ - krupno-zrnati, SZ - sitno-zrnati
R/VD= referentno/vrlo dobro
D=dobro
U/L/VL=umjereno/loše/vrlo loše

3.1.1 Fosforni spojevi

Fosforni spojevi u moru nalaze se u otopljenom i partikularnom obliku. U priobalnom području, za njihov donos s kopna, najznačajniju ulogu imaju rijeke i otpadne vode. Za urbane sredine važan je i donos fosfora industrijskim te poljoprivrednim otpadnim vodama.

U stanicama fitoplanktona fosfor igra važnu ulogu kao sastavni dio genetskog materijala (RNA i DNA) i u procesima iskorištavanja sunčeve svjetlosne energije prilikom fotosinteze (pretvorbe ATP u ADP i AMP; Westheimer, 1987). Asimilacija i pretvorba anorganskog u organski fosfor zbiva se i u mraku. U uvjetima njegovog iscrpljenja, važnu ulogu mogu odigrati i otopljeni organski spojevi kao izvori fosfora u procesima fotosinteze (Kuenzler, 1965; Perry i Eppley, 1981).

Zooplanktonskim konzumiranjem fitoplanktona fosfor se prenosi u više karike hranidbenog lanca. Autolizom i raspadom uginulih fitoplanktonskih stanica, te izlučivanjem planktonskih, nektonskih i bentoskih organizama nastaje organski fosfor koji je suspendiran u vodi. Organski se fosfor remineralizira bakterijskom i enzimatskom razgradnjom, odnosno regenerira ortofosfat. Značajna količina organskog fosfora sadržana je u nepotpuno asimiliranom materijalu, kao što su fekalni peleti, čija se hidroliza djelovanjem enzima fosforilaze događa vrlo brzo (Butler i sur., 1970).

U plitkom priobalnom području, za vrijeme intenzivne primarne proizvodnje može doći do značajne sedimentacije partikularnog organskog fosfora koji se regeneracijom većim dijelom vraća u vodeni stupac (Forsskahl i sur., 1982; Alongi, 1998).

3.1.2 Dušikovi spojevi

Ciklus dušika u moru reguliran je većim brojem fizikalnih, kemijskih i bioloških procesa od ciklusa fosfora. Raspored kemijskih oblika dušika u moru uglavnom je kontroliran redoks reakcijama koje za posrednike imaju fitoplankton i bakterije. Zbog toga je otopljeni anorganski dušik u morskoj vodi i u sedimentu prisutan u više oksidacijskih stanja (valencije od –3 do +5) od kojih su glavni nitrat, nitrit i amonijev ion (amonij). Fitoplanktonskom asimilacijom ugrađuju se u metabolite, kao što su proteini, serijom anaboličkih reakcija. Za pretvorbu nitrita u organske dušikove spojeve potrebno je manje energije nego za nitrat, jer je njegovo oksidacijsko stanje niže, dok se amonij može izravno ugrađivati u aminokiseline. Stoga je fitoplankton evoluirao svoje transportne mehanizme u pravcu prvenstva asimilacije više reduciranih oblika (Raymont, 1980; Von Brand i sur., 1982). Kao i u slučaju ostalih

hranjivih soli, u obalnim morima važni izvori dušikovih spojeva za primarnu proizvodnju su donosi slatkim vodama, te padaline i suho taloženje iz atmosfere.

3.1.3 Silicijevi spojevi

Najvažniji je izvor otopljenog silicija u obalnom moru donos rijekama. Glavni je oblik otopljenog silicija u morskoj vodi ortosilicijeva kiselina, slaba kiselina koja je u uvjetima pH=8,2 disocirana oko 5 % (Riley i Chester, 1971). Iako se značajno ne ugrađuje u organsku tvar, ortosilikat je važna i ponekad limitirajuća hranjiva sol (Schelske i sur., 1986; Levasseur i sur., 1990). Najvažniji je dijatomejama za izgradnju skeleta koje tako čine vezu između otopljenog i istaloženog biogenog silicija sačuvanog u sedimentu. Ortosilikat mogu još koristiti praživotinje, radiolarije i spužve. Regeneracija ortosilikata, za razliku od ortofosfata i dušikovih soli, prvenstveno je vezana uz otapanje silicijskih skeleta organizama (Kamatani, 1971; Fanning i Pilson, 1974; Yamada i D'Elia, 1984) koje se nastavlja za čitavo vrijeme tonjenja ljušturica iz eufotskog u dublje slojeve, pa i u sedimentu.

3.2 Bakterijske zajednice u moru

3.2.1 Heterotrofne bakterije

Heterotrofne bakterije najbrojnija su komponenta morskih mikrobnih zajednica (Sanders i sur., 1992). Njihova se brojnost kreće u rasponu od 10^3 do 10^8 st/ml te ovisi o trofičkom statusu određenog područja (Sanders i sur., 1992; Krstulović i Šolić, 2006). Po veličini spadaju u klasu pikoplanktona (od 0,2 do 2 μm), 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). Bakterije spadaju u prokariote te mogu biti klasificirane pomoću bojanja po Gramu, prema obliku stanica, potrebom za kisikom, pokretljivosti, metaboličkim i prehrambenim osobinama (Krstulović i Šolić, 2006).

Najveći dio zajednice heterotrofnih bakterija na globalnoj razini čini razred *Alphaproteobacteria* (koljeno Proteobacteria). Predstavnici ove skupine bakterija mogu sačinjavati i do 50 % ukupne pikoplanktonske zajednice u eufotičkoj i 25 % u mezopelagičkoj zoni (Cohan, 2001; Carlson i sur., 2009; Vergin i sur., 2013). Stanice su im manje od 1 μm i dobro su prilagođene oligotrofnim uvjetima koji vladaju u velikom dijelu oceana. Većina njih su Gram-negativne, dok ostatak spada u Gram varijabilne zbog nedostatka peptidoglikana.

Skupini morskih prokariota pripadaju i arheje koje se morfološki razlikuju od bakterija jer imaju jednostruku staničnu membranu i nemaju peptidoglikan (spoj šećera i aminokiselina) u staničnim stijenkama. Pored toga, dok su stanične membrane bakterija i eukariota građene pretežno od lipida koji su glicerolni esteri, membrane arheja su građene od lipida koji su glicerolni eteri. Arheje često žive u ekstremnim uvjetima, ali njihova brojnost u određenim dijelovima oceana može biti jako visoka. Procjenjuje se da u oceanima ima u prosjeku oko $1,3*10^{28}$ arheja i $3,1*10^{28}$ bakterija po litri. Opisano je oko 250 vrsta arheja koje su svrstane u dva koljena: Euryarchaeota i Crenoarchaeota (Korlević, 2015). Koljeno Euryarchaeota karakteristično je za površinske vode (Kirchman, 2008) dok je koljeno Crenorchaeota brojnije u dubokim vodama (Herndl i sur., 2005).

Bakterije su sveprisutne u moru te imaju temeljnu ulogu u kruženju nutrijenata u hranidbenim mrežama (Azam, 1998). Glavni izvor energije i ugljika za heterotrofne bakterije je organski otopljeni ugljik (dissloved organic carbon - DOC). Imaju i višestruku ulogu vezanu za hranjive soli. U uvjetima kada ima dovoljno otopljenog organskog dušika (dissolved organic nitrogen - DON) i otopljenog organskog fosfora (dissolved organic phosphorus - DOP), mogu mineralizirati organsku tvar i osloboditi dušik i fosfor koji su potrebni za primarnu proizvodnju. Kada se smanji količina raspoloživih hranjivih soli, bakterije mogu postati kompetitori fitoplanktonu. Ovisno o količini anorganskih i organskih supstrata, bakterije će biti neto proizvođači ili neto potrošači anorganskih soli (Azam i Smith, 1991). Većina morskih bakterija je pokretljiva, a uz pokretljivost se veže kemotaksija, odnosno sposobnost bakterija da se gibaju prema kemijskom podražaju. Prema tome, bakterije mogu mijenjati svoj prostorni raspored kao odgovor na gradijent hranjivih tvari u njihovom okolišu. Primjer za to jesu „fikosfere“, odnosno područja u blizini stanica algi koja su bogata otopljenom organskom tvari (Šolić i Krstulović, 2000).

Broj bakterija može biti značajno smanjen interakcijama s drugim mikroorganizmima kao što su mikro- i nanoflagelati, cilijati i fitoplankton. Na brojnost zasigurno utječu nanoplanktonski protisti koji mogu ukloniti od 54 do 75 % bakterijske populacije na dan (Caron i sur., 1992). Znatan utjecaj imaju i virusi budući da mogu ukloniti oko 20 % dnevne bakterijske proizvodnje (Šolić i Krstulović, 2000).

U sjevernom Jadranu bakterije pokazuju brojnosti u rasponu od $0,1*10^9$ do $6*10^9$ stanica po litri dok se u središnjem Jadranu kreću od $0,41*10^9$ do $3,43*10^9$ (Krstulović i Šolić, 2006). Najviše vrijednosti izmjerene su u površinskom sloju u zapadnom djelu sjevernog Jadrana (Fuks i sur., 2005). S druge strane, vrijednosti brojnosti u pridnenom sloju niže su od onih u površinskim vodama i relativno su konstantne u sjevernom Jadranu. Tijekom zime

brojnost heterotrofnih bakterija se smanjuje, u odnosu na ljeto, i relativno je ravnomjerno raspoređena u cijelom vodenom stupcu. Kad se more zagrije broj bakterija se postepeno povećava, pogotovo u površinskom sloju, gdje u ljeto dosežu najveću vrijednost.

Bakterije u Jadranu pokazuju pozitivnu korelaciju s temperaturom i s klorofilom *a*, dok je njihova korelacija sa salinitetom negativna što ukazuje da hranjive soli koje dolaze s rijekama imaju važnu ulogu u podržavanju rasta fitoplanktona i proizvodnji organske tvari u moru (Fuks i sur., 2005). Bakterije brzo odgovaraju na takve promjene i mogu poslužiti kao dobar pokazatelj perturbacija u morskom ekosustavu (Cavari i Colwell, 1988).

Postoji i antropogeni utjecaj na bakterije zbog velike količine tvari i energije koja dolazi u morski okoliš s kopna, rijekama i podzemnim vodama. Porastom ljudske populacije konstantno se povećava antropogeni pritisak na morski ekosustav, posebice u priobalnim područjima (Seguel i sur., 2001).

3.2.2 Heterotrofni nanoflagelati

Bičaši ili flagelati su jednostanični organizmi koji uključuju oblike čije značajke ukazuju na povezanost životinjskog i biljnog carstva. Određene skupine flagelata imaju sposobnost fotosinteze i posjeduju plastide u kojima se nalazi klorofil ili neki drugi pigment. Bičaši koji se hrane heterotrofno fagocitiraju male organizme ili čestice organske tvari i predstavljaju najznačajniju skupinu predatora pikoplanktonskih mikroorganizama (Fenchel, 1980; McManus i Furhman, 1988; Krstulović i Šolić, 2006).

Najbrojnija skupina heterotrofnih flagelata su veličine 2 – 10 μm, sferičnih do ovalnih stanica s dva biča, od kojih jedan ili oba imaju flagelarne dlačice (mastigoneme). Najznačajnije taksonomske skupine heterokontnih flagelata uključuju rodove: *Chrysomonades*, *Bicosoecides*, *Pedinellides*, *Choanoflagellates*, *Bodonides* i *Nanodinoflagellates*. Smatra se da su pripadnici skupina *Choanoflagellates* i *Chrysomonades* najefikasniji bakteriovori u moru i da je njihova brojnost veća od 10^3 stanica ml^{-1} (Krstulović i Šolić, 2006). Nanoplanktonski protisti veliki su potrošači prokariota i mogu ukloniti od 54 % do 75 % cijanobakterija i heterotrofnih bakterija svaki dan (Caron i sur.,1991).

3.2.3 Cijanobakterije

Cijanobakterije spadaju u autotrofne prokariote. Sve cijanobakterije sadrže klorofil *a* u tilakoidama te mogu provoditi fotosintezu (Fuhrman i Hagström, 2008; Krstulović i Šolić, 2006). Obuhvaćaju širok raspon kokoidnih i nitnastih – filamentnih prokariota te postoje 3

osnovna morfološka oblika: 1) jednostanični štapići i koki 2) filamenti 3) filamenti s heterocistama. Postoje pokretni i nepokretni oblici, a ukoliko se kreću čine to klizanjem po površini (Krstulović, Šolić, 2006). Oblici koji sadrže heterociste mogu fiksirati molekularni dušik. Unutar heterociste vladaju anaerobni uvjeti koji enzimu nitrogenazi omogućuju fiksaciju dušika.

Cijanobakterije mogu posjedovati plinske vakuole pomoću kojih reguliraju plutanje stanice u vodenom stupcu. Određene skupine cijanobakterija su pokretne. Njihova prisutnost u morskom okolišu je utvrđena u oceanskim i neritičkim vodama, "morskom snijegu" i fekalnim otpacima (Glover, 1985). Brojnost im se u morskoj vodi kreće u rasponu od 10^2 do 10^5 stanica ml^{-1} (Waterbury i Stanier, 1981). U vodama bogatim organskim tvarima može doći do intenzivnog razmnožavanja cijanobakterija i rezultirati cvjetanjem mora.

Rodovi *Prochlorococcus* i *Synechococcus* su najvažniji predstavnici morskih cijanobakterija. Cijanobakterije roda *Prochlorococcus* otkrivene su krajem 80-tih metodom protočne citometrije (Chisholm i sur., 1988). Ova skupina se smatra kao jedna od najvažnijih komponenti autotrofnog pikoplanktona svjetskih oceana (Partensky i sur., 1999).

Rod cijanobakterija *Synechococcus* je vrlo važna prokariotska komponenta autotrofnog pikoplanktona (Šilović, 2012). Vrste ovog roda prisutne su u gotovo svim oceanskim područjima brojnosti od nekoliko desetaka do 10^9 stanica l^{-1}, pri čemu je veća brojnost uočena u eufotičkoj zoni, no prisutne su i u jako oligotrofnim područjima (Partensky i sur., 1999). Ova skupina cijanobakterija otkrivena je nešto ranije u odnosu na *Prochlorococcus* zbog posjedovanja pigmenta fikoeritrina koji snažno autofluorescira žuto do narančasto pod plavim ili zelenim ekscitacijskim svjetlom (Johnson i Sieburth, 1979; Waterbury i sur., 1979).

Rod *Prochlorococcus* brojniji je u oligotrofnim vodama, za razliku od roda *Synechococcus* čija se brojnost povećava u vodama s većim koncentracijama nutrijenata. Rod *Synechococcus* ne prodire toliko duboko u vodu kao rod *Prochlorococcus*, ali pokazuje širu geografsku distribuciju koja uključuje vode bogate nutrijentima te polarne vode (Partensky i sur., 1999).

Predstavnici oba roda pokazuju afinitet prema uzimanju nukleozida i aminokiselina iz okoliša te ih se može smatrati fotoheterotrofima (Béja i Suzuki, 2008).

3.3 Sanitarna kakvoća mora

Sanitarna kakvoća mora omogućuje procjenu potencijalnog rizika zaraze patogenim mikroorganizmima. Temelji se na prisustvu indikatorskih organizama dospjelih u more

zajedno s potencijalno patogenim mikroorganizmima putem rijeka, ispuštanjem otpadnih voda i erozijom tla.

Standardi kakvoće mora za kupanje i rekreaciju na morskoj plaži regulirani su Uredbom o kakvoći mora za kupanje (NN 73/08) i EU direktivom o upravljanju kakvoćom vode za kupanje (br. 2006/7/EZ). Mikrobiološki pokazatelji koji se prate u moru su crijevni enterokoki i *Escherichia coli* (baltazar.izor.hr, 05.09.19). Granične vrijednosti su propisane Tablicama 1 i 2.

Prema Pravilniku o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 87/2010), propisane su granice vrijednosti fekalnih koliforma i fekalnih streptokoka u vodama koje se koriste za kupanje i rekreaciju. Vrijednosti su prikazane u Tablici 3.

Tablica 2. Standardi za ocjenu kakvoće mora za kupanje nakon svakog ispitivanja

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 3. Standardi za ocjenu kakvoće mora na kraju sezone kupanja i za prethodne tri sezone kupanja

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

bik - broj izraslih kolonija

* - temeljeno na vrijednosti 95-og percentila

** - temeljeno na vrijednosti 90-og percentila

Tablica 4. Granične vrijednosti emisija pročišćenih komunalnih otpadnih voda koje se ispuštaju u površinske vode, a koje se koriste za kupanje i rekreaciju te referentne metode ispitivanja

POKAZATELJI	MJERNA JEDINICA	GRANIČNE VRIJEDNOSTI		REFERENTNE METODE ISPITIVANJA
		KOPNENE POVRŠINSKE VODE	PRIOBALNE VODE	
1	2	3	4	5
Koliformne bakterije	bik/100 ml	10 000	2 000	HRN EN ISO 9308-1:2000
Koliformne bakterije fekalnog podrijetla	bik/100 ml	2 000	500	HRN EN ISO 9308-1:2000
Streptokoki fekalnog podrijetla	bik/100 ml	400	200	HRN EN ISO 7899-2:2000

3.4 Indikatori sanitarne kakvoće mora

Patogeni mikroorganizmi kvantitativno su najznačajnija kategorija alohtonih mikroorganizama koja dospijeva u more putem otpadnih voda (Krstulović i Šolić, 2006) te uključuju predstavnike bakterija, virusa, gljivica i protista. Uzročnici su širokog spektra bolesti poput kolere, tifusa, dizenterije, gastroenteritisa, hepatitisa te raznih infekcija i mikoza. Gustoća i raznolikost patogena prisutnih u vodama ovisi o broju ljudi na tom području, o sezonalnoj zastupljenosti nekih bolesti i rasprostranjenosti patogena unutar zajednice (Pipes, 1982). Preživljavanje patogena koji dospijevaju u more općenito je relativno kratko i kreće se u rasponu od nekoliko sati do nekoliko dana za bakterije do nekoliko tjedana za viruse i protiste (Krstulović i Šolić, 2006). Dio patogenih mikroorganizama koji dospije u more može se akumulirati u morskim organizmima, posebno filtratorima kao što su školjkaši, i na taj način doseći koncentracije znatno više nego u okolnoj vodi.

Kako bi se očuvalo ljudsko zdravlje pri korištenju mora za rekreaciju te kao izvor hrane, potrebno je odrediti sanitarnu kvalitetu mora. Ona omogućuje procjenu potencijalnog rizika zaraze patogenim mikroorganizmima, odnosno ukazuje da li broj prisutnih patogena predstavlja neprihvatljiv rizik za zdravlje (Krstulović i Šolić, 2006.). Indikatori su pokazatelji sanitarne kakvoće mora tj. potencijalnog rizika od zaraze kod ljudi prilikom obitavanja u moru te iskorištavanju resursa za prehranu.

Najbolji indikatori su oni organizmi koji pokazuju najveći stupanj korelacije sa stupnjem rizika za ljudsko zdravlje (Krstulović i Šolić, 2006). Neke od osobina koje mora imati indikator su slijedeće: mora uvijek biti prisutan kada su prisutni patogeni; ne smije se razmnožavati u mediju u kojem se mjeri njegova brojnost/abundancija; ne smije biti patogen za čovjeka; vrijeme njegovog preživljavanja mora biti slično vremenu preživljavanja patogena kojeg se prati.

Postoje 3 vrste klasičnih indikatora fekalnog onečišćenja mora (Slika 1):

1. Ukupni (totalni) koliformi (UK)
2. Fekalni koliformi (FK)
3. Fekalni streptokoki (FS)

3.4.1 Ukupni (totalni) 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 h proizvode kiselinu i plin. Skupini ukupnih koliforma pripadaju rodovi *Escherichia, Citrobacter, Klebsiella* i *Enterobacter*.

Oslobađaju se u okoliš preko fekalija ljudi u brojnosti od oko 10^7 stanica/g ili oko 10^9 stanica dnevno. Osim što se mogu koristiti kao pokazatelji fekalnog onečišćenja, skupina ukupnih koliforma uključuje i bakterije nefekalnog porijekla (Krstulović i Šolić, 2006). Neki koliformi se mogu razmnožavati u prirodnim vodama te mogu ukazati na lažno onečišćenje.
Ukupni koliformi kratko preživljavaju u moru pa njihova prisutnost ukazuje isključivo na svježe onečišćenje fekalnim materijalom ili zemljom.

3.4.2 Fekalni koliformi (FK)

Predstavljaju skupinu aerobnih i fakultativno anaerobnih Gram-negativnih nesporogenih štapića koji fermentiraju laktozu na temperaturi od 44.5 °C pri kojoj u razdoblju od 24 h proizvode kiselinu i plin. Pokazuju vrlo visoku korelaciju sa stupnjem fekalnog onečišćenja koje potječe od toplokrvnih životinja. Najzastupljenija vrsta je *E. coli* (75-95 %). Indikator je svježeg onečišćenja mora s fekalnim materijalom (Krstulović i Šolić, 2006).

3.4.3 Fekalni streptokoki (FS)

Fekalni streptokoki su Gram-pozitivni, izduženi ili ovalni koki porijeklom iz crijeva toplokrvnih organizama. Njihovo prisutstvo u morskom okolišu također ukazuje na onečišćenje fekalnim materijalom. Budući da preživljavaju duže nego ukupni i fekalni koliformi, pokazatelji su nešto starijeg onečišćenja.
Fekalni streptokoki mogu pružiti precizniju informaciju o izvoru onečišćenja. Utvrđivanjem kvantitativnog sastava fekalnih streptokoka moguće je razlikovati da li određeni izvor fekalnog otpada potječe iz domaćinstava ili od životinja.

Omjer između koncentracija fekalnih koliforma i fekalnih streptokoka (FK:FS) u uzorku može se upotrijebiti kao pokazatelj porijekla fekalnog onečišćenja. FK:FS < 0,7 pokazatelj je životinjskog porijekla, dok je omjer FK:FS > 4,0 pokazatelj isključivo ljudskog porijekla fekalnog materijala, s tim da ovi odnosi vrijede isključivo za svježi fekalni otpad, ne stariji od 24 sata (Krstulović i Šolić, 2006).



Slika 1. Shematski prikaz klasičnih indikatora fekalnog onečišćenja mora

4 Materijali i metode

4.1 Područje istraživanja

4.1.1 Raški zaljev

Raški zaljev, zbog toga što je estuarij, korišten je kao lokacija za mjerenje zbog utjecaja slatkih voda. U tekstu, umjesto termina estuarij, koristit ću zaljev.

Raški zaljev je duboki zaljev koji se nalazi na istočnoj obali Istre jugozapadno od Labina. Donji je dio nekadašnje doline rijeke Raše, koji je potopljen mladim postglacijalnim izdizanjem morske razine. Dug je oko 12 km, prosječne širine približno 1 km. Dubina zaljeva kreće se od 44 m na ulazu u zaljev do 10 m kraj luke Bršica; dalje prema ušću nastavljaju se pličine s dubinama manjim od 3 m. Raša svojim nanosima malo-pomalo zatrpava zaljev, što je pogotovo primjetno duž zapadne obale. Strane Raškoga zaljeva su strme i nepristupačne, građene uglavnom od vapnenca, a obrasle su oskudnom sredozemnom vegetacijom. Važnost Raškoga zaljeva raste u XIX.st., kada se gradi utovarna luka za ugljen Bršica. Za vrijeme talijanske uprave započela je melioracija donje doline Raše, koja se s vremenom pretvara u plodno tlo. Nakon 1945. luka Bršica proširena je izgradnjom terminala za drvo i stoku (Suić, 1956).

4.1.2 Raša

Raša je rijeka koja je dužinom svog toka drugi vodotok na hrvatskom dijelu istarskog poluotoka. Njezin izvorišni dio smješten je između slijeva ponornica Pazinčice i Boljunčice, dok prema zapadu graniči s okršenom vapnenačkom pločom zapadne i jugozapadne Istre. Njezin je najsjeverniji izvorski krak Posterski potok, koji izvire na oko 300 m ispod Paza primajući nizvodno čitav niz povremenih pritoka s fliškoga područja. Dužina rijeke Raše, sa samo glavnim tokom i pritocima potoka Posterski, Tupaljski i Krapanski (bez povremenih bujičnih pritoka) iznosi 49,8 km. Plimni val utječe i na pojavu bočate vode u donjem dijelu toka Raše. Danas je cijeli tok Raše kroz usječenu dolinu melioriran, pa se koristi za poljodjelstvo, kao i odvojak doline prema istoimenom gradiću (Božičević i Matijašić, 2005).

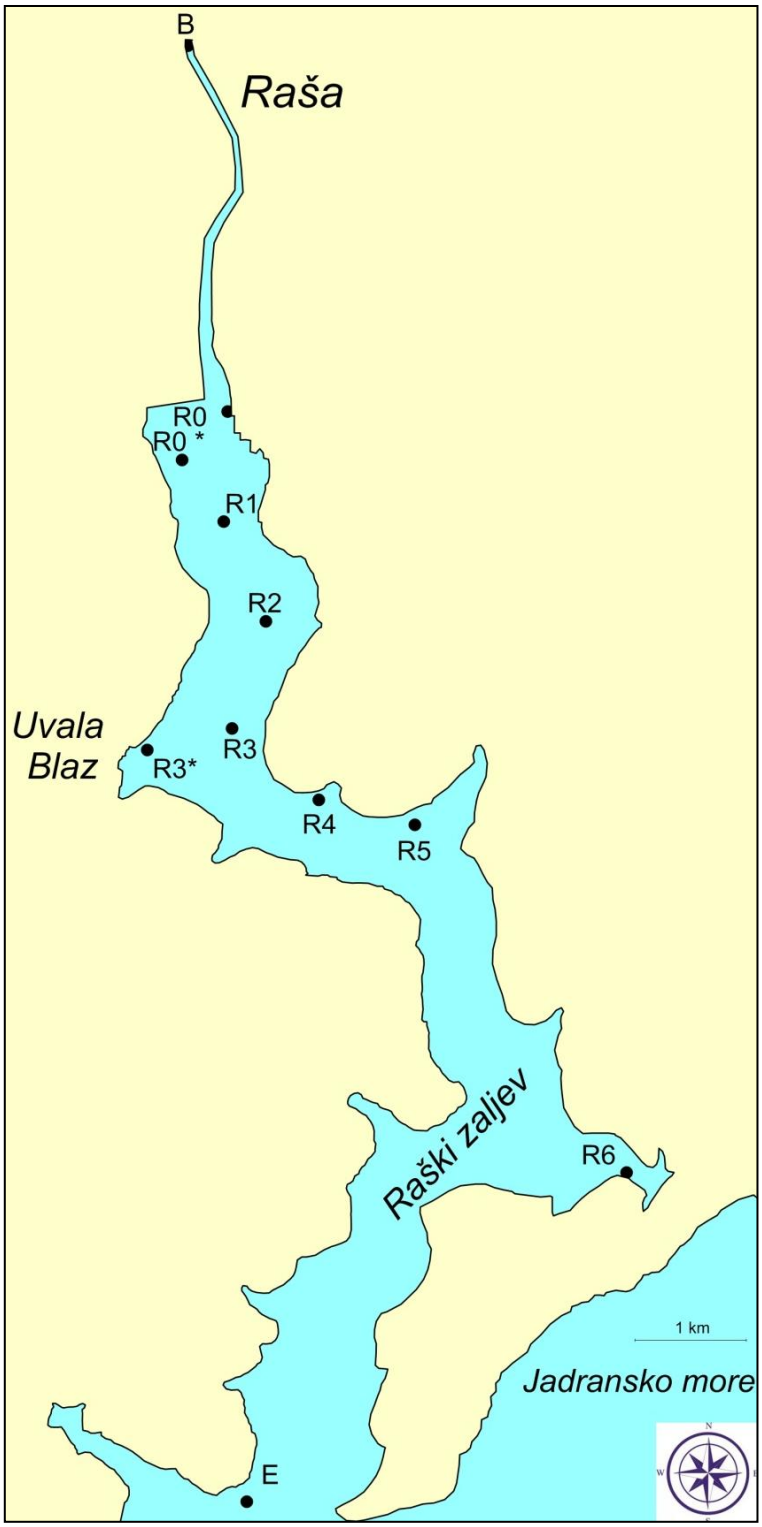
4.1.3 Uvala Vinjole

Uvala Vinjole nalazi se relativno blizu Raškom zaljevu no izvan je sustava donosa slatkih voda pa je zbog toga korištena kao kontrolna lokacija radi usporedbe izmjerenih parametara između estuarija (Raški zaljev) i morske uvale (uvala Vinjole).

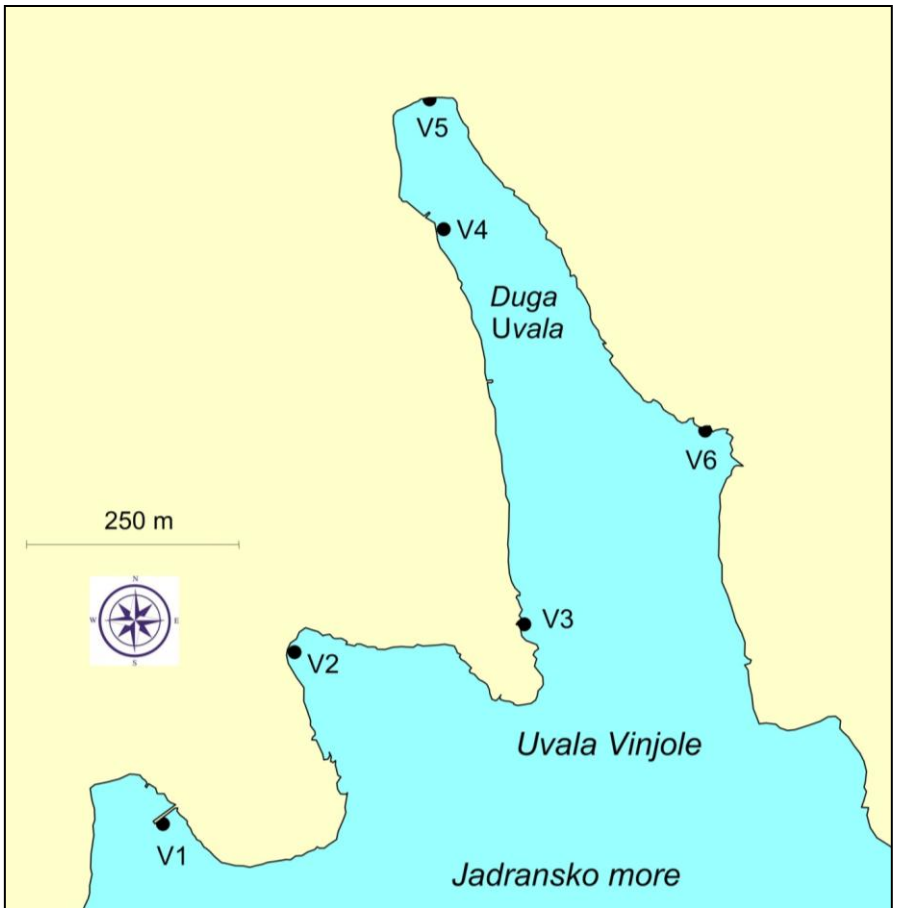
Vinjole je uvala i zaklonište za manje brodove i jahte koja se nalazi na jugoistočnoj obali Istre. Višestruko je usječena u strmu obalu ispod obližnjih naselja Pavičini i Šegotići, a omeđuju ju rt Vinjole na jugu i rt Arne na sjeveru. Kopno oko Vinjole obraslo je gustom neprohodnom sredozemnom makijom. Uvala je duga 1,5 km i široka do 1 km. Pličinom, sa samo 0,3 m dubine, na sredini podijeljena je na dva dijela (sjeverni i južni). Dubina mora je 36 m na ulazu, a 15 m i 22 m u unutrašnjim dijelovima. Unutrašnji dio uvale podijeljen je u više malih uvalica, od kojih su sjeverna (Duga) i južna (Oštarija) najdublje usječene u kopno. Pojedini dijelovi Vinjole dobro su zaštićeni od opasnih vjetrova, iako je ona u cjelini izložena vjetru i valovima s jugoistoka, a i bura se jako osjeća. U sjevernom dijelu Vinjole, danas poznatom kao Duga Uvala, 1980-ih izgrađeno je turističko naselje i hotel Duga Uvala gdje se nalazi zdravstveno-rekreacijski centar od 1996. To turističko naselje jedino je na jugoistočnoj obali Istre (Istarska enciklopedija, 2005).

4.2 Uzorkovanje

Uzorkovanje je provedeno tijekom zime i ljeta 2016. godine na dva različita područja istočnog dijela Istre, u uvali Vinjole i Raškom zaljevu. Na području uvale Vinjole uzorci vode su prikupljeni na 0 m dubine na četiri lokacije raspoređene duž Duge Uvale te po jedne lokacije u dvije uvale smještene južno od Duge Uvale (Slika 3). U Raškom zaljevu uzorci vode prikupljeni su na 0 m i na 5 m dubine. Uzorkovanje je provedeno na 9 postaja u unutrašnjem dijelu zaljeva, na jednoj postaji kod mosta Raša te kod vanjskog dijela zaljeva (Slika 2). Koordinate izabranih postaja prikazane su u Prilogu u Pomoćnim tablicama 1 i 2.



Slika 2. Prikaz postaja u Raškom zaljevu.



Slika 3. Prikaz postaja u uvali Vinjole.

4.3 Sanitarna kvaliteta mora

Sanitana kvaliteta mora određena je pomoću *E. coli*, fekalnih koliforma i fekalnih streptokoka metodom membranske filtracije (WHO, 1994). Na svakoj lokaciji prikupljeno je u sterilne staklene boce 500 ml morske vode. Uzorci su čuvani i transportirani do laboratorija prijenosnim frižiderom kako bi ih se zaštitilo od svjetla i promjena u temperaturi. Iz svake boce filtrirano je 100 ml i 10 ml kroz membranske filtre (Millipore, 0.45 μm, 47 mm).

Za određivanje *E. coli* membranski filtri postavljeni su na površinu hranjive podloge *Chromogenic coliform agar iso formulation* u petrijevim zdjelicama, te inkubirani 24 sata na temperaturi od 36 °C. Kolonije koje su izrasle i pokazale karakterističnu plavu boju

identificirane su kao *E. coli* te izbrojane. Izračunata je srednja vrijednost svih razrjeđenja i rezultat je izražen kao broj fekalnih koliforma u 100 ml uzorka.

Broj fekalnih koliforma je određen paralelno s brojem *E. coli* korištenjem iste hranjive podloge i temperaturu inkubacije. Kolonije koje su izrasle i pokazale ružičastu boju, izbrojane su. Izračunata je srednja vrijednost svih razrjeđenja te je taj broj dodan broju identificiranih *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 premješteni su u petrijevke s hranjivom podlogom *Bile aesculin agar* za potvrdno testiranje. Podloge s filtrima inkubirane su 2 sata na temperaturi od 44,5 °C. Kolonije koje su poprimile tamnu boju ili one koje su oko sebe stvorile tamni krug, izbrojane su. Nakon što je izračunata srednja vrijednost svih razrjeđenja rezultati su izraženi kao broj fekalnih streptokoka u 100 ml uzorka.

4.4 Brojnost heterotrofnih bakterija, heterotrofnih nanoflagelata i cijanobakterija

Za određivanje brojnosti heterotrofnih bakterija, od prethodno prikupljenih uzoraka, napravljeni su poduzorci od 2 ml. Poduzorcima je dodano 100 µl DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) boje. DAPI je fluorescentna boja koja ulazi u stanice i veže se za DNK. Nakon 15 minuta, obojani 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 i 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 samo 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 epifluorescentnim mikroskopom. Uzorci su osvijetljeni UV-svijetlom prouzročivši fluorescenciju DAPI boje koja je emitirala plavu boju te omogućila brojanje

mikroorganizama. Za brojanje cijanobakterija korištena je ekscitacija zelenim svijetlom koja je prouzročila fluorescenciju pigmenata cijanobakterija narančasto-crvene boje.
Za svaki uzorak određena je srednja vrijednost abundancije po vidnom polju mikroskopa i pomnožena specifičnim faktorom konverzije mikroskopa kako bi se dobio broj mikroorganizama po ml morske vode.

4.5 Osnovni hidrografski parametri

4.5.1 Temperatura

Temperatura je za svaki uzorak određena na terenu digitalnim termometrom.

4.5.2 Salinitet

Za određivanje saliniteta uzoraka korišten je salinometar (prijenosni mikro-salinometar MS-310e, RBR Europe LTD., UK) razvijen u suradnji sa Marine Hydrophysical Institute (Ukraine). Salinometar mjeri vrijednost omjera konduktiviteta (R) uzorka morske vode u usporedbi s IAPSO standardnom morskom vodom (OSIL, UK) saliniteta 35,000 čijim se uvrštavanjem u empirijske relacije računa salinitet (UNESCO, 1983). Takav mjereni salinitet ("practical salinity") nema mjernu jedinicu (jer se dobiva iz omjera konduktiviteta). Preciznost podređivanja iznosi ± 0,002.

4.5.3 Sadržaj kisika i udio zasićenja kisikom

Koncentracija otopljenog kisika određivana je titracijom po Winkleru (Parsons i sur., 1985). U baždarene alikvote volumena (110 – 140 ml) Winklerovih bočica dodaje se 1 ml otopine manganovog sulfata ($MnSO_4 \bullet H_2O$; 365 gl^{-1}) i 1 ml lužnate otopine kalijevog jodida (NaOH; 500 gl^{-1} i KI; 300 gl^{-1}).
Dolazi do nastajanja taloga manganovog oksida, koji se nakon nekoliko puta mućkanja sadržaja bočice i dekantiranja bistrog supernatanta otopi u 1 ml razrijeđene sulfatne kiseline (1:1). Pri tome Mn^{4+} ion koji je proporcionalan sadržaju kisika oksidira jodidni ion (I^-) u elementarni jod (I_2) koji se zatim titrira s otopinom natrijevog tiosulfata ($Na_2S_2O_3$; 0,2 $moll^{-1}$) uz škrob kao indikator.
Otopina natrijevog tiosulfata standardizira se otopinom kalijevog dikromata ($K_2Cr_2O_7$; 1 $moll^{-1}$). Sadržaj otopljenog kisika izražen je kao volumni omjer. Preciznost metode iznosi ±0,05.

Udio zasićenja kisikom izračunava se kao omjer izmjerenog volumnog udjela kisika i volumnog udjela zasićenja kod određene temperature i saliniteta (UNESCO, 1986).

4.5.4 Hranjive soli

Za određivanje koncentracija hranjivih soli u morskoj vodi primjenjuju se standardne oceanografske metode prema Parsonsu i sur. (1985) osim za amonijeve soli (amonij), za koje se koristi modificirana Solorzanova metoda (Ivančić i Degobbis, 1984). Određivanje hranjivih soli zasniva se na kvantitativnim reakcijama kojima nastaju obojeni spojevi. Intenzitet boje mjeri se spektrofotometrijski očitavanjem apsorbancije na valnoj duljini na kojoj je maksimum apsorpcijskog spektra određenih obojenih spojeva. Dobivene vrijednosti apsorbancije (A) su linearno proporcionalne koncentraciji hranjive soli koja se određuje. Faktori preračunavanja vrijednosti apsorbancije u koncentraciju (f = c/A) određivani su standardnim otopinama za svaku pojedinu hranjivu sol. Tijekom analize nužno je redovito određivati slijepe probe. Za očitavanje apsorbancije korišten je spektrofotometar Shimadzu UV mini 1240 s kivetama dužine 10 cm, a kod uzoraka s višim koncentracijama korištene su kivete od 1 i 5 cm.

4.5.4.1 Amonijev ion

Uzorku morske vode od 50 ml dodaje se 2 ml otopine fenola u etanolu (100 gl^{-1}) i promućka, zatim 5 ml miješanog reagensa pripremljenog od jednog dijela otopine natrijeve soli dikloro-S-triazin-2,4,6-triona ($C_3Cl_2N_3NaO_3$, 4 gl^{-1}) i jednog dijela alkalne otopine natrijevog citrata (400 g $C_6H_5O_7Na_3$ i 32 g NaOH u 1 l deionizirane vode) i na kraju 2 ml otopine natrijevog nitroprusida ($Na_2FeNO(CN)_5$, 5 gl^{-1}) kao katalizatora. Uzorci se drže u mraku na oko 25 ºC, a ekstinkcija se mjeri nakon tri sata kod valne duljine od 635 nm. Faktor proporcionalnosti određuje se korištenjem standardne otopine bezvodnog amonijevog sulfata i iznosi oko 6,5 za kivetu od 10 cm. Vrijednost ekstinkcije slijepe probe u redestiliranoj vodi iznosi oko 0,03.

4.5.4.2 Nitrit

Uzorku od 50 ml dodaje se 1 ml otopine sulfanilamida ($C_6H_8O_2N_2S$, 10 gl^{-1}) i dobro promućka. Nakon 2-8 minuta dodaje se 1 ml otopine N-(1-naftil)-etilendiamindihidroklorida ($C_{12}H_{16}Cl_2N_2CH_3OH$, 1 gl^{-1}) i ponovno promućka. Nakon otprilike 5-10 minuta mjeri se ekstinkcija nastale boje kod valne duljine od 542 nm. Otopine reagensa stabilne su nekoliko mjeseci.

Faktor proporcionalnosti određen je korištenjem standardne otopine bezvodnog kalijevog nitrata, a iznosi oko 2 za kivetu od 10 cm. Vrijednosti ekstinkcije slijepe probe u redestiliranoj vodi kreću se oko nule. Preciznost metoda za nitrit iznosi oko 0,03.

4.5.4.3 Nitrat

Nitrat se određuje metodom redukcije u nitrit prolaskom uzorka kroz redukcijsku kolonu napunjenu strugotinama kadmija veličine 0,5-2 mm, prevučenim bakrom.

Da bi se spriječilo taloženje kadmijevih iona propuštanjem kroz kolonu, uzorku od 50 ml dodaje se 1 ml otopine amonijevog klorida (NH_4Cl, 250 gl^{-1}), dobro promućka i propusti kroz redukcijsku kolonu. Prvih 20 ml se ne koristi, a u preostalih 30 ml se određuje nitrit prema opisanom postupku. Upotrebom kolona većih dimenzija (promjera 0,8 cm i dužine 23 cm) spriječeno je smanjivanje efikasnosti redukcije pri višim koncentracijama ortofosfata.

Iz razlike u ekstinkciji za nitrit dobiven prije i nakon redukcije izračunava se koncentracija nitrata.

Faktor proporcionalnosti određivan je korištenjem standardne otopine bezvodnog kalijevog nitrata i iznosi 2,2 za kivetu od 10 cm. Vrijednosti ekstinkcije slijepe probe u redestiliranoj vodi kreću se oko nule. Preciznost metode za nitrat jednaka je onoj za nitrit.

4.5.4.4 Ortofosfat

Uzorku morske vode od 50 ml dodaje se 5 ml miješanog reagensa, a sastoji se od 1 dijela amonij-heptamolibdata-tetrahidrata ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}•4H_2O$, 30 gl^{-1}), 2,5 dijela razrijeđene sulfatne kiseline (140 ml H_2SO_4+900 ml redestilirane vode), jednog dijela L(+)askorbinske kiseline ($C_6H_8O_6$, 54 gl^{-1}) i 0,5 dijela kalij-antimonil-tartarata ($K(SbO)C_4H_4O_6•½H_2O$, 1,36 gl^{-1}). Nakon 10 minuta mjeri se ekstinkcija plave boje kod valne duljine od 890 nm. Svi reagensi osim askorbinske kiseline su stabilni nekoliko mjeseci, dok se ona mora čuvati u hladnom.

Faktor proporcionalnosti određuje se korištenjem standardne otopine bezvodnog KH_2PO_4 i za 10 cm kivetu iznosi oko 5, a vrijednost ekstinkcije slijepe probe niža je od granice osjetljivosti metode. Preciznost metode iznosi 0,03.

4.5.4.5 Ortosilikat

U polietilensku bočicu stavi se 10 ml otopine amonij-heptamolibdata-tetrahidrata ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}•4H_2O$, 8 gl^{-1} uz dodatak 24 ml HCl (12 $moll^{-1}$)) i doda 25 ml uzorka, te promućka. Nakon desetak minuta uzorku se dodaje 15 ml miješanog reagensa koji se sastoji

od 1 dijela otopine natrijevog sulfita i p-metilamino fenol sulfata (12 g Na_2SO_3 i 20 g $(CH_3NHC_6H_4OH)_2 \bullet H_2SO_4$ u 1 l), 0,6 dijela otopine oksalne kiseline ($(COOH)_2 \bullet 2H_2O$, 50 gl^{-1}), 0,6 dijela razrijeđene sulfatne kiseline (1:1) i 0,8 dijela deionizirane vode. Reakcija je kvantitativna nakon jednog sata, ali kod viših koncentracija to može iznositi i do tri sata, nakon čega se mjeri ekstinkcija boje kod valne duljine od 810 nm.

Otopinu miješanog reagensa potrebno je pripremiti neposredno prije određivanja ortosilikata, dok su sami reagensi stabilni više mjeseci.

Faktor proporcionalnosti određuje se pomoću standardne otopine bezvodnog natrijevog silikofluorida i u 10 cm kiveti iznosi oko 11. Zbog utjecaja ionske jakosti otopine tj. saliniteta na ekstinkciju silikomolibdatnog kompleksa, a time i na vrijednost faktora, poželjno je da se standardi pripreme u morskoj vodi s niskim sadržajem. Vrijednost ekstinkcije slijepe probe u deioniziranoj vodi iznosi 0,01.

4.6 Obrada podataka

Niz podataka koji se koristi i obrađuje u ovom radu opisuje raspodjelu pojedinih parametara u zimskom i ljetnom periodu tijekom 2016. godine. Za zimu se kao predstavnik uzeo mjesec veljača, a za ljeto kolovoz. Podaci su statistički i grafički obrađeni na PC koristeći program Microsoft Excel 2007 i Golden Software Surfer 12.

5 Rezultati i diskusija

5.1 Rezultati

5.1.1 Raški zaljev

Tablica 5. Izmjereni podaci u Raškom zaljevu

Postaja	Dubina/m	Mjesec	Temp/ C	Sal	Oxy/%	FS/100ml	*E. coli*/100ml	Phos	Ntra	Amon	Slca	HB*10^7/l	CYB*10^6/l	HNF*10^6/l
B	0	2	10,4	0,38	92,0	375	270	0,17	57,68	0,81	43,54	43,89	3,69	8,72
R0	0	2	10,7	0,72	87,0	380	210	0,17	45,50	0,99	49,52	31,73	3,82	5,67
R0*	0	2	10,8	0,75	89,2	190	225	0,17	44,54	0,95	49,51	23,72	6,21	4,54
R1	0	2	11,7	0,65	91,0	395	260	0,19	56,10	1,29	49,23	23,62	5,74	6,56
R2	0	2	11,1	3,03	91,2	295	3	0,21	37,92	2,88	46,05	48,56	3,82	10,04
R3	0	2	9,8	4,73	92,0	230	2	0,25	23,09	1,44	46,92	20,12	5,58	5,30
R3*	0	2	11,8	7,40	88,0	53	70	0,31	61,74	1,88	35,92	14,72	2,39	1,64
R4	0	2	10,3	10,51	98,0	300	102	0,25	34,80	1,39	39,20	32,52	4,88	3,12
R5	0	2	10,9	16,31	94,0	190	190	0,22	34,87	1,24	41,22	22,08	10,04	5,20
R6	0	2	10,2	18,24	100,0	160	73	0,25	41,00	1,95	21,25	33,46	5,76	5,06
E	0	2	10,3	36,80	102,0	8	0	0,12	15,41	0,32	10,70	24,32	7,46	4,37
avg			10,7	9,05	93,13	235	128	0,21	41,13	1,38	39,37	28,98	5,40	5,47
min			9,8	0,38	87,0	8	2	0,12	15,41	0,32	10,70	14,72	2,39	1,64
max			11,8	36,80	102,0	395	270	0,31	61,47	2,88	49,52	48,56	10,04	10,04
R1	5	2	11,7	34,80	100,0	124	15	0,38	15,91	2,93	10,44	36,67	17,94	3,95
R2	5	2	11,4	33,76	101,0	11	10	0,16	11,09	0,86	10,87	8,90	16,29	2,08
R3	5	2	10,9	33,89	104,3	11	0	0,07	14,45	0,57	10,94	12,96	8,27	1,67
R3*	5	2	11	33,91	103,0	2	1	0,07	2,41	0,84	10,51	43,05	33,46	4,75
R4	5	2	11,1	32,48	104,1	75	60	0,08	14,64	0,95	10,74	16,73	15,29	2,07
R5	5	2	11,1	25,06	94,0	185	174	0,11	13,70	0,67	14,48	20,41	15,14	4,98
R6	5	2	11,7	35,00	103,4	10	8	0,10	11,50	0,56	11,30	21,00	15,00	4,50
E	5	2	11,5	37,20	101,3	2	0	0,10	10,20	0,43	10,00	25,88	8,43	2,91
avg			11,3	33,26	101,4	53	34	0,13	11,74	0,98	11,16	23,20	16,23	3,36
min			10,9	25,06	94,0	2	0	0,07	2,41	0,43	10,00	8,90	8,27	1,67
max			11,7	37,20	104,3	185	174	0,38	15,91	2,93	14,48	43,05	33,46	4,98
B	0	8	22,3	7,01	103,0	46	60	0,16	36,38	1,23	22,02	200,19	16,45	5,35
R0	0	8	25,6	25,26	104,2	0	17	0,29	19,24	3,33	21,92	263,22	80,29	12,64
R0*	0	8	25,3	26,14	103,3	0	0	0,27	20,75	2,38	22,81	105,85	62,32	9,47
R1	0	8	25,2	27,13	111,0	1	1	0,25	23,73	1,07	24,24	96,08	121,27	5,35
R2	0	8	24,7	36,38	110,6	0	18	0,14	3,33	2,13	5,26	129,54	98,36	8,15
R3	0	8	24,1	36,12	109,0	0	6	0,16	4,82	1,37	6,26	151,22	72,86	7,16
R3*	0	8	22,1	19,12	103,0	29	400	0,23	43,44	1,95	36,69	63,09	33,46	4,75
R4	0	8	24,6	36,15	110,0	3	4	0,14	3,32	1,29	5,43	110,94	108,17	6,53
R5	0	8	24,2	36,31	111,2	1	2	0,09	5,79	1,26	6,40	79,89	95,35	9,48
R6	0	8	24,7	36,52	116,0	80	9	0,07	4,25	2,46	3,88	62,34	79,46	5,66
E	0	8	24,9	37,91	112,0	1	0	0,07	4,25	1,07	3,11	54,12	6,06	4,31
avg			24,3	29,46	108,5	15	47	0,17	15,39	1,78	14,37	119,68	70,37	7,17
min			22,1	7,01	103,0	0	0	0,07	3,32	1,07	3,11	54,12	6,06	4,31
max			25,6	37,91	116,0	80	400	0,29	43,44	3,33	36,69	263,22	121,27	12,64
R1	5	8	23,1	38,01	107,4	1	0	0,11	1,13	0,76	2,74	82,75	168,61	13,90
R2	5	8	23,1	38,03	108,2	2	1	0,06	0,96	2,27	1,78	46,25	109,29	5,19
R3	5	8	22,8	38,00	107,4	1	1	0,06	2,10	1,68	1,19	47,26	26,16	3,16
R3*	5	8	22,6	37,91	103,0	2	1	0,07	2,41	1,84	1,51	43,05	33,46	4,75
R4	5	8	23,1	37,94	109,2	0	1	0,06	1,49	0,87	1,63	37,87	50,18	4,80
R5	5	8	22,7	37,97	110,8	1	1	0,06	0,97	0,84	1,47	61,11	63,09	4,90
R6	5	8	23,2	38,21	106,1	4	0	0,06	0,96	0,74	3,88	39,13	79,46	5,66
E	5	8	24,9	38,31	102,0	1	0	0,07	0,98	0,77	1,11	34,12	6,06	4,31
avg			23,2	38,05	106,8	2	1	0,07	1,37	1,22	1,91	48,94	67,04	5,83
min			22,6	37,91	102,0	0	0	0,06	0,96	0,74	1,11	34,12	6,06	3,16
max			24,9	38,31	110,8	4	1	0,11	2,41	2,27	3,88	82,75	168,61	13,90

Temperatura je tijekom zime bila poprilično ujednačena u površinskom sloju, kao i na dubini od 5 m (Slika 4). Za razliku od zime, u ljetnom je periodu blago odstupanje izmjereno na površini mora na postaji u uvali Blaz. Na 5 m dubine temperatura blago raste od ušća do samog ruba zaljeva (Slika 5).

Salinitet je tijekom zime bio znatno snižen u površinskom sloju zaljeva, do udaljenosti od 5 km od samog ušća rijeke dok je umjereno zaslađivanje voda zabilježeno sve do postaje R6 na 8 km od ušća. S druge strane na 5 m dubine blago sniženje saliniteta zabilježeno je samo u neposrednoj blizini ušća rijeke (oko 2 km od ušća) (Slika 4). Kod ljetnog uzorkovanja salinitet površinskog sloja bio je vidljivo snižen samo unutar udaljenosti od 2 km od ušća i u okolici priobalnog izvora u uvali Blaz dok je na 5 m dubine bio poprilično ujednačen u cijelom zaljevu (Slika 5).

Tijekom zimskog uzorkovanja udio zasićenja kisikom, u površinskom sloju, prilično je ujednačen do postaje R3*, koja se nalazi oko 3 km od ušća, kada počne blago rasti sve do kraja zaljeva. Na 5 m dubine vrijednosti su poprilično izjednačene u cijelom zaljevu (Slika 4). U ljetnom razdoblju udio zasićenja kisikom u površinskom sloju bio je vidljivo manji samo unutar udaljenosti od 1 km od ušća i u uvali Blaz dok je na 5 m dubine bio poprilično ujednačen u cijelom zaljevu, s malim odstupanjem također u uvali Blaz (Slika 5).

Tijekom zimskog uzorkovanja, u površinskom sloju, koncentracija *E.coli* bila je vidljivo veća unutar udaljenosti od oko 1,5 km od ušća i oko postaje R5, dok je u ostatku zaljeva bila poprilično ujednačena. Na 5 m dubine je također imala odstupanje na postaji R5 (Slika 6). U ljetnom razdoblju, u površinskom sloju je vidljiva veća koncentracija u uvali Blaz, dok je u ostatku zaljeva bila poprilično ujednačena. Na dubini od 5 m bila je ujednačena u cijelom zaljevu (Slika 7).

U zimskom razdoblju koncentracija fekalnih streptokoka, na površini mora, bila je poprilično ujednačena do postaje R5 kada je vrijednost počela padati, manja vrijednost je bila i u uvali Blaz, dok je na 5 m dubine vrijednost bila poprilično ujednačena s blagim odstupanjem oko postaje R5 (Slika 6). U ljetnom razdoblju koncentracija fekalnih streptokoka je i na površini u na dubini od 5 m bila prilično ujednačena u cijelom zaljevu (Slika 7).

Brojnost heterotrofnih bakterija je tijekom zime, u površinskom sloju vode te na dubini od 5 m, bila poprilično ujednačena u cijelom zaljevu (Slika 8). U ljetnom razdoblju vrijednost je bila veća unutar udaljenosti od oko 3 km od ušća, dok je na dubini od 5 m brojnost bila ujednačena u cijelom zaljevu (Slika 9).

Brojnost cijanobakterija je tijekom zime, u površinskom sloju vode te na dubini od 5 m, bila poprilično ujednačena u cijelom zaljevu (Slika 8). Tijekom ljeta vidljiva je veća

brojnost u unutarnjem dijelu zaljeva oko luke, gdje se nalaze postaje R1 i R2, te na mjestima gdje se nalaze uzgajališta školjkaša (R4 i R5). Na dubini od 5 m veća je vrijednost zabilježena samo u neposrednoj blizini ušća rijeke (oko 2 km od ušća) (Slika 9).

Tijekom zimskog perioda uzorkovanja, na površini vode, veća brojnost heterotrofnih nanoflagelata zabilježena je na postaji R2 koja se nalazi na oko 2 km od ušća, dok je na dubini od 5 m brojnost ujednačena u cijelom zaljevu (Slika 8). U ljetnom periodu postoji blago odstupanje, na površini vode i na dubini od 5 m, oko samog ušća (unutar 2 km od ušća), dok je u ostatku zaljeva brojnost poprilično ujednačena (Slika 9).

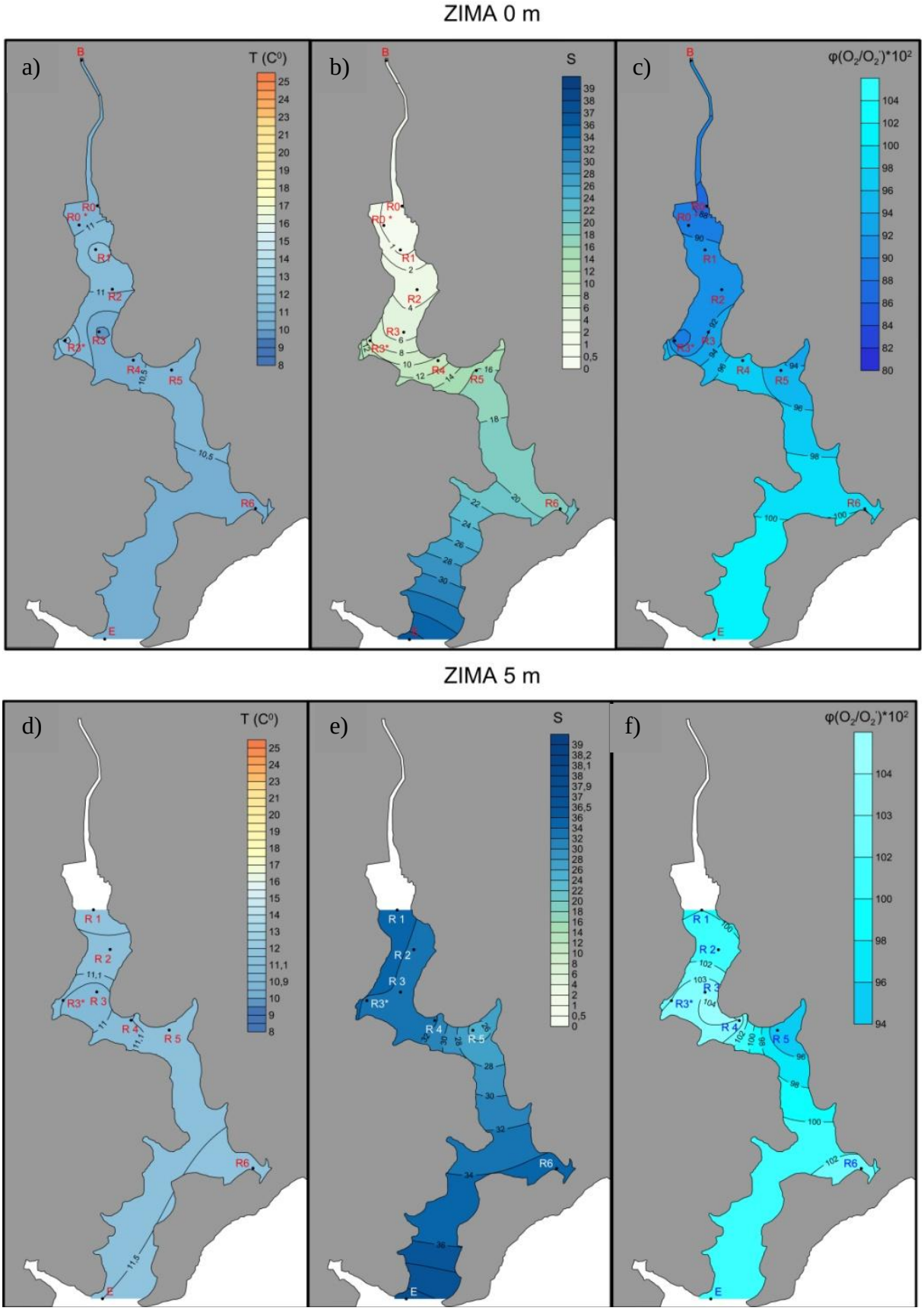
Koncentracija ortofosfata je tijekom zimskog perioda na površini mora bila ujednačena u cijelom zaljevu, dok je na dubini od 5 m imala veću vrijednost samo u neposrednoj blizini ušća rijeke (oko 2 km od ušća) (Slika 10). U ljetnom periodu uzorkovanja, u površinskom sloju mora, vrijednost je bila veća do postaje R4 (oko 4 km od ušća), na 5 m dubine koncentracija je bila ujednačena u cijelom zaljevu (Slika 11).

U zimskom periodu, koncentracija nitrata je u površinskom sloju bila veća oko samog ušća rijeke te na postaji u uvali Blaz. Na dubini od 5 m bila je ujednačena u cijelom zaljevu (Slika 10). Tijekom ljetnog perioda je u površinskom sloju bilo većih odstupanja na postaji u uvali Blaz, dok je na 5 m dubine koncentracija bila ujednačena u cijelom zaljevu (Slika 11).

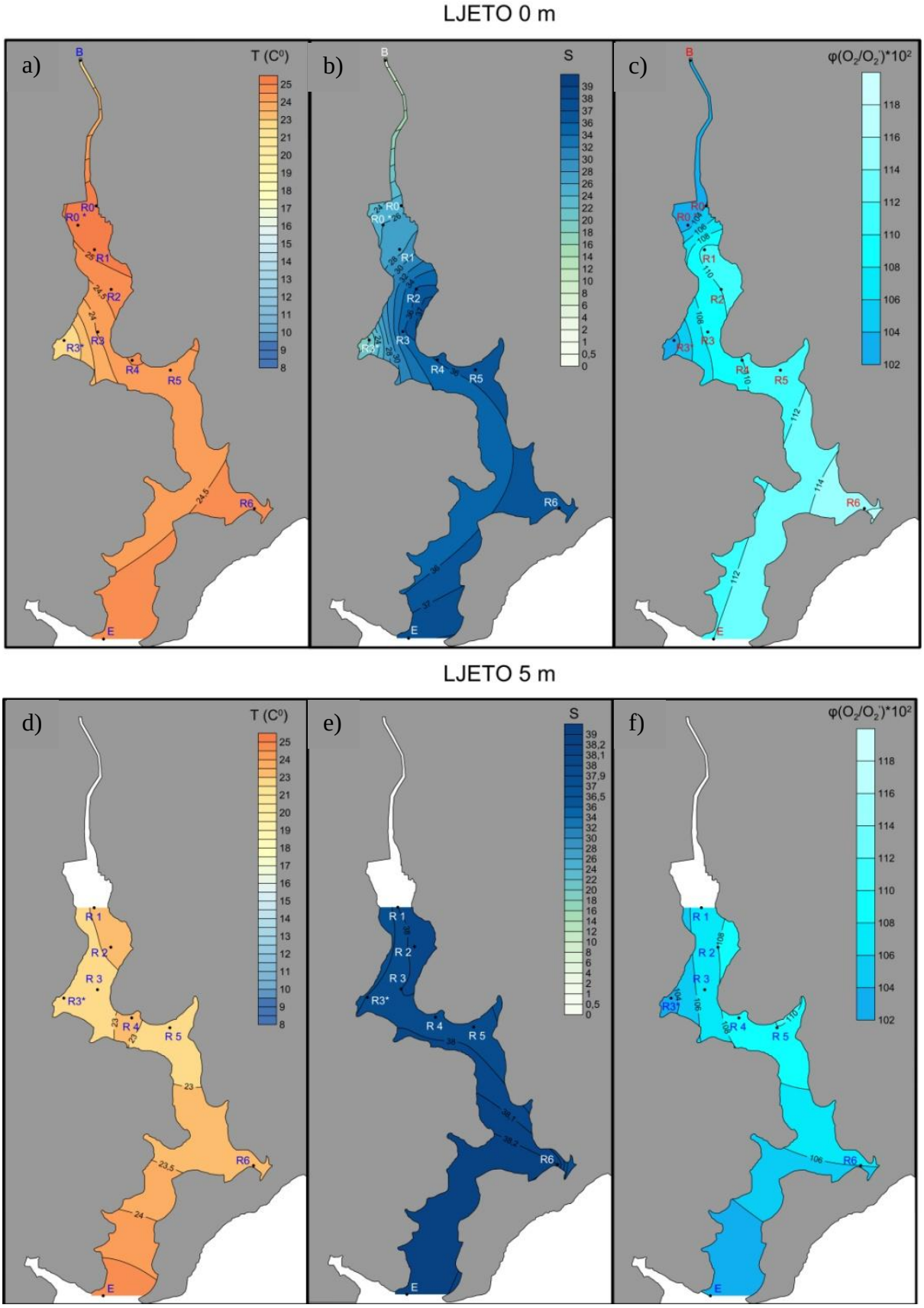
Tijekom obje sezone mjerenja, u površinskom sloju i na dubini od 5 m, koncentracija amonijevih soli bila je ujednačena u cijelom zaljevu (Slike 10 i 11).

Koncentracija ortosilikata je tijekom zimskog perioda bila veća u površinskom sloju zaljeva sve do postaje R6 na 8 km od ušća, dok je na dubini od 5 m bila ujednačena u cijelom zaljevu (Slika 10). Tijekom ljetnog perioda imala je veću vrijednost oko samog ušća (udaljenost unutar 1 km od ušća), te na postaji u uvali Blaz, na dubini od 5 m bila je ujednačena u cijelom zaljevu (Slika 11).

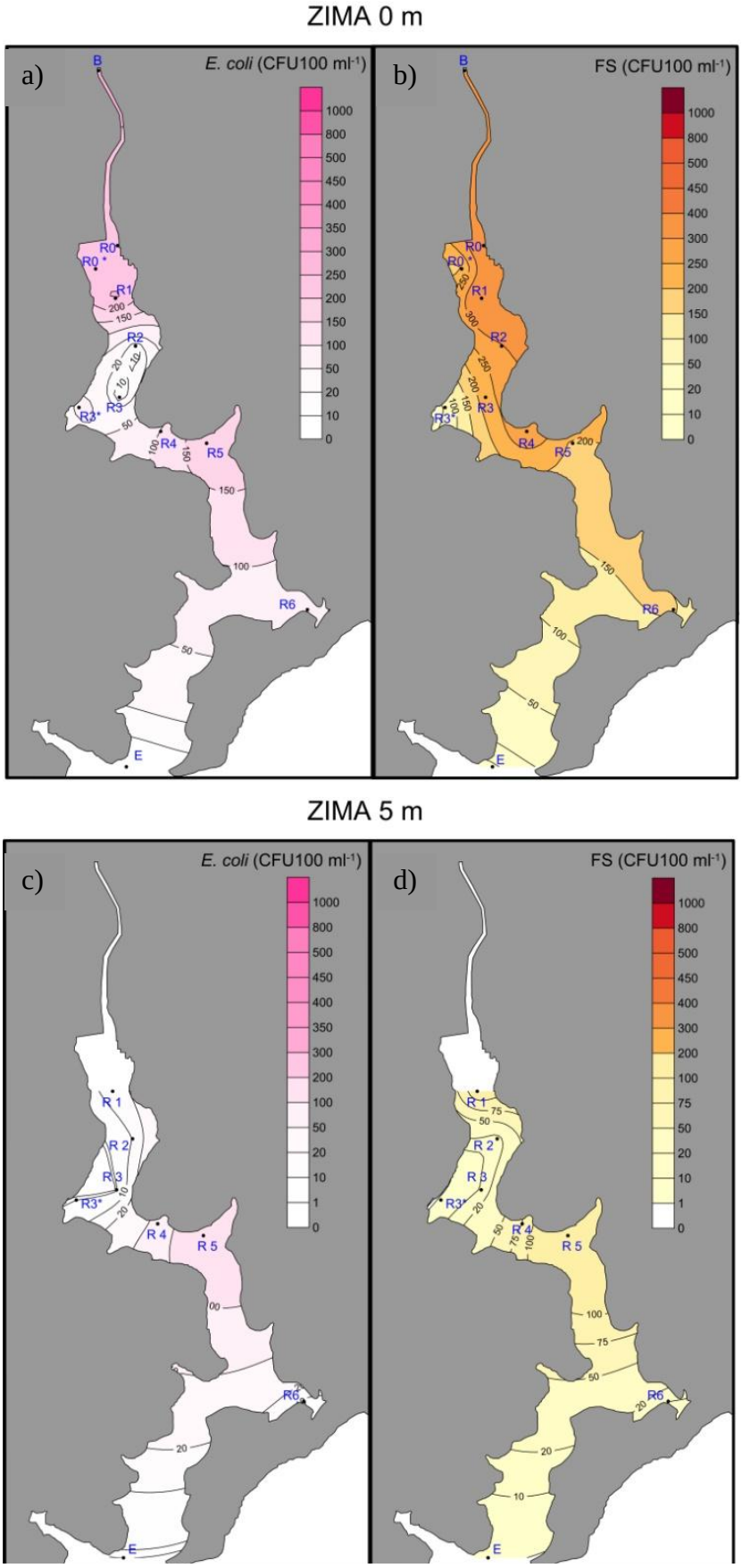
Prema koncentracijama ortofosfata, u Raškom zaljevu tijekom zime, ekološko stanje na svim postajama u površinskom sloju okarakterizirano je kao dobro, dok je u sloju od 5 m dubine bilo dobro na postajama R1, R2, R5 i R6 i vrlo dobro na ostalim lokacijama. Tijekom ljeta, površinski sloj, na vanjskim postajama R5, R6 i E je okarakterizirano kao vrlo dobro stanje, a na ostalim lokacijama kao dobro. U sloju od 5 m dubine stanje je vrlo dobro s izuzetkom postaje R1 gdje je bilo dobro. Prema koncentracijama anorganskog dušika, tijekom zime u površinskom sloju Raškog zaljeva sve su postaje okarakterizirane kao vrlo dobre s izuzetkom postaje R3* u uvali Blaz gdje je stanje bilo dobro. U sloju od 5 m dubine voda je svugdje karakterizirana kao dobra. Tijekom ljeta stanje vode je u svim slojevima i na svim postajama okarakterizirano kao vrlo dobro.



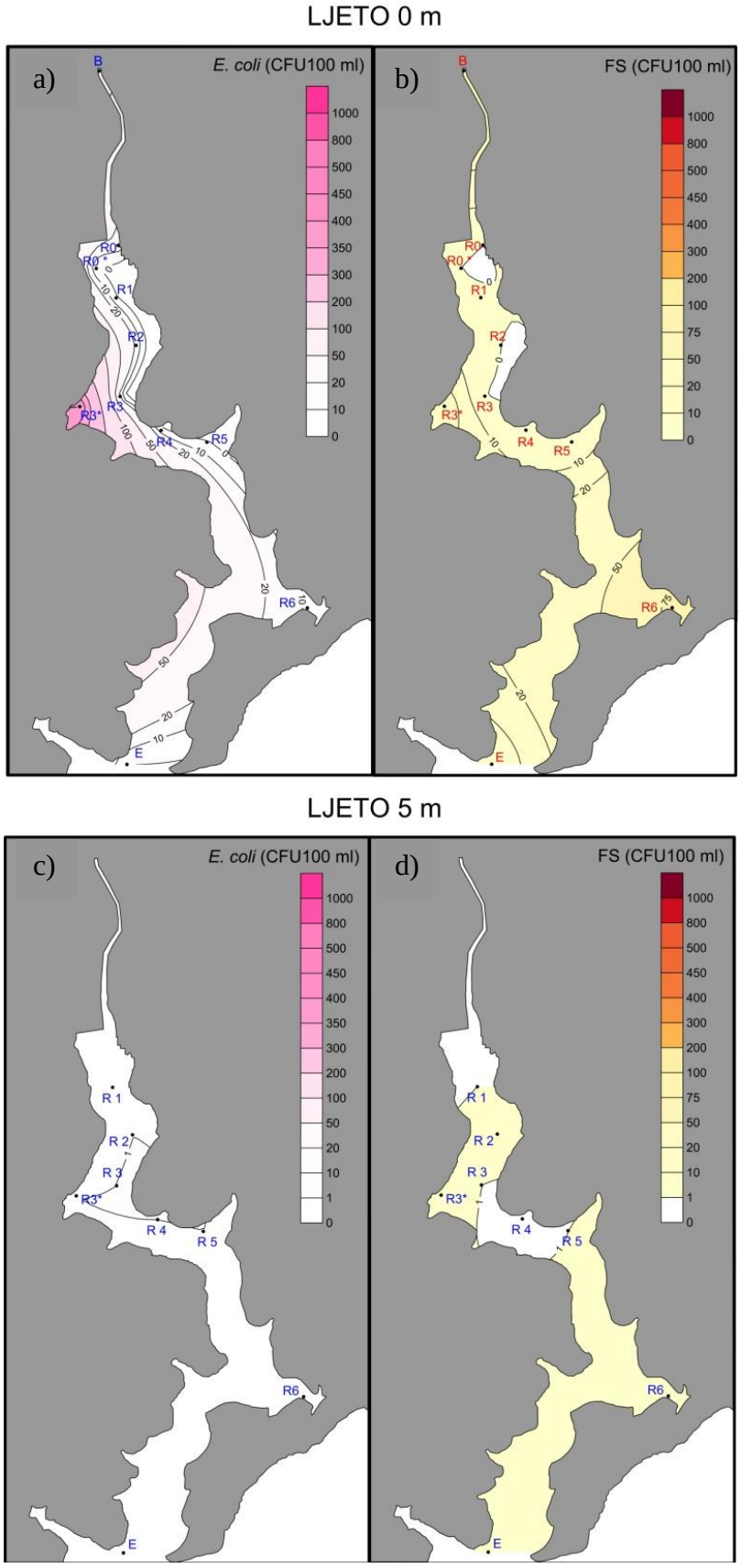
Slika 4. Raspodjela temperature (T/°C), saliniteta (sal) i udjela zasićenja kisikom (ϕ/%) u površinskom sloju (a,b,c) i na dubini od 5 m (d,e,f) u veljači 2016. u Raškom zaljevu.



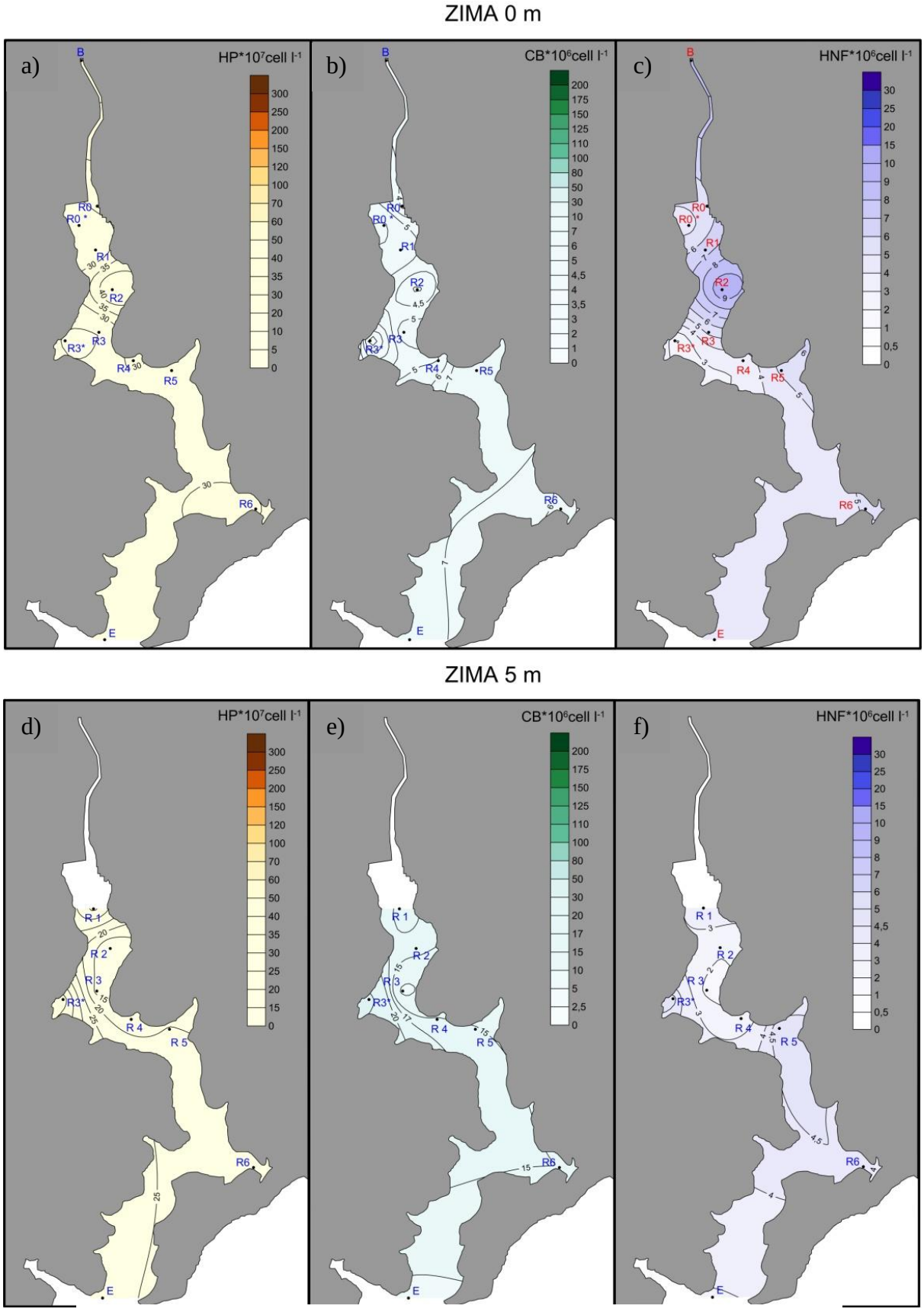
Slika 5. Raspodjela temperature (T/°C), saliniteta (sal) i udjela zasićenja kisikom (ϕ/%) u površinskom sloju (a,b,c) i na dubini od 5 m (d,e,f) u kolovozu 2016. u Raškom zaljevu.



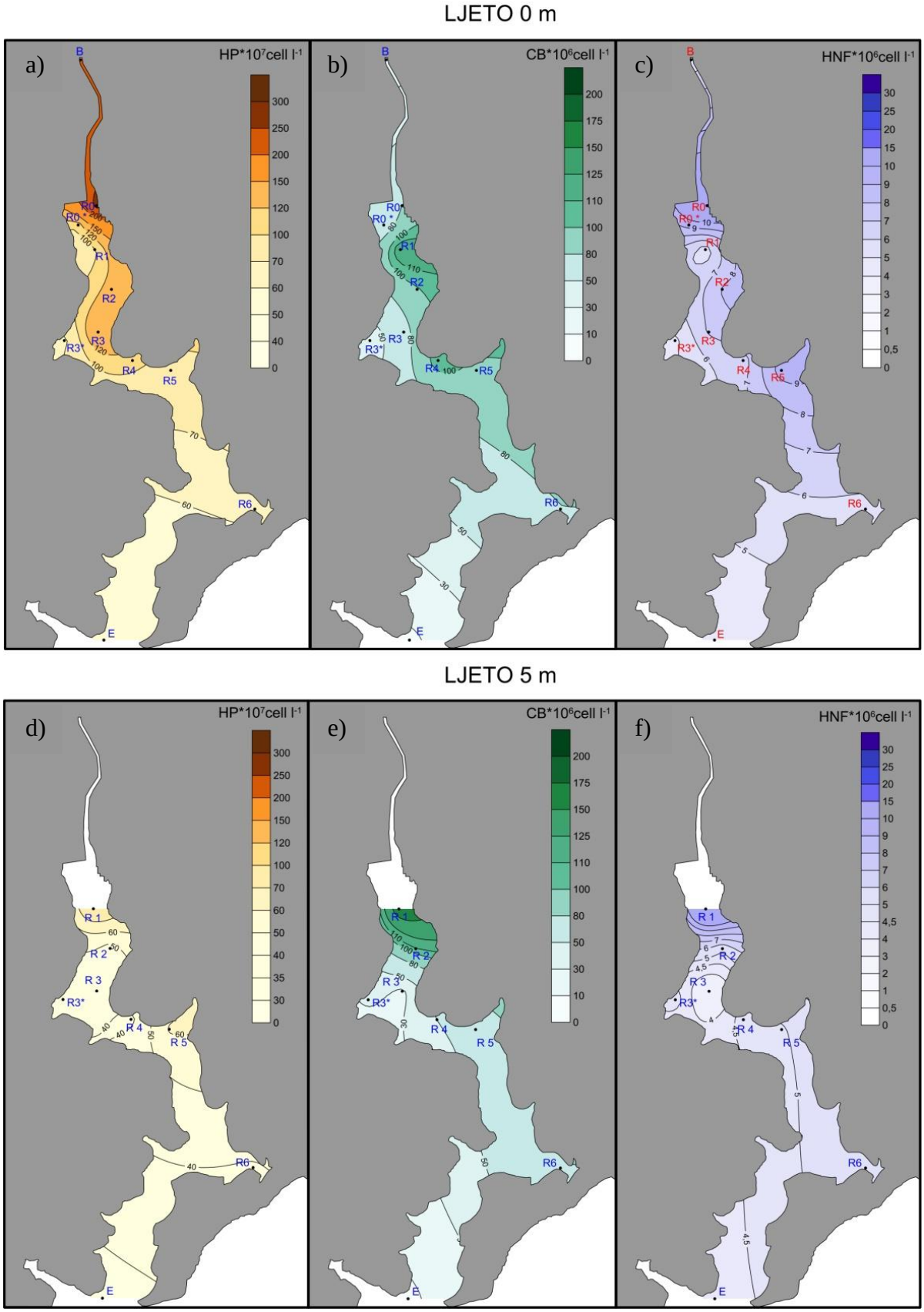
Slika 6. Raspodjela *E. coli* (CFU/100ml) i fekalnih streptokoka (CFU/100ml) u površinskom sloju (a,b) i na dubini od 5 m (c,d) u veljači 2016. u Raškom zaljevu.



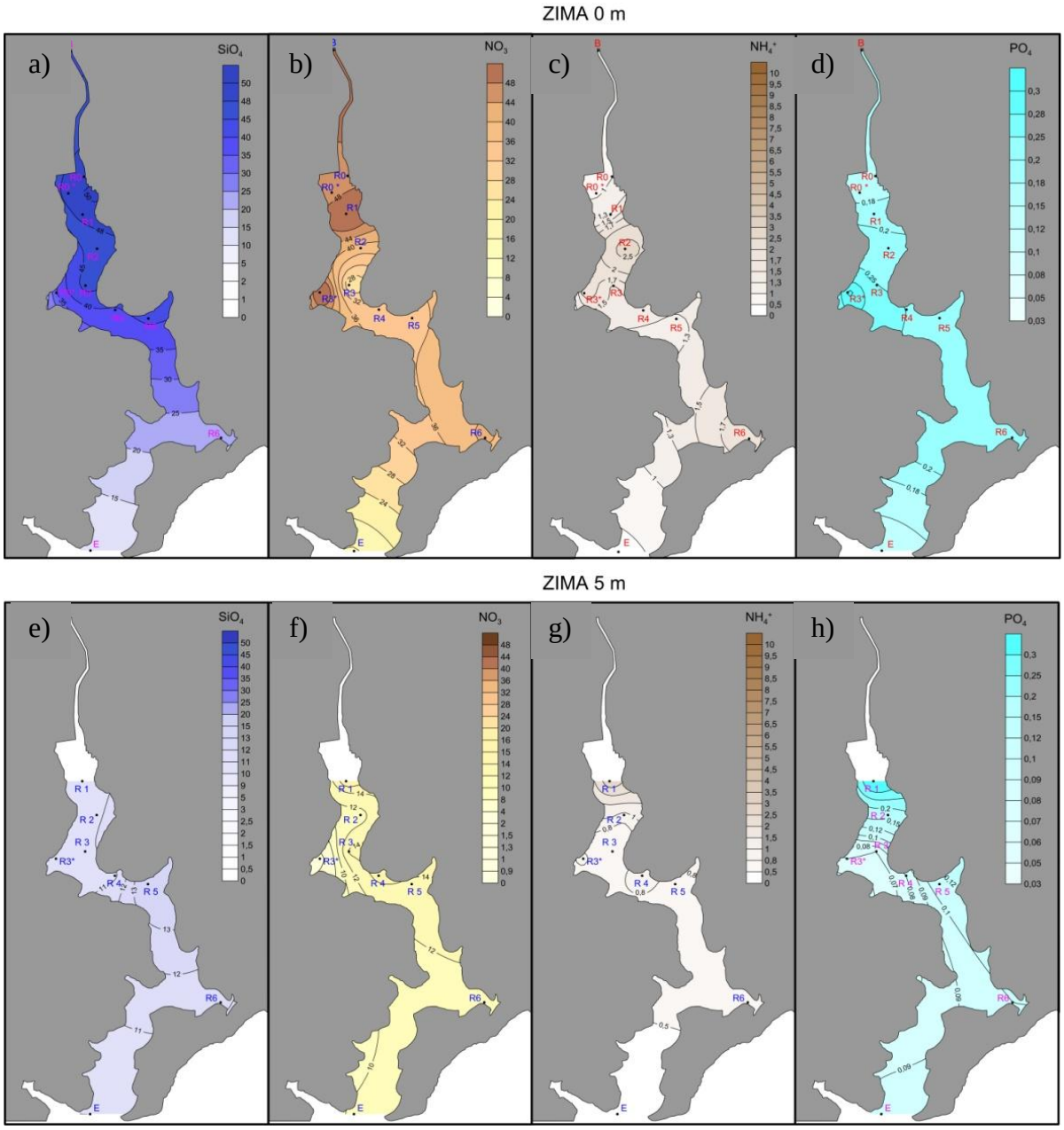
Slika 7. Raspodjela *E. coli* (CFU/100ml) i fekalnih streptokoka (CFU/100ml) u površinskom sloju (a,b) i na dubini od 5 m (c,d) u kolovozu 2016. u Raškom zaljevu.



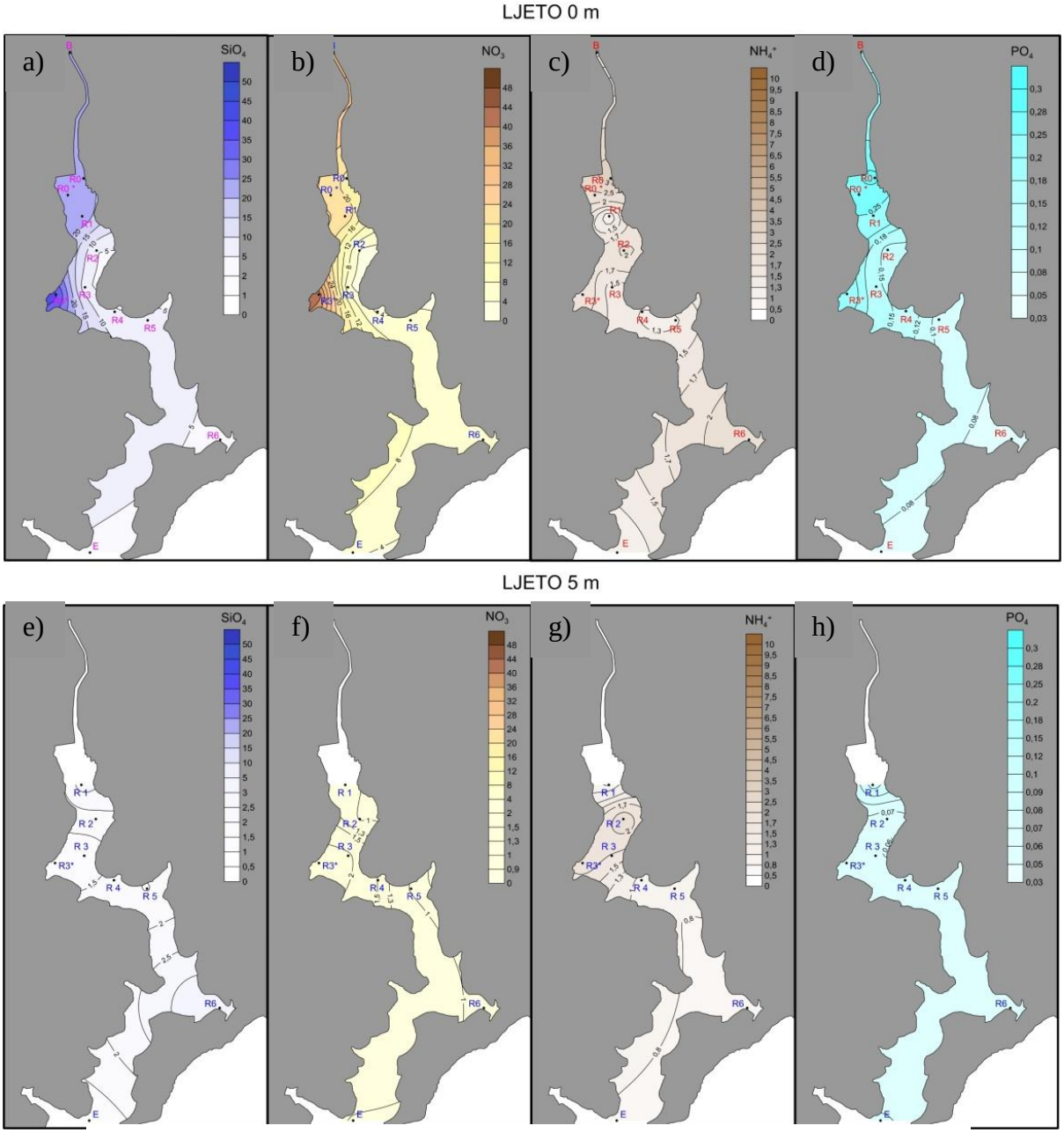
Slika 8. Brojnost heterotrofnih bakterija, cijanobakterija i heterotrofnih nanoflagelata u površinskom sloju (a,b,c) i na dubini od 5 m (d,e,f) u veljači 2016. u Raškom zaljevu.



Slika 9. Brojnost heterotrofnih bakterija, cijanobakterija i heterotrofnih nanoflagelata u površinskom sloju (a,b,c) i na dubini od 5 m (d,e,f) u kolovozu 2016. u Raškom zaljevu.



Slika 10. Raspodjela ortosilikata (SiO_4, µmol/l), nitrata (NO_3, µmol/l), amonijevih soli (NH_4, µmol/l) i ortofosfata (PO_4, µmol/l) u površinskom sloju (a,b,c,d) i na dubini od 5 m (e,f,g,h) u veljači 2016. u Raškom zaljevu.



Slika 11. Raspodjela ortosilikata (SiO_4, µmol/l), nitrata (NO_3, µmol/l), amonijevih soli (NH_4, µmol/l) i ortofosfata (PO_4, µmol/l) u površinskom sloju (a,b,c,d) i na dubini od 5 m (e,f,g,h) u kolovozu 2016. u Raškom zaljevu.

5.1.2 Uvala Vinjole

Tablica 6. Izmjereni podaci u uvali Vinjole

Postaja	Dubina/m	Mjesec	Temp/ C	Sal	Oxy/%	FS/100ml	*E. coli* /100ml	Phos	Ntra	Amon	Slca	HB*10^7/l	CYB*10^6/l	HNF*10^6/l
V1	0	2	11,5	32,73	100,3	1	0	0,17	27,10	2,06	18,32	21,02	30,78	2,51
V2	0	2	9,5	36,90	99,1	2	22	0,04	10,49	0,73	4,98	17,16	17,12	2,19
V3	0	2	9,5	37,15	101,2	1	6	0,06	5,58	2,16	3,66	14,10	7,68	1,78
V4	0	2	12,0	35,78	113,0	0	14	0,06	9,22	0,71	7,96	21,41	16,33	3,11
V5	0	2	13,0	32,03	114,0	12	3	0,08	17,08	1,03	19,11	17,53	25,09	2,11
V6	0	2	12,5	36,93	108,1	0	8	0,10	8,14	2,46	6,58	22,08	23,95	2,18
avg			11,3	35,25	106,0	3	9	0,09	12,94	1,53	10,10	18,88	20,16	2,31
min			9,5	32,03	99,1	0	0	0,04	5,58	0,71	3,66	14,10	7,68	1,78
max			13,0	37,15	114,0	12	22	0,17	27,10	2,46	19,11	22,08	30,78	3,11
V1	0	8	23,0	30,45	115,0	0	13	0,14	23,47	0,88	21,64	22,26	8,43	2,68
V2	0	8	24,0	37,46	125,3	2	0	0,09	8,29	0,52	2,85	29,44	8,43	2,89
V3	0	8	22,2	37,82	115,1	0	1	0,04	1,78	0,89	1,70	18,13	5,23	2,64
V4	0	8	23,6	38,03	115,0	0	0	0,03	4,39	0,51	1,54	12,66	3,02	2,59
V5	0	8	24,0	34,81	114,7	291	14	0,32	11,75	0,44	7,63	24,81	3,79	3,35
V6	0	8	23,1	37,56	127,2	8	0	0,06	3,21	0,61	3,35	12,04	5,23	2,32
avg			23,3	36,02	118,7	51	5	0,11	8,82	0,64	6,45	19,89	5,69	2,74
min			22,2	30,45	114,7	0	0	0,03	1,78	0,44	1,54	12,04	3,02	2,32
max			24,0	38,03	127,2	291	14	0,32	23,47	0,89	21,64	29,44	8,43	3,35

Temperatura je u obje sezone bila poprilično ujednačena, s malim odstupanjima na postajama u sredini uvale (Slika 12).

Tijekom obje sezone mjerenja, salinitet je bio poprilično ujednačen, s malim odstupanjima na postajama koje su bile izložene sitnim obalnim izvorima (Slika 12).

U zimskom razdoblju, vrijednosti udjela zasićenja kisikom su blago padale od unutrašnjosti uvale prema vanjskom dijelu, dok su u ljetnom razdoblju vrijednosti bile poprilično ujednačene (Slika 12).

Na području uvale Vinjole, u veljači i kolovozu su izmjerene niske koncentracije *E. coli* i fekalnih streptokoka.

Vrijednosti *E. coli* su bile ujednačene tijekom obje sezone mjerenja u cijeloj uvali (Slika 13).

Vrijednosti fekalnih streptokoka su u zimskom razdoblju bile ujednačene, dok je u ljetnom razdoblju bilo veliko odstupanje na samom dnu uvale na postaji kod hotelske plaže (Slika 13).

Vrijednosti heterotrofnih bakterija su bile poprilično ujednačene u obje sezone u cijeloj uvali (Slika 14).

Tijekom obje sezone mjerenja, brojnost cijanobakterija je bila poprilično ujednačena u cijeloj uvali (Slika 14).

Tijekom obje sezone, izmjerene vrijednosti heterotrofnih nanoflagelata su bile poprilično ujednačene u cijeloj uvali (Slika 14).

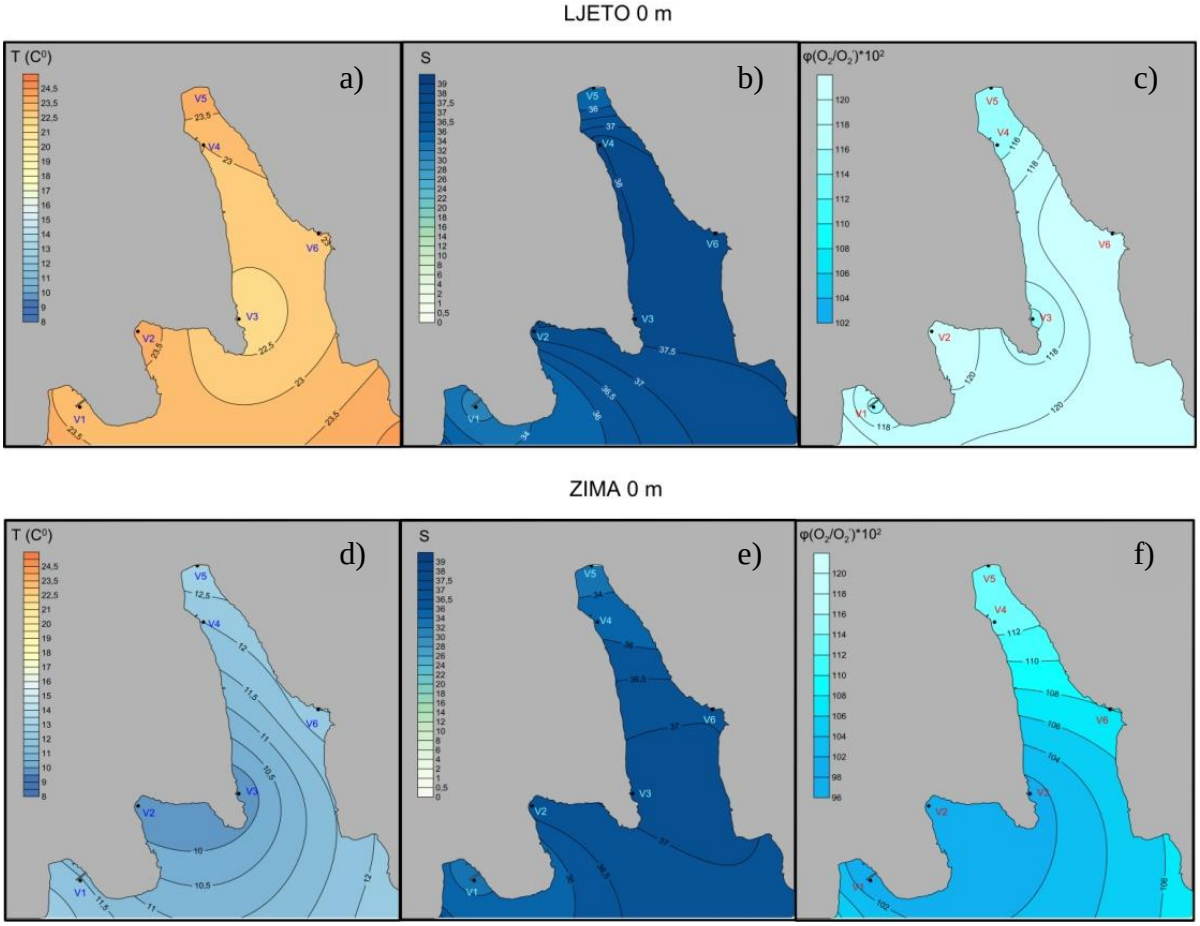
Vrijednosti ortofosfata su bile poprilično ujednačene s malim odstupanjem u ljetnom periodu na postaji na samom dnu uvale (Slika 15).

Tijekom obje sezone mjerenja, koncentracija nitrata je bila poprilično ujednačena s malim odstupanjem na postajama V1 i V5 (Slika 15).

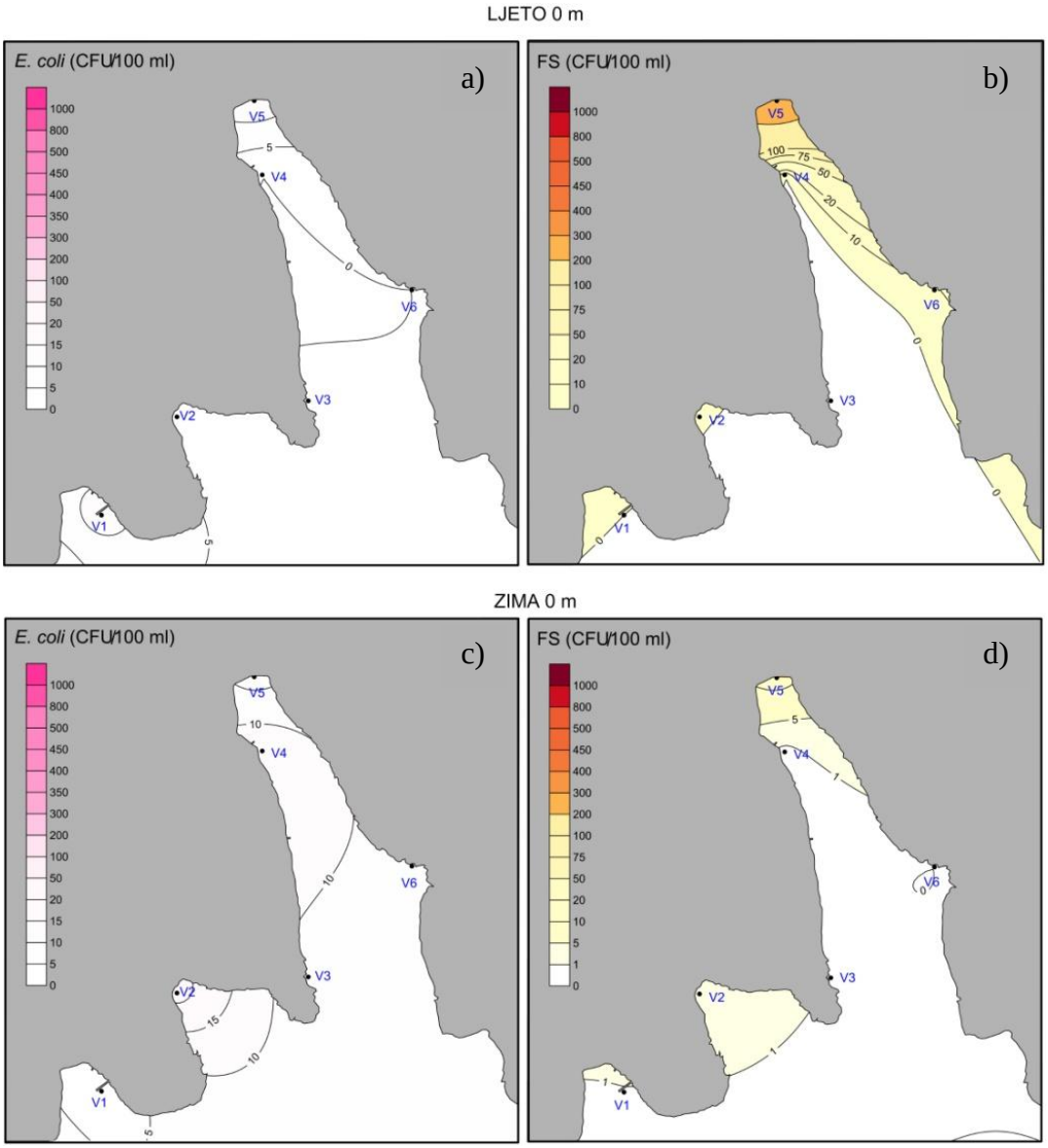
Vrijednosti amonijevih soli su tijekom obje sezone bile ujednačene u cijeloj uvali (Slika 15).

Tijekom obje sezone mjerenja, koncentracija ortosilikata je bila poprilično ujednačena s malim odstupanjem na postajama V1 i V5 (Slika 15).

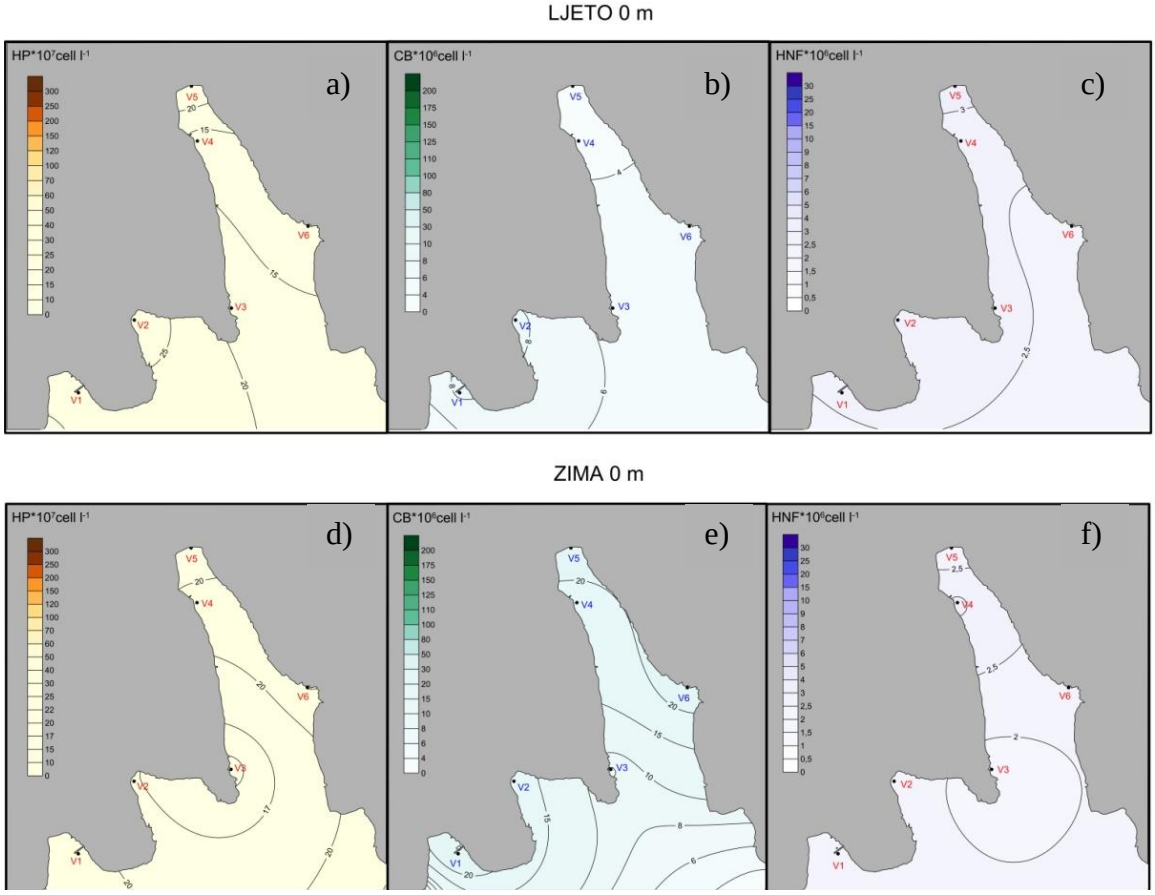
U uvali Vinjole prema koncentracijama anorganskog dušika voda je na svim postajama i tijekom svih mjerenja okarakterizirana kao vrlo dobra/referentna. S druge strane, prema vrijednostima ortofosfata bila je dobra na postajama V1 (na kraju uvale) i V5 (u maloj lučici) tijekom ljeta i vrlo dobra na ostalim lokacijama, dok je tijekom zime bila svugdje vrlo dobra/referentna s izuzetkom postaje V1 gdje je okarakterizirana kao dobra.



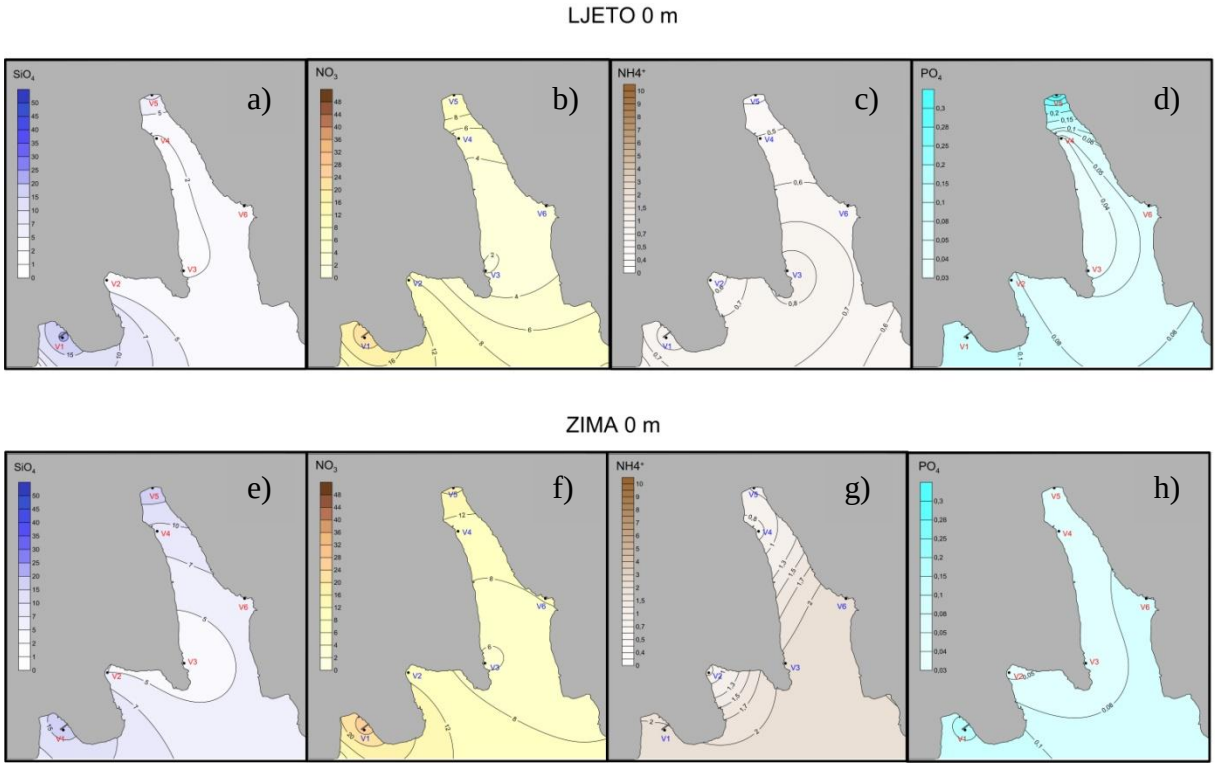
Slika 12. Raspodjela temperature (T/°C), saliniteta (sal) i udjela zasićenja kisikom (ϕ/%) u površinskom sloju u veljači (d,e,f) i kolovozu (a,b,c) 2016. u uvali Vinjole.



Slika 13. Raspodjela *E. coli* (CFU/100ml) i fekalnih streptokoka (CFU/100ml) u površinskom sloju u veljači (c,d) i kolovozu (a,b) 2016. u uvali Vinjole.



Slika 14. Brojnost heterotrofnih bakterija, cijanobakterija i heterotrofnih nanoflagelata u površinskom sloju u veljači (d,e,f) i kolovozu (a,b,c) 2016. u uvali Vinjole.



Slika 15. Raspodjela ortosilikata (SiO_4, µmol/l), nitrata (NO_3, µmol/l), amonijevih soli (NH_4, µmol/l) i ortofosfata (PO_4, µmol/l), u površinskom sloju u veljači (e,f,g,h) i kolovozu (a,b,c,d) 2016. u uvali Vinjole.

5.2 Diskusija

Područje Raškog zaljeva karakterizirano je estuarijskom dinamikom. Ovisno o sezoni rijeka, koja se slijeva u poluzatvoreno vodeno tijelo povezano s otvorenim morem, utječe, većim ili manjim intenzitetom na hidrografske uvjete vodenog stupca. Rezultati su pokazali da Raški zaljev ima osobine visoko stratificiranog sustava s izraženom piknoklinom morske vode u zimskom razdoblju kada je protok rijeke bio intenzivan, dok je imao karakteristike dobro izmiješanog estuarija tijekom ljeta. U toplom dijelu godine, osim riječnog unosa slatkih voda, zabilježen je važan doprinos priobalnih izvora, pogotovu u uvali Blaz, koji su imali važan lokalni utjecaj na hidrografske uvjete. Za razliku od Raškog zaljeva, uvala Vinjole imala je minimalni unos i utjecaj slatkih voda koji se očitavao samo na ograničenoj prostornoj skali od nekoliko desetaka četvornih metara. Dobivene vrijednosti zasićenja kisikom pokazale su da je čitavi vodeni stupac oksičan čak i tijekom najjače stratifikacije. Prema tome, procesi poput hipoksije i anoksije, koji znaju biti štetni za cijelu biološku zajednicu mora, nisu zabilježeni.

Koncentracija hranjivih soli je povezana s donosom slatkih voda, osobito u zimskom razdoblju kada je protok Raše bio jako intenzivan pa je utjecaj hranjivih soli bio izraženiji u površinskom sloju vodenog stupca i u unutrašnjem dijelu zaljeva. Zbog toga su koncentracije u zimskom razdoblju bile više nego u ljetnom, koje je karakteriziralo manje oborina, manji protok, a posljedično i slabiji unos hranjivih soli. Više koncentracije nitrata i fosfata, koje su direktno povezane s antropogenim aktivnostima, najčešće poljoprivredom ili otpadnim vodama, ukazuju da je u uvali Blaz i u zimskom i u ljetnom razdoblju bilo vanjskog donosa hranjivih soli, najvjerojatnije iz poljoprivrednih djelatnosti.

Zbog povećane koncentracije hranjivih soli najvjerojatnije je došlo i do rasta fitoplanktonske brojnosti i proizvodnje. Tada se znatno povisi koncentracija otopljenog organskog ugljika koji predstavlja glavni resurs heterotrofne bakterije. Upravo u takvim uvjetima zabilježen je rast bakterijske populacije. Dodatan čimbenik koji je utjecao na brojnost bakterija bila je temperatura. Povećanje primarne i bakterijske proizvodnje, kao rezultat povišenja temperature, prenosi se na sve karike hranidbenog lanca i time se povećava protok bakterijske i fitoplanktonske biomase (Krstulović i Šolić, 1994). U zimskim uvjetima izmjerene su znatno niže brojnosti bakterijske zajednice u odnosu na ljetne, pogotovo na područjima gdje je koncentracija hranjivih soli bila manja. Brojnost heterotrofnih nanoflagelata uglavnom je pokazivala isti trend kao i broj bakterija kao što je bilo i očekivano budući da su one njihov glavni plijen. Brojnost cijanobakterija je bila nešto niža u površinskom sloju Raškog zaljeva na postajama koje su bile pod jačim utjecajem rijeke, dok

je u dubljem sloju povećanog saliniteta bila veća. Taj podatak nam ukazuje da se smanjeni salinitet negativno odražava na njihovu brojnost. Budući da su cijanobakterije autotrofni mikroorganizmi koji su prilagođeni niskim intenzitetima solarne radijacije treba uzeti u obzir i utjecaj suspendiranih čestica donesenih rijekom koje su znatno utjecale na prodiranje svjetlosti i na njen intenzitet. Tijekom zime veliki dio Raškog zaljeva bio je obogaćen suspendiranim česticama gline koje su zamućivale površinu mora i značajno reducirale količinu raspoloživog svjetla u vodenom stupcu. Zbog toga su cijanobakterije najvjerojatnije bile spriječene da provode efikasnu fotosintezu pa se njihova brojnost smanjila na čitavom području. S druge strane, tijekom ljeta utjecaj rijeke i suspendiranih tvari bio je ograničen uz samo ušće rijeke pa su cijanobakterije mogle provoditi normalnu fotosintezu u većem dijelu zaljeva.

Sanitarna kakvoća mora procijenjena je na osnovu bakterijskih indikatora fekalnog onečišćenja: fekalni koliformi, *E. coli* i fekalni streptokoki. U Pravilniku o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 87/2010) koje se ispuštaju u površinske vode, a koje se koriste za kupanje i rekreaciju, propisane su granične vrijednosti za koliforme fekalnog porijekla i za streptokoke fekalnog porijekla. Prema Tablici 2b, Pravilnika (Tablica 3), granična vrijednost za koliforme fekalnog porijekla (FK) iznosi 500 CFU/100 ml, a za streptokoke fekalnog porijekla (FS) 200 CFU/100 ml. Generalno, sanitarna kvaliteta mora u Raškom zaljevu, tijekom zime, bila je znatno lošija u odnosu na ljeto najvjerojatnije zbog velikog donosa terigenog materijala putem same rijeke, koji često može sadržavati visoke koncentracije fekalnih indikatora koje ne moraju biti ljudskog porijekla. Visoke koncentracije *E. coli*, zabilježene su u površinskom sloju mora na mjestima gdje se nalaze uzgajališta školjkaša te kod ušća rijeke Raše, dok su na dubini od 5 m bile niske osim kod uzgajališta (R5). Povišene koncentracije *E. coli* kraj uzgajališta ukazuju na postojanje određenog rizika za ljudsko zdravlje povezano s konzumacijom školjkaša. Međutim, omjer izmjerenih fekalnih indikatora upućuje na to da izvor indikatora najvjerojatnije nije ljudski fekalni materijal. Omjer fekalnih streptokoka i *E. coli* u kojemu prevladavaju fekalni streptokoki generalno ukazuje na prisutnost materijala koji dolazi iz drugih toplokrvnih životinja, koje se nalaze u stočarskim farmama u blizini sela iznad zaljeva ili u samom tlu. U ljetnom je razdoblju koncentracija fekalnih streptokoka na površini bila niska, osim na postaji kod uvale Blaz, dok su u zimskom periodu na skoro svim postajama koncentracije bile blizu dozvoljenih granica ili su premašivale dozvoljene granice. Na dubini od 5 m koncentracije su bile niske u oba razdoblja osim u veljači na postaji gdje se nalazi uzgajalište. U veljači je ispitana ispravnost

vode bila izvrsne kakvoće na postajama R3* i E, dok je u kolovozu postaja R3* bila nezadovoljavajuće kakvoće.

U kolovozu na postaji kraj ispusta iz hotela Duga Uvala (V5) koncentracija fekalnih streptokoka bila je viša od dozvoljene te je kakvoća mora karakterizirana kao nezadovoljavajuća. Međutim, kao u slučaju kod uzgajališta u Raškom zaljevu, omjer fekalnih indikatora (zbog niske koncentracije *E. coli*) upućuje da je izvor indikatorskih bakterija najvjerojatnije voda iz bazena u neposrednoj blizini i/ili resuspenzija sedimenta i ispiranje tla. Ispitana ispravnost vode je za oba razdoblja na ostalim postajama bila izvrsne kakvoće.

6 Zaključci

Slatkovodni unos rijeke Raše značajno utječe na hidrografske uvjete Raškog zaljeva, pogotovo u zimskom razdoblju kada je protok rijeke povišen. Tada, estuarij rijeke Raše ima osobine visoko stratificiranog sustava s izraženom piknoklinom, dok obilježja dobro izmiješanog estuarija prevladavaju tijekom ljeta.

Sustav Raškog estuarija nije pokazao znakove hipoksije ili anoksije čak i na područjima stratifikacije, što je svakako dobro za cijelu biološku zajednicu zaljeva.

Donos rijeke značajno obogaćuje površinske vode zaljeva hranjivim solima koje pospješuju produktivnost estuarijskog sustava. Osim same rijeke Raše, priobalni izvori mogu također obogatiti sustav hranjivim solima koji najvjerojatnije potječu iz poljoprivrednih i stočarskih aktivnosti u okolici zaljeva. S druge strane, u uvali Vinjole slatkovodni doprinosi su zanemarivi i nemaju značajan utjecaj na sustav.

Analiza stanja mikrobne zajednice pokazala je da povišene temperature i viši donos hranjivih soli pogoduju većoj brojnosti heterotrofnih bakterija i njihovih predatora, heterotrofnih nanoflagelata. Nasuprot tomu, brojnost cijanobakterija bila je smanjena tijekom povišenog protoka rijeke zbog reduciranog prodiranja svjetla, uzrokovanog velikom količinom suspendiranih čestica gline.

Sanitarna kvaliteta mora u Raškom zaljevu bila je znatno lošija tijekom zime u odnosu na ljeto najvjerojatnije kao posljedica pojačanog riječnog donosa materijala i intenzivnijeg ispiranja tla. Lošija kvaliteta mora u blizini uzgajališta školjkaša upućuje na to da bi se kontrole kvalitete mora trebale provoditi češće na tim lokacijama, pogotovo kad je protok rijeke intenzivniji.

U uvali Vinjole, pod sezonskim utjecajem turizma, sanitarni uvjeti su generalno bili dobri, s izuzetkom lokacije na samom kraju zaljeva gdje je koncentracija fekalnih streptokoka bila povećana, najvjerojatnije zbog izmjene vode iz bazena u neposrednoj blizini.

Literatura

Alongi, D.M. (1998) Coastal Ecosystem Processes, CRC Marine Science Series, Kennish, M.J. and Lutz, P.L. (Eds.), London, New York.

Azam, F. (1998) Microbial control of oceanic carbon flux: The plot thickens. Science, Vol. 280 no. 5634, pp: 694-696.

Azam, F., Smith, D.C. (1991) Bacterial influence on the variability in the ocean's biogeochemical state: a mechanistic view. Particles analysis in oceanography, pp: 213-236.

Béja, O., Suzuki, M.T. (2008) Photoheterotrophic marine prokaryotes, str. 131–158. U Kirchman, DL (prir.), Microbial Ecology of the Oceans, 2. izd. Wiley-Blackwell.

Božičević, S., Matijašić R. (2005) Istarska enciklopedija, pp: 676-677.

Butler, E.I., Corner, E.D.S., Marshall, S.M., (1970) On the nutrition and metabolism of zooplankton. VII Seasonal survey of nitrogen and phosphorus excretion by *Calanus* in the Clyde Sea-area. J.Mar.Biol.Ass. U.K., 50, 525-560.

Carlson, C.A., Morris, R., Parsons, R., Treusch, A.H., Giovannoni, S.J., Vergin, K. (2009) Seasonal dynamics of SAR11 populat ions in the euphotic and mesopelagic zones of the northwestern Sargasso Sea. ISME J. 3:283–295.

Caron, D.A., Lim, E.L., Miceli, G., Waterbury, J.B., Valois, F.W. (1992) Grazing and utilization of chroococcoid cyanobacteria and heterotrophic bacteria by protozoa in laboratory cultures and a coastal plakton community. Marine ecology progress series, Vol. 76, pp: 205-217.

Cavari, B., Colwell, R.R. (1988) Effect of pollution on the bacterial community structure in the coastal waters of the eastern Mediterranean sea. Progress in oceanography, Vol. 21, pp: 147-157.

Chisholm, S.W., Olson, R.J., Zettler, E.R., Goericke, R., Waterbury, J., Welshmeyer, N. (1988) A novel free-living prochlorophite abundant in the oceanic euphotic zone. Nature 334: 340-343.

Cohan, F.M. (2001) Bacterial Species and Speciation. Syst. Biol. 50:513–524.

Fadhullah, W., Grant, A. (2013) Experimental Study of Short Term Hypoxia and Anoxia on Nutrients in Estuary. International Journal of Environmental Biology. 3. 186-198.

Fanning, K.A, Pilson, M.E.Q. (1974) The diffusion of dissolved sillica out of deep sea sediments, J.Geophys. Res., 79; 1293-1297.

Fenchel, T. (1980) Relation between particle size selection and clearance in suspension feeding ciliates. Limnol. Oceanogr., 25: 733-738.

Forsskahl, A.L., Laakkonen, A., Leppanen, J.M., Niemi, A., Sundberg, A., Tamelander, G. (1982) Seasonal cycle of production and sedimentation of organic matter at the entrance to the Gulf of Finland. Neth.J.Sea Res., 16, 290-299.

Fuhrman, J.A., Hagström, A. (2008) Bacterial and archaeal communit y structure and its patterns, str. 45–90. u Kirchman, DL (prir.), Microbial Ecology of the Oceans, 2. izd. Wiley-Blackwell, New Jersey.

Fuks, D., Radić, J., Radić, T., Najdek, M., Blažina, M., Degobbis, D., Smodlaka, N. (2005) Relationships between heterotrophic bacteria and cyanobacteria in the northern Adriatic. Sci.Total Environ. 353:178-188.

Glover, H.E. (1985) The physiology and ecology of the marine cyanobacterial genus *Synechoccus*. U Advances in Aquatic Microbiology, H.W.Jannasch and P.J.Williams (Ured.), Vol.3, Academic Press Inc.London, pp. 49-107.

Herndl, G.J., Reinthaler, T., Teira, E., van Aken, H., Veth, C., Pernthaler, A., Pernthaler, J. (2005) Contribution of Archaea to Total Prokaryotic Production in the Deep Atlantic Ocean. Appl. Environ. Microbiol. 71:2303–2309.

Istarska enciklopedija (2005), pp: 873-974.

Ivančić, I., Degobbis, D. (1984) An optimal manual procedure for ammonia analysis in natural waters by the indophenol blue method. Water Res., 18, pp: 1143-1147.

Johnson, P.W., Sieburth, J.M. (1979) Chroococcoid cyanobacteria in the sea: A ubiquitous and diverse phototrophic biomass. Limnol. Oceanogr. 24:928–935.

Kamatani, A. (1971) Physical and chemical characteristics of biogenous silica. Mar. Biol., 8, 89-95.

Kirchman, D.L. (2008) Introduction and overview, str. 1–26. u Kirchman, DL (prir.), Kirchman, DL (prir.), Microbial Ecology of the Oceans, 2. izd. Wiley-Blackwell, New Jersey.

Korlević, M. (2015) Detaljna analiza bakterijske raznolikosti jadranskoga mora. Doktorski rad, Sveučilište u Zagrebu, PMF.

Krstulović, N., Šolić, M. (1994) Bacteriological quality of eatable organisms (mussels) from the sea of Split area. Prehrambeno-tehnološka i biotehnološka revija, 32; 125-127.

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

Kuenzler, E.J. (1965) Glucose-6-phosphate utilization by marine algae. J.Phycol., 1, 156-164.

Levasseur, M.E., Harrison, P.J., Heimdal, B.R., Therriault, J.C. (1990) Simultaneous nitrogen and silicate deficiency of a phytoplankton comunity in a coastal jet-front. Mar.Biol., 104, 329-338.

McManus, G.B., Fuhrman J.A. (1988) Clearance of bacteria-sized particles by natural populations of nanoplankton in the Chesapeake Bay outflow plume. Mar. Ecol. Progr. Ser., 42: 199-206.

Parsons, T.R., Maita, Y., Lalli, C.M. (1985) A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis. *Pergamon Press*. Oxford, New York, Toronto, Sydney and Frankfurt.

Partensky, F., Blanchot, J., Vaulot, D. (1999) Different ial distribution and ecology of *Prochlorococcus* and *Synechococcus* in oceanic waters: a review. Bull. l'Inst itut océanographique 19:457–475.

Perry, M.J., Eppley, R.W. (1981) Phosphate uptake by phytoplankton in the Central North Pacific Ocean. Deep Sea Res., 28A, 39-49.

Pipes, W.O. (1982) Indicators and water quality. Bacterial indicators of pollution, CRC Press Inc., Boca Raton, pp: 83-95.

Porter, K.G., Feig, Y.S. (1980) The use of DAPI for identification and counting aquatic microflora. Limnology and oceanography, Vol. 25, pp: 943-984.

Raymont, J.E.G. (1980) Plankton and productivity in the ocean. Vol.1. Phytoplankton, 2nd

edition, Pergamon Press, Oxford, pp.489.

Riley, J.P., Chester, R. (1971) Introduction to Marine Chemistry, Vol. 6, Academic Press, London, pp.465.

Sanders, R.W., Caron, D.A., Berninger, U.G. (1992) Relationships between bacteria and heterotrophic nanoplacton in marine and fresh waters: an inter-ecosystem comparison. Marine ecology progress series, Vol. 86, pp: 1-14.

Schelske, C.L., Conley, D.J., Stoermer, E.F., Newberry, T.L., Campbell, C.D. (1986) Biogenic silica and phosphorus accumulation in sediments as indices of eutrophication in the Laurentian Great Lakes. Hydrobiologia, 143, 79-86.

Seguel, C.G., Mudge, S., Salgado, C., Toledo, M. (2001) Tracing sewage in the marine environment: altered signatures in Conception Bay, Chile. Water research, Vol. 35 (17), pp: 4166-4174.

Suić, M. (1956) Granice Liburnije kroz stoljeća. Radovi instituta JAZU u Zadru,vol.2.

Šilović, T. (2012) Struktura i dinamika pikofitoplanktona Jadrana s naglaskom na cijanobakterije roda *Synechococcus*. Doktorski rad, Sveučilište u Zagrebu, PMF.

Šolić, M., Krstulović, N. (2000) Ekologija morskog bakterioplanktona. Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split.

UNESCO (1983) Algoritms for computation of fundamental properties of seawater. UNESCO Technical Papers in Marine Science, No. 44, pp: 53.

UNESCO (1986) Progress on oceanographic tables and standards 1983-1986: Work and recommendations of the Unesco/SCOR/ICES/IAPSO Joint Panel., UNESCO Technical Papers in Marine Science, No. 50, pp: 59.

Vergin, K.L., Beszteri, B., Monier, A., Cameron Thrash, J., Temperton, B., Treusch, A.H., Kilpert, F., Worden, A.Z., Giovannoni, S.J. (2013) High-resolution SAR11 ecotype dynamics at the Bermuda At lant ic Time-series Study site by phylogenet ic placement of pyrosequences. ISME J. 7:1322–1332.

Von Brand, T., Rakestraw, N.W., Renn, C.E. (1982) The experimental decomposition and regeneration of nitrogenous organic matter in sea water. Biol.Bull.Woods Hole, 72,165-175.

Waterbury, J.B., Stanier R.Y. (1981) Isolation and growth of cyanobacteria from marine and hypersaline environmets. In the Prokaryotes, A Handbook on Habits, Isolation and Identification of Bacteria, Vol I, M.P.Starr, H.Stolp, H.G.Truper, A.Balows and H.G.Schelegel (Eds.), Springer-Verlag, Berlin, pp. 221-223.

Waterbury, J.B., Watson, S.W., Guillard, R.R.L., Brand, L.E. (1979) Widespread occurrence of a unicellular, marine, planktonic, cyanobacterium. Nature 277:293–294.

Westheimer, F.H. (1987) Why nature chose phosphates. Science 235: 1173-1178.

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

Yamada, S.S. and D'Elia, C.F. (1984) Silicic acid regeneration from estuarine sediment cores. Mar. Ecol. Progr. Ser., 18, 113-118.

Internet izvori

Geoportal DGU - https://geoportal.dgu.hr/ (20.08.2019)

Kakvoća mora u Republici Hrvatskoj – Uredba o kakvoći mora za kupanje, dostupno na: http://baltazar.izor.hr/plazepub/kakvoca_detalji10 (05.09.2019)

Narodne novine – Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda, dostupno na: http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2010_07_87_2460.html (05.09.2019).

Popis tablica

Tablica 1. Granice klasa za procjenu ekološkog stanja

Tablica 2. Standardi za ocjenu kakvoće mora za kupanje nakon svakog ispitivanja

Tablica 3. Standardi za ocjenu kakvoće mora na kraju sezone kupanja i za prethodne tri sezone kupanja

Tablica 4. Granične vrijednosti emisija pročišćenih komunalnih otpadnih voda koje se ispuštaju u površinske vode, a koje se koriste za kupanje i rekreaciju i referentne metode ispitivanja

Tablica 5. Izmjereni podaci u Raškom zaljevu

Tablica 6. Izmjereni podaci u uvali Vinjole

Popis slika

Slika 1. Shematski prikaz klasičnih indikatora fekalnog onečišćenja mora.

Slika 2. Prikaz postaja u Raškom zaljevu.

Slika 3. Prikaz postaja u Uvali Vinjole.

Slika 4. Raspodjela temperature (T/°C), saliniteta (sal) i udjela zasićenja kisikom (ϕ/%) u površinskom sloju (a,b,c) i na dubini od 5 m (d,e,f) u veljači 2016. u Raškom zaljevu.

Slika 5. Raspodjela temperature (T/°C), saliniteta (sal) i udjela zasićenja kisikom (ϕ/%) u površinskom sloju (a,b,c) i na dubini od 5 m (d,e,f) u kolovozu 2016. u Raškom zaljevu.

Slika 6. Raspodjela *E. coli* (CFU/100ml) i fekalnih streptokoka (CFU/100ml) u površinskom sloju (a,b) i na dubini od 5 m (c,d) u veljači 2016. u Raškom zaljevu.

Slika 7. Raspodjela *E. coli* (CFU/100ml) i fekalnih streptokoka (CFU/100ml) u površinskom sloju (a,b) i na dubini od 5 m (c,d) u kolovozu 2016. u Raškom zaljevu.

Slika 8. Brojnost heterotrofnih bakterija, cijanobakterija i heterotrofnih nanoflagelata u površinskom sloju (a,b,c) i na dubini od 5 m (d,e,f) u veljači 2016. u Raškom zaljevu.

Slika 9. Brojnost heterotrofnih bakterija, cijanobakterija i heterotrofnih nanoflagelata u površinskom sloju (a,b,c) i na dubini od 5 m (d,e,f) u kolovozu 2016. u Raškom zaljevu.

Slika 10. Raspodjela ortosilikata (SiO_4, µmol/l), nitrata (NO_3, µmol/l), amonijevih soli (NH_4, µmol/l) i ortofosfata (PO_4, µmol/l) u površinskom sloju (a,b,c,d) i na dubini od 5 m (e,f,g,h) u veljači 2016. u Raškom zaljevu.

Slika 11. Raspodjela ortosilikata (SiO_4, µmol/l), nitrata (NO_3, µmol/l), amonijevih soli (NH_4, µmol/l) i ortofosfata (PO_4, µmol/l) u površinskom sloju (a,b,c,d) i na dubini od 5 m (e,f,g,h) u kolovozu 2016. u Raškom zaljevu.

Slika 12. Raspodjela temperature (T/°C), saliniteta (sal) i udjela zasićenja kisikom (ϕ/%) u površinskom sloju u veljači (d,e,f) i kolovozu (a,b,c) 2016. u uvali Vinjole.

Slika 13. Raspodjela *E. coli* (CFU/100ml) i fekalnih streptokoka (CFU/100ml) u površinskom sloju u veljači (c,d) i kolovozu (a,b) 2016. u uvali Vinjole.

Slika 14. Brojnost heterotrofnih bakterija, cijanobakterija i heterotrofnih nanoflagelata u površinskom sloju u veljači (d,e,f) i kolovozu (a,b,c) 2016. u uvali Vinjole.

Slika 15. Raspodjela ortosilikata (SiO_4, µmol/l), nitrata (NO_3, µmol/l), amonijevih soli (NH_4, µmol/l) i ortofosfata (PO_4, µmol/l) u površinskom sloju u veljači (e,f,g,h) i kolovozu (a,b,c,d) 2016. u uvali Vinjole.

PRILOG

Pomoćna tablica 1. Koordinate postaja - Uvala Vinjole

POSTAJA	E KOORDINATA	N KOORDINATA
V1	304421	4978310
V2	304590	4978530
V3	304884	4978566
V4	304781	4979072
V5	304763	4979238
V6	305116	4978814

Pomoćna tablica 2. Koordinate postaja - Raški zaljev

POSTAJA	E KOORDINATA	N KOORDINATA
B	306480	4994038
R0	306831	4990816
R0*	306428	4990389
R1	306795	4989847
R2	307164	4988968
R3	306868	4988025
R3*	306422	4987837
R4	307629	4987397
R5	308475	4987179
R6	310334	4984116
E	307048	4981472