

Sezonska promjenjivost sastava mikrobne zajednice slane močvare Palud

Vukušić, Marin

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:082548>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-05**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Marin Vukušić

**Sezonska promjenjivost sastava mikrobne
zajednice slane močvare Palud**

Diplomski rad

Zagreb, 2023.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Laboratoriju za morsku mikrobnu ekologiju Centra za istraživanje mora, Instituta Ruđera Boškovića u Rovinju, pod mentorstvom doc. dr. sc. Paola Paliage te komentorstvom izv. prof. dr. sc. Tomislava Ivankovića. Rad je predan na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno – matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistar ekologije i zaštite prirode.

Jedno veliko hvala mome mentoru doc. dr. sc. Paolu Paliagi na prenesenom znanju, uloženoj energiji, vremenu, trudu i strpljenju sa mnom i mojim pisanjem te volji da ponovo uskoči u ulogu mogega mentora.

Hvala mojemu komentoru izv. prof. dr. sc. Tomislavu Ivankoviću koji je naknadno prihvatio ulogu mogega komentora prilikom izrade ovoga diplomskog rada.

Hvala izv. prof. dr. sc. Sunčici Bosak na prenesenom znanju i pomoći prilikom izrade statističkog dijela mogeg diplomskog rada.

Hvala CIM-u Rovinj na ustupljenom prostoru za provođenje laboratorijske analize, potrebne za izradu ovog diplomskog rada.

Hvala mojoj obitelji koja me je podržavala mentalno i financijski prilikom studiranja u različitim gradovima tijekom proteklih 5 godina. Među njima bih se najviše htio zahvaliti svojoj baki koja je bila najveća podrška od svih i kojoj sam se mogao požaliti za bilo što, kad god sam trebao.

Za kraj bih se htio zahvaliti i svim svojim prijateljima i kolegama koji su bili velika podrška tijekom studiranja, pisanja diplomskog rada i davanja feedbacka. Prvenstveno bih se htio zahvaliti kolegama Nori Lončarić i Toniju Todoriću koji su tijekom diplomskog studija uvijek bili tu za mene i slušali moja žaljenja i s kojima sam tijekom jedne kave mogao promijeniti 15 različitih tema. Htio bih se zahvaliti i kolegici Margareti Kljun, koja je išla sa mnom nekoliko puta iz Rijeke do Rovinja kako bi mi pravila društvo. Također bi htio zahvaliti i Jeleni Bažon na svim riječima podrške prilikom izrade ovoga rada. Na kraju veliko hvala Lari Labotić i Moniki Andrašić s kojima sam uvijek mogao biti iskren i pravi ja i na čiju podršku mogu računati u bilo kojem trenutku.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Diplomski rad

Sezonska promjenjivost sastava mikrobne zajednice slane močvare Palud

Marin Vukušić

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Iako su močvare stoljećima promatrane kao bezvrijedna i nepotrebna područja u zadnjim se desetljećima taj stav postepeno promijenio. Danas su močvarni ekosustavi prepoznati kao vrlo vrijedna staništa zbog izuzetno visoke produktivnosti te zbog bogatstva vrsta od najsitnijih mikroorganizama pa sve do biljaka i životinja. Cilj rada bio je istražiti sezonsku dinamiku autohtone mikrobne zajednice i fekalnih bakterija u posebnim hidrografskim uvjetima voda slane močvare Palud i usporediti je sa morskom mikrobnom zajednicom u neposrednoj blizini močvare. Područje posebnog ornitološkog rezervata Palud – Palù od posebnog je značaja za sve organizme koje žive na tome području, a močvara koja se nalazi u samome središtu rezervata je specifičan ekosustav na području sjevernog Jadrana. Uzorkovanje se je izvodilo na 9 prethodno određenih postaja, na području posebnog ornitološkog rezervata Palud – Palù, a održalo se je 7 puta u periodu od kraja srpnja 2021., do svibnja 2022. Određena je sanitarna kakvoća vode te brojnost autohtone mikrobne zajednice u močvari, moru te u močvarnom kanalu koji povezuje močvaru s morem. Također je napravljena i statistička analiza podataka radi prikaza korelacije između sezonalnosti i mjerenih abiotičkih čimbenika, kao i grupacija postaja ovisno o poziciji uzorkovanja i ovisno o prisutnosti indikatorskih mikroorganizama ili autohtone mikrobne zajednice. Tijekom toplijih mjeseci (ljetno 2021. i proljeće 2022.) koncentracija indikatora fekalnog onečišćenja, ali i brojnost autohtone mikrobne zajednice je bila veća nego tijekom hladnijih mjeseci (jesen 2021. i zima 2022.). Dobiveni rezultati uspoređeni su s prosječnim podacima za sjeverni Jadran dostupnim u literaturi, kao i s dugoročnim prosjecima podataka za postaju RV001 na 1 NM zapadno od Rovinja. Rezultati su pokazali da hidrografski parametri u močvari imaju velike sezonske oscilacije, ali i da morske mijene imaju izuzetno važnu ulogu u funkcioniranju mikrobne zajednice i čitavog ekosustava.

Ključne riječi: indikatori fekalnog onečišćenja, heterotrofni prokarioti, heterotrofni nanoflagelati, cijanobakterije

(64 stranica, 74 slika, 11 priloga, 88 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: doc. dr. sc. Paolo Paliaga
Komentor: izv. prof. dr. sc. Tomislav Ivanković

Ocjenitelji:

Izv. prof. dr. sc. Tomislav Ivanković

Doc. dr. sc. Sandra Hudina

Prof. dr. sc. Ivana Maguire

Rad prihvaćen: 9. veljače 2023.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Master thesis

Seasonal variability of microbial communities in the Palud salt swamp

Marin Vukušić

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Although wetlands have been viewed as worthless and unnecessary areas for centuries, this attitude has gradually changed in recent decades. Today, wetland ecosystems are recognized as very valuable habitats due to their extremely high productivity and the richness of species, from the smallest microorganisms to plants and animals. The aim of this research is to investigate the seasonal dynamics of the indigenous microbial community and fecal bacteria in the special hydrographic conditions of the waters of the Palud salt marsh and compare it with the marine microbial community in the immediate vicinity of the marsh. The area of the special ornithological reserve Palud - Palù is of special importance for all organisms that live in that area, and the marsh located in the very center of the reserve is a specific ecosystem in the area of the northern Adriatic. Sampling was carried out at 9 previously determined stations, in the area of the special ornithological reserve Palud - Palù and took place 7 times in the period from the end of July 2021 to May 2022. The sanitary quality of the water and the abundance were determined autochthonous microbial communities in the marsh, the sea and in the marsh channel that connects the marsh with the sea. A statistical analysis of the data was also made to show the correlation between seasonality and measured abiotic factors, as well as the grouping of stations depending on the sampling position and depending on the presence of indicator microorganisms or autochthonous microbial communities. During the warmer months (summer 2021 and spring 2022), the concentration of fecal pollution indicators, as well as the abundance of the autochthonous microbial community, was expected to be higher than during the colder months (autumn 2021 and winter 2022). The obtained results were compared with average data for the northern Adriatic available in the literature, as well as with long-term data averages for station RV001 at 1 NM west of Rovinj. The results showed that hydrographic parameters in the marsh have large seasonal oscillations, but also that sea changes play an extremely important role in the functioning of the microbial community and the entire ecosystem.

Keywords: indicators of fecal pollution, heterotrophic prokaryotes, heterotrophic nanoflagellates, cyanobacteria

(64 pages, 74 figures, 11 tables, 88 references, original in: Croatian)

Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: Assistant Professor Paolo Paliaga, PhD

Co-mentor: Associate Professor Tomislav Ivanković, PhD

Reviewers:

Associate Professor Tomislav Ivanković, PhD

Assistant Professor Sandra Hudina, PhD

Professor Ivana Maguire, PhD

Thesis accepted: 9th February 2023

Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.1. Slane močvare.....	1
1.2. Ornitološki rezervat Palud – Palù.....	2
1.2.1. Životinje i biljke u ornitološkom rezervatu Palud – Palù.....	3
1.3. Biogeokemijski ciklusi.....	4
1.3.1. Ciklus dušika.....	5
1.3.2. Kruženje ugljika u vodenim sustavima.....	6
1.4. Otopljena organska tvar u morskim i močvarnim sustavima.....	6
1.4.1. Izvori otopljene tvari u morskim sustavima.....	8
1.4.1.1. Fitoplankton kao izvor otopljene organske tvari.....	9
1.4.1.2. Proizvodnja otopljene organske tvari tijekom ishrane zooplanktona.....	10
1.4.1.3. Oslobođanje otopljene organske tvari od strane mikrozooplanktona.....	10
1.4.1.4. Oslobođanje otopljene organske tvari od strane makrozooplanktona.....	11
1.4.1.5. Virusna liza.....	11
1.4.1.6. Bakterijska liza.....	12
1.4.1.7. Solubilizacija čestica.....	12
1.4.1.8. Izlučivanje i raspadanje bentoskih algi i cvjetnica.....	12
1.5. Dinamika heterotrofnih bakterija u moru.....	12
1.6. Heterotrofni prokarioti u sjevernom Jadranu.....	16
1.7. Heterotrofni nanoflagelati u sjevernom Jadranu.....	16
1.8. Cijanobakterije u sjevernom Jadranu.....	17
1.9. Indikatori fekalnog onečišćenja.....	17
1.9.1. Fekalni koliformi.....	18
1.9.1.1. <i>Escherichia coli</i>	18
1.9.2. Fekalni streptokoki.....	18
2. Cilj.....	19
3. Materijali i metode.....	20
3.1. Područje uzorkovanja.....	20
3.2. Uzorkovanje.....	21
3.3. Sanitarna kakvoća vode.....	21
3.4. Brojnost mikrobne zajednice močvare Palud.....	22
3.5. Statistička analiza podataka.....	23
4. Rezultati.....	24
4.1. Temperatura.....	24
4.2. Salinitet.....	27
4.3. pH vrijednost.....	30
4.4. Zasićenje kisikom (O ₂).....	33
4.5. Koncentracija bakterije <i>Escherichia coli</i>	36
4.6. Koncentracija fekalnih streptokoka (FS).....	39
4.7. Koncentracija heterotrofnih prokariota (HP).....	42
4.8. Koncentracija heterotrofnih nanoflagelata (HNF).....	45
4.9. Koncentracija cijanobakterija (CB).....	48
4.10. Statistička analiza podataka.....	51

5. Rasprava.....	53
6. Zaključak.....	58
7. Literatura.....	59
8. Životopis	
9. Prilozi.....	I

Kratice

FK – fekalni koliformi

E. coli – *Escherichia coli*

FS – fekalni streptokoki

HP – heterotrofni prokarioti

HNF – heterotrofni nanoflagelati

CB – cijanobakterije

DOC – otopljeni organski ugljik (eng. *dissolved organic carbon*)

DOM – otopljena organska tvar (eng. *dissolved organic matter*)

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

PCA – analiza glavnih komponenti (eng. *principal component analysis*)

nMDS – nemetričko višedimenzionalno skaliranje (eng. *nonmetric multidimensional scaling*)

1. Uvod

1.1. Slane močvare

Značaj močvara dugo nije bio prepoznat. Smatrala su se nepotrebnim, bezvrijednim i prljavim područjima, koja su bila izvori bolesti poput malarije i žute groznice, koja su se trebala izbjegavati. Međutim, danas važnost močvara je revalorizirana i njihova je funkcija prepoznata. Močvare pružaju hranidbene resurse i staništa za brojne vodene i kopnene organizme, poboljšavaju kvalitetu vode, doprinose skladištenju vode, kontroli poplava i erozije obale. Močvarni ekosustavi su karakterizirani visokim razinama produktivnosti, brzim kruženjem i recikliranjem hranjivih tvari, ali znatnom stopom sekvestracije ugljika (Bodelier i Dedysch 2013) i dušika (Lynum i sur. 2020). Danas nema sumnje da zaštita močvarnih područja osim očuvanja njihovih ekoloških uloga može doprinijeti boljem očuvanju ljudskog zdravlja, budući da pridonose smanjenju šteta od poplava te očuvanju kvalitete vode (Balwan i Kour 2021).

Močvare se nalaze na prijelazu između kopnenih i vodenih ekosustava, i spadaju među najproduktivnijim ekosustavima na svijetu (Deegan i sur. 2007) koji služe kao puferska područja za kopnena otjecanja čime se sprječava eutrofikacija unutrašnjih i obalnih voda (Bodelier i Dedysch 2013; Bbalali i sur. 2013). Iz tog razloga, močvare su usporedive s kišnim šumama i koraljnim grebenima te služe kao rezervoari značajne bioraznolikosti (Balwan i Kour 2021).

Danas močvare prekrivaju četiri do šest posto površine kopna Zemlje, a nalazimo ih na svim kontinentima osim na Antartici i u svim klimatskim zonama. Većina močvara prisutna je u regijama s vlažnim klimama zbog velikih količina padalina (Prohić 2010). U Hrvatskoj, prema Nacionalnoj kategorizaciji, slane močvare su staništa koja spadaju u obalne lagune. Takva staništa u Hrvatskoj zauzimaju vrlo male površine i često su izložene izrazitom utjecaju ljudskih aktivnosti poput nasipavanja, onečišćenja, urbanizacije, poljoprivrede u zaleđu, marikulture i turizma, a zbog svoje rijetkosti i visoke izloženosti antropogenim čimbenicima takva su staništa prepoznata kao Prioritetna staništa na razini Europske Unije. U tim staništima salinitet varira (brakično – hipersalino), ovisno o količini padalina, evaporaciji, olujama, ali i morskim mijenama te je za takva staništa karakteristična eurihalina i euritermna biocenoza (Bakran – Petricioli 2011). Slane močvare imaju vrlo visoke stope primarne produkcije i uglavnom anoksične sedimente koji otežavaju razgradnju organske tvari, što rezultira stopama sekvestracije ugljika koje su za red veličine veće, nego u kopnenim sustavima.

Mikroorganizmi se nalaze u svim staništima (Cohan 2001) pa tako ni močvarni ekosustavi nisu iznimka. Brojne usluge koje pruža ekosustav slanog močvara su rezultat mikrobnih procesa. Mikrobne zajednice u slanim močvarama uključuju prokariote, protiste i gljive, koje posjeduju veliku taksonomsku raznolikost te pokreću glavnu biogeokemijskih ciklusa u tim sustavima (Lynum i sur. 2020). Prokarioti su najbrojnija komponenta mikrobne zajednice u svim vodenim sustavima (Sanders i sur. 1992). Raspon njihove brojnosti ide od 10^3 do 10^8 stanica/ml i uvelike ovisi o trofičkom stanju određenog vodenog tijela (Sanders i sur. 1992). Ovi mikroorganizmi imaju jako visoku stopu populacijskog rasta i jako brzo reagiraju

porastom ili smanjenjem brojnosti na promjene i perturbacije u okolišu (Cavari i Colwell 1988). Autotrofnu komponentu prokariotske zajednice čine uglavnom cijanobakterije dok je heterotrofna komponenta uglavnom sastavljena od bakterija. Brojčano, heterotrofne bakterije značajno prevladavaju nad svim drugim skupinama prokariota. One se hrane otopljenom organskom tvari, iako mogu koristiti i partikularnu organsku tvar nakon što je pretvore u otopljenu fazu putem enzima. Prokarioti predstavljaju plijen za nanoplanktonske protiste koji se mogu hraniti sa značajno velikim udio prokariotskih populacija u jednom danu i tako vrše značajnu „top-down“ kontrolu (Sanders i sur. 1992). Na taj način stvara se poseban protok energije i kemijskih elemenata kroz koji se dio organskog materijala proizvedenog fotosintezom od strane fitoplanktona i makrofita, vraća u glavnu hranidbenu mrežu kroz mikrobn krug (Azam i sur. 1983). Stoga, brojnost pojedinih komponenti mikrobne zajednice može pružiti važne informacije o funkcioniranju sustava slanih močvara i o njihovoj trofičkoj dinamici. Dodatnu sastavnicu mikrobne zajednice koju je potrebno pratiti je ona alohtona, antropogenog porijekla, koja može biti pokazatelj prisutnosti fekalne kontaminacije u močvarnom sustavu. U ovu skupinu ulaze bakterije koje se rutinski upotrebljavaju za praćenje sanitarne kvalitete mora. Radi se o prokariotima koji čine značajnu komponentu mikrobne flore u probavnom traktu ljudi, ali i kod drugih toplokrvnih životinja. S obzirom da ove bakterije ne preživljavaju dugo (od nekoliko sati do nekoliko dana) izvan svojeg prirodnog staništa (Krstulović i Šolić 2006b), detekcija većih koncentracija spomenutih mikroorganizama može uputiti na prisutnost kontaminacije svježim fekalnim materijalom. Stoga, praćenje mikroorganizama koji su indikatori fekalnog onečišćenja u kombinaciji sa autohtonom mikrobnom zajednicom može doprinijeti boljem razumijevanju svih čimbenika koji potencijalno mogu utjecati na funkcioniranje sustava slanih močvara.

1.2. Ornitološki rezervat Palud – Palù

Ornitološki rezervat Palud – Palù se nalazi oko 8 km južno od grada Rovinja te je jedini ornitološki rezervat na području Istre, a zaštićen je od 2001. godine (Herak i sur. 2014; inforovinj.com, 2022). Palud je prirodna depresija u neposrednoj blizini mora, koja se zbog dotoka vode s okolnih brda i zaravni te izvora na sjevernoj strani, pretvorila u močvaru (istra.hr, 2022).

Godine 1906., u vrijeme kada je na području Istre vladala malarija, austrougarska vojska je prokopala oko 200 m dug kanal, koji je spojio močvaru s morem (slika 1). Razlog tog pothvata bio je povećanje saliniteta močvare radi onemogućavanja razvoja ličinki komaraca, koji su prenosili malariju. Malarija se na taj način nije suzbila, a močvaru Palud su naselili cipli i jegulje (inforovinj.com, 2022; istra.hr, 2022).



Slika 1: Močvara Palud. Na slici se kanal nalazi na mjestu gdje je vidljiv procjep između dijelova šume. Preuzeto s istra.hr (2022.)

1.2.1. Životinje i biljke u ornitološkom rezervatu Palud - Palù

U samome središtu rezervata se nalazi močvara, koja obiluje životom. U močvaru utječu slatke vode, a s morem je povezana umjetno prokopanim kanalom. Područje močvare, posebno njen sjeverni dio, prekriven je močvarnim biljkama, kao što su šaš, trstika i rogoz. Na većemu području močvare raste trstika, dok na rubovima raste šaš i sitovi. Na području gdje morska voda ulazi u močvaru rastu nakupine algi (Herak i sur. 2014).

Prokopavanjem kanala, močvaru su mogle nastaniti eurihaline vrste riba. Od ostalih kralježnjaka, na području Paluda žive 3 vrste vodozemaca, 11 vrsta gmazova te 19 vrsta sisavaca, od kojih 4 vrste pripadaju redu šišmiša. Po pitanju brojnosti i bogatstva vrsta, ptice su daleko najbrojnije i najraznovrsnije. Za vrijeme migracija ptica, u periodu od kada je Palud proglašen ornitološkim rezervatom, zabilježeno je preko 230 vrsta ptica. Na ovome području se gnijezdi preko 50 vrsta ptica, a 35 vrsta zimuje. Neke od vrsta ptica koje na ovome području obitavaju uključuju stonarice poput: divlje patke, mlakuše, kokošice, liske; selice poput: rđastog žalara, krivokljunog žalara, modronoge sabljarke i vlastelice te vrlo rijetko na ovome području mogu obitavati: čaplja govedarica, blistavi ibis, roda, crna roda i dugonoga prutka (Herak i sur. 2014).

1.3. Biogeokemijski ciklusi

Proučavanje uloge mikrobne zajednice daje uvid u rješavanje temeljnih ekoloških pitanja, poput odnosa između područja i bogatstva vrsta te važnosti biološke raznolikosti za funkcioniranje ekosustava (Buesing i sur. 2009). Da bi se predvidjeli učinci promjena ekosustava na funkcije močvara, potrebno je analizirati ekološke odgovore autohtonih bakterijskih zajednica na izmjene ekosustava kako bi se proširilo postojeće znanje o bakterijskim funkcionalnim skupinama koje kontroliraju određene biogeokemijske procese (Hartman i sur. 2008).

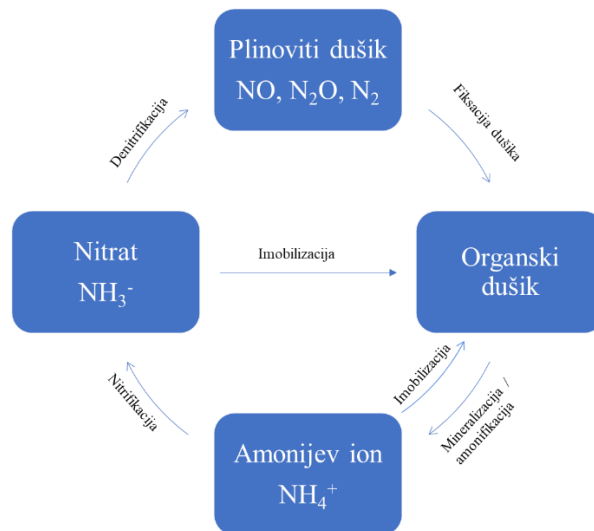
Strukturno složeni ekosustavi poput slatkovodnih i slanih močvara korisni su za proučavanje važnosti karakteristika staništa u određivanju obrazaca mikrobnih zajednica. Heterogenost staništa tla/sedimenta stvaraju mikrostaništa koja, naizgled, mogu sadržavati specifične mikrobne zajednice i koje stoga utječu na biogeokemijske procese u okolišu (Seyfferth i sur. 2020). Ta mikrostaništa često se nalaze u međusobno neposrednoj blizini te su ugrađena u vodeni medij i/ili povezana su s njim. Tako se osigurava učinkovito raspršenje na kratkoj udaljenosti, uz identične okolišne uvijete. To objašnjava kako bi sve razlike u zajednicama trebale biti posljedica unutarnjih karakteristika staništa. Slatkovodne močvare su visoko produktivne i opskrbljuju heterotrofne mikroorganizme različitim organskim tvarima (npr. biljni otpad, algalni detritus, otopljeni organski ugljik (DOC)) zbog čega su i bakterije i gljive važne komponente u ovim ekosustavima. Prijašnje analize u slatkovodnim močvarama pokazale su izrazito visoku sezonsku produktivnost mikrobnih zajednica u vodi i epifitskim biofilmovima, sve dok nije uočen jasan sezonski utjecaj na biljni otpad i sediment gdje je bakterijska produktivnost bila najveća (Buesing i sur. 2009).

Močvare, općenito, su među biogeokemijski najaktivnijim ekosustavima na svijetu i igraju važnu ulogu u globalnom ciklusu ugljika. Obalne slane močvare, posebice, mogu sekvestrirati ugljik jer nagomilavaju sedimente bogate organskom tvari (Kathilankal i sur. 2008). S obzirom na to da se nalaze na granici između kopnenog i vodenog ekosustava te zbog svoje visoke produktivnosti, močvarna staništa mogu biti pod utjecajem prirodnih i antropogenih čimbenika (Hartman i sur. 2008). Promjene u korištenju tla, kao i promjena hidrologije uslijed klimatskih promjena, mogu voditi do poremećaja i gubitka ovih staništa. Međutim, raznolikost i funkcioniranje mikrobnih zajednica u močvarnim sustavima je nedovoljno istražena u usporedbi s tлом i drugim vodenim ekosustavima (Bodelier i Dedysh 2013).

Mikrobni ciklusi važnih elemenata poput ugljika, sumpora i dušika potiču aktivnost kritičnih procesa u močvarama koji povećavaju produktivnost i skladištenje ugljika (npr. fiksacija dušika) ili potiču razgradnju organskih tvari (npr. respiracija gljiva, smanjenje sulfata, denitrifikacija) (Lynum i sur. 2020). Mnoge biogeokemijske pretvorbe koje kataliziraju mikrobi mogu u konačnici kontrolirati sastav vegetacije u močvarama (Bodelier i Dedysh 2013).

1.3.1. Ciklus dušika

Ciklus dušika je vrlo složen biogeokemijski proces u kojemu mikroorganizmi imaju vrlo bitnu ulogu. Ciklus dušika se sastoji od 5 reakcija pretvorbe dušika, pri čemu se mijenja oksidacioni – redukcijski karakter dušika te stupanj valencije (slika 2). Ove reakcije su: fiksacija dušika, asimilacija dušika, amonifikacija, nitrifikacija i denitrifikacija. Fiksacija dušika je proces u kojemu elementarni dušik (N_2) prelazi u „fiksirani dušik“, najčešće u obliku amonijaka (NH_3), ili amonijevog iona (NH_4^+). Asimilacija dušika je pretvorba amonijaka u organski dušik i biomasu. Proces suprotan asimilaciji je amonifikacija. Prilikom amonifikacije, organski dušik i biomasa prelaze u NH_3 , ili NH_4^+ . Nitrifikacija je proces tijekom kojega NH_4^+ prelazi u nitrit (NO_2^-) i nitrat (NO_3^-). Nitrifikacija je oksidacijski proces koji se odvija u aerobnim uvjetima. Denitrifikacija je proces suprotan nitrifikaciji. Denitrifikacija je redukcijski proces koji se odvija u anaerobnim uvjetima. Ovaj proces obuhvaća redukciju NO_3^- do NO_2^- i N_2 , pri čemu su NO i N_2O nusprodukti transformacije (Krstulović i Šolić 2006a).



Slika 2: Ciklus kruženja dušika. Preuzeto i prilagođeno iz Bicking i sur. (2019)

U slanim močvarama, kruženje dušika je posebno važno, kompleksno, ali i dobro proučeno. Dušik je često ograničavajući nutrijent za primarnu produkciju i igra značajnu ulogu u prijenosu elektrona unutar slanih močvarnih tla. Neki procesi ciklusa dušika koji su strogo povezani s mikrobima uključuju fiksaciju dušika, nitrifikaciju i denitrifikaciju (Thomas i sur. 2001). Od sredine 1970-ih, obogaćivanje hranjivih tvari u priobalnim i estuarijskim vodama postalo je značajni predmet proučavanja. Proces priobalne eutrofikacije istražena su uglavnom praćenjem ušća, s naglaskom na pelagička staništa. Budući da su sustavi estuarija obično ograničeni dušikom, NO_3^- je najčešći nutrijent odgovoran za obogaćivanje hranjivim tvarima. Povećana isporuka dušika do pelagičkih staništa ušća stvara klasičan odgovor ekosustava na stres (promijenjeni primarni proizvođači i ciklusi hranjivih tvari te gubitak sekundarnih proizvođača). Smatralo se da slani ekosustavi nisu podložni preopterećenju dušikom, jer su rane studije pokazale da je dodani dušik povećao proizvodnju močvarne trave te je zaključeno da slane močvare mogu apsorbirati višak hranjivih tvari ugradnjom u biljke i u organskoj tvari biljnog podrijetla kao treset. Nakupljanje treseta i unosa sedimenata te gubici treseta

raspadanjem i sedimentnom erozijom mogu se promijeniti pod visokim režimom hranjivih tvari i ugroziti dugoročnu stabilnost močvarnih sustava. Dodavanje dušika može dovesti do neto dobiti ili gubitka močvare, ovisno o ravnoteži između povećane proizvodnje biljaka močvarica i povećane razgradnje. Iako većina istraživanja obogaćivanje hranjivim tvarima tretira kao samostalni stres, ono se nikada ne događa izolirano od drugih smetnji. Učinak unosa hranjivih tvari na sastav vrsta (biljaka i životinja) te rezultirajuća struktura i funkcija močvarnih staništa, uvelike se zanemaruje uzimajući u obzir njihovu sposobnost apsorbiranja hranjivih tvari. Nedavna istraživanja pokazuju da odgovor estuarija na stres može ovisiti o sastavu životinjskih vrsta. Sastav životinjskih vrsta može promijeniti ravnotežu između dobiti i gubitka močvare, jer životinje mogu povećati, ili smanjiti primarnu proizvodnju, razgradnju, ili recikliranje dušika (Deegan i sur. 2007).

1.3.2. Kruženje ugljika u vodenim sustavima

Važni biološki procesi u globalnom ciklusu ugljika su fotosinteza i respiracija. Za sve organizme, ugljik je glavna komponenta staničnih struktura i molekula za koju je vezano za skladištenje i prijenos energije. Fotosintezu u pelagičkom morskome ekosustavu provode mali (0,2-2 μm) i veliki fitoplankton (20-200 μm) te autotrofne bakterije dok je u litoralnoj stepenici bentosa doprinos višestaničnih algi i cvjetnica također značajan. Tijekom dana primarni proizvođači kroz fotosintezu troše CO_2 , vodu i hranjive soli te oslobađaju O_2 i DOM (engl. *Dissolved organic matter*). Noću se fotosinteza zaustavlja, a primarni proizvođači postaju neto potrošači O_2 i oslobađaju CO_2 kroz respiraciju.

Heterotrofni organizmi poput flagelata, cilijata, kopepoda i riba također otpuštaju DOM kojeg heterotrofni prokarioti koriste kao glavni izvor energije. Naposljetku kroz procese prokariotske razgradnje značajan dio DOM-a se pretvara u prokariotsku biomasu koja se može prenijeti kroz hranidbenu mrežu i CO_2 dok se hranjive soli oslobađaju u vodenom stupcu i ponovno su raspoložive primarnim proizvođačima i na taj način se zatvara kruženje ugljika i ostalih esencijalnih hranjivih soli.

1.4. Otopljena organska tvar u morskim i močvarnim sustavima

Otopljena organska tvar (DOM, engl. *Dissolved organic matter*) u oceanima predstavlja jednu od najvećih zaliha organskog ugljika na površini Zemlje (Hedges 1992). Količina otopljenog organskog ugljika u moru iznosi oko 685 Gt, što je usporedivo s masom anorganskog ugljika u atmosferi (Hansell i Carlson 1998a). Ovaj spremnik ugljika ponaša se kao dinamička komponenta u biogeokemijskim procesima oceana i predstavlja glavni resurs za rast i preživljavanje heterotrofnih bakterija. Kemijski sastav DOM-a nije još dovoljno istražen, ali se zna da su njegovi glavni sastojci ugljikohidrati, aminokiseline, steroidi, alkoholi, masne kiseline, ugljikovodici i humične kiseline. Među njima, ugljikohidrati su najvažnija klasa biokemijskih spojeva i procjenjuje se da oni čine oko 5% DOM-a (Thurman 1985).

Otopljeni organska tvar se može podijeliti na tri komponente a to su: otopljeni organski ugljik (DOC), otopljeni organski dušik (DON) i otopljeni organski fosfor (DOP). Količina DOM-a u moru često se izražava kroz koncentraciju otopljenog organskog ugljika (DOC) (Šolić i Krstulović 2000), koja inače iznosi oko polovice koncentracije DOM-a. Koncentracija DOC-a u eufotičkoj zoni kreće se od 0,3 do 2,0 mg/l u plitkim morskim sustavima i od 0,4 do 0,8 mg/l u oceanima (Puddu i sur. 2000) što je oko 100 puta više od količine ugljika vezanog za bakterijsku biomasu (20 $\mu\text{gC/l}$) (Šolić i Krstulović 2000). DOC opada s dubinom, kao i s povećanjem udaljenosti od obale (Gardner i Stephens 1978).

Prema mogućnosti razgradnje bakterija DOC se može podijeliti na dvije frakcije: frakcija labilnih spojeva koji su inače male molekularne težine i odmah dostupni za prehranu bakterija i frakcija refraktornih spojeva koji su kompleksniji i traže prethodnu obradu kako bi postali dostupni (Šolić i Krstulović 2000). Prosječno vrijeme zadržavanja DOM-a je oko tisuću godina, što sugerira da je njegov veliki udio sastavljen od refraktornih komponenti (Puddu i sur. 2000). Eufotička zona je glavno mjesto gdje se proizvodi organska tvar u otvorenom oceanu. Neto proizvodnja DOM-a je najznačajnija u oceanskim regijama u kojima se događaju intenzivna godišnja cvjetanja fitoplanktona (Carlson 2002). Veličina i kvaliteta DOM-a nastalog tijekom navedenih cvjetanja znatno varira i ovisi o nizu bioloških, kemijskih i fizičkih parametara.

Dio ugljika koji se oslobađa iz planktonskih hranidbenih mreža u obliku DOC-a koristi heterotrofni bakterioplankton te inicira mikrobni krug (Azam i sur. 1983), gdje se DOC ugrađuje u bakterije i prolazi u više trofičke razine ili se remineralizira na anorganske sastojke (Ducklow i sur. 1986). 50% ugljika fiksiranog od strane fitoplanktona (Ducklow i Carlson 1992) preusmjereno je kroz DOM i obrađeno od strane bakterioplanktona, dio proizvedenog DOM-a nakuplja se u površinskim vodama te je otporan na brzu mikrobiološku razgradnju.

Hensell i Carlson (1998b) procjenjuju da 1,2 Gt C/godini ili 17% nove globalne proizvodnje izbjegne brzo mikrobno korištenje, nakuplja se u površinskim vodama i dostupno je za izvoz u unutrašnjost oceana. Stoga, čimbenici koji kontroliraju proizvodnju, uklanjanje i akumulaciju DOM-a u površinskim slojevima oceana imaju veliki ekološki i biogeokemijski značaj.

Ekosustavi slanih močvara pohranjuju 1-3 reda veličine više ugljika u sedimentima od slatkovodnih močvara ili šuma, ali također mogu ispuštati veliku količinu stakleničkih plinova u atmosferu, poput ugljikovog dioksida, ili metana (Seyfferth i sur. 2020). Iako se razumijevanje kruženja CO_2 u kopnenim i morskim ekosustavima poboljšalo, procesi kruženja ugljika u močvarama još uvijek nisu u potpunosti istraženi (Kathilankal i sur 2008). Slane močvare, premda mogu konstantno izbacivati CO_2 u atmosferu, prema raznim istraživanjima nisu značajni izvori CH_4 , zbog inhibirajućih učinaka sulfat-reducirajućih bakterija (Seyfferth i sur. 2020), koje iako tvore malu populaciju u slatkovodnim, ali i slanim močvarama mogu značajno konzumirati sulfate i značajno stupiti u interakciju s mikroorganizmima uključenim u druge cikluse. Tako sulfat-reducirajuće bakterije imaju inhibirajući učinak na metanogenezu (Bodelier i Dedysh 2013). U sedimentima bogatim sulfatima, sulfat-reducirajuće bakterije nadmašuju metanogene bakterije tijekom hidrogenotrofne i acetiklastične metanogeneze. Iz tog razloga, metilotrofna metanogeneza može biti najučinkovitiji put za proizvodnju CH_4 u

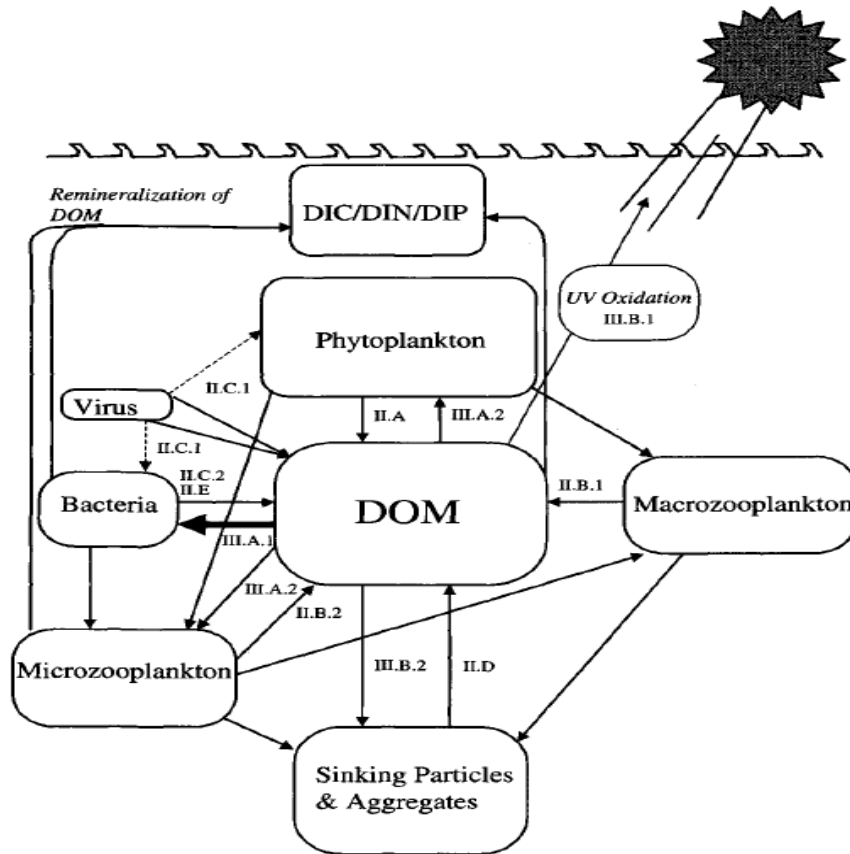
sedimentima bogatim sulfatima. Metilotrofna metanogeneza može se odvijati fermentacijom metiliranih spojeva kao što su metanol, metilsulfidi ili metilamini. Iz tog razloga sulfat-reducirajuće bakterije se ne natječu za supstrat. Pokazalo se da sulfat-reducirajuće bakterije i fermentacijske bakterije sudjeluju u razgradnji glicin betaina na trimetilamin, kojeg onda metanogene bakterije koriste za stvaranje CH₄ (Seyfferth i sur. 2020).

Struktura i funkcija mikrobne zajednice često se mijenja kada su mikrobi izloženi uvjetima okoline koji odstupaju od tipičnog okoliša. Mnogi su čimbenici važni u strukturiranju mikrobnih zajednica kao što su: temperatura, salinitet, pH te vrsta vegetacije, pri čemu se salinitet obično smatra najvažnijim. Dominantni tip vegetacije također može odigrati ključnu ulogu u strukturiranju mikrobne zajednice (Lynum i sur. 2020; Bowen i sur. 2009; Laanbroek i sur. 2012). Također je otkriveno da je vodno lice, na tresetištima i u močvarnim područjima, glavni pokretač proizvodnje CO₂ i CH₄, zbog učinaka koje poplave imaju na biogeokemiju područja, a posebno na stanje oksidacije i redukcije. Tresetišta i močvarna područja imaju sličnu dubinu vodnog lica, koje varira između 0 i 60 cm, u odnosu na slane močvare, na područjima uvjetovanim plimom i osekom. Zbog utjecaja plime i oseke, visina vodnog lica može biti različita na području ekosustava, ovisno o dobi dana, ali i o godišnjem dobu. Fluktuacija vodnog lica uzrokuje proizvodnju CO₂ i CH₄, ali također utječe i na njihovo izbacivanje u atmosferu. Utjecaj plime također je promjenjiv na području cijele močvare zbog razlika u topografiji područja i blizine plimnih kanala (Seyfferth i sur. 2020).

1.4.1. Izvori otopljene tvari u morskim sustavima

Izvori DOC-a u moru dijele se po porijeklu na vanjske i unutrašnje. Vanjski izvori DOC-a su puno manje važnosti, a najbitniji među njima, atmosfera i rijeke čine svega po 1% od ugljika stvorenog fotosintezom (Šolić i Krstulović 2000). Jedino u estuarijskim područjima dotok DOC-a rijekama može imati značajniji udio u ukupnoj koncentraciji DOC-a u moru. Unutrašnji izvori su daleko važniji od vanjskih.

Proizvodnja DOM-a u oceanima (slika 3) je u konačnici ograničena veličinom primarne proizvodnje odnosno fitoplanktonskoj ekstracelularnoj proizvodnji, ali uz taj izvor postoji još nekoliko drugih mehanizama koji su odgovorni za proizvodnju DOM-a, a oni uključuju: oslobađanje i izlučivanje sa strane grazera, ispuštanje tijekom stanične lize (virusne i bakterijske), solubilizacija čestica (POM), bakterijske transformacije i oslobađanja, te izlučivanje i raspadanje bentonskih algi (Carlson 2002).



Slika 3: Shematski prikaz raznih mehanizama proizvodnje i potrošnje otopljene organske tvari u oceanu. Preuzeto iz Carlson (2002)

1.4.1.1. Fitoplankton kao izvor otopljene organske tvari

Glavni izvor organskog ugljika u otvorenom moru je fitoplanktonska proizvodnja. Fotosintetska aktivnost pretvara anorganski ugljik u česticama organskih tvari (POM) u prisutnosti otopljenih anorganskih hranjivih tvari i svjetla. Promjenjivi postotak fotosintetskih proizvoda oslobađa se u okolnim vodama u obliku otopljene tvari, koja je uglavnom sastavljena od polisaharida, aminokiselina, jednostavnih šećera i glikolnih kiselina. Ovaj spremnik DOM-a predstavlja idealni supstrat za rast bakterija (Puddu i sur. 2000).

Dva su predložena modela koja pokušavaju objasniti izvanstaničnu proizvodnju fotoautotrofa. Oni su "overflow model" (Fogg 1966, 1983; Nagata 2000) i "model pasivne difuzije" (Fogg 1966; Bjørnsen 1988).

Prema "Overflow modelu" u uvjetima dovoljnog svjetla i niskih koncentracija hranjivih tvari, fiksacija ugljika može biti veća od njene ugradnje u stanice što rezultira izvanstaničnim izlučivanjem fotosintetskih proizvoda (Fogg 1983; Wood i Van Valen 1990). Prema ovom modelu otpuštanje DOM-a trebalo bi korelirati sa stopom fotosinteze, odsutno tijekom noći i sastavljeno od DOM-a koji sadrži molekule niske i visoke molekularne težine.

S druge strane "model pasivne difuzije" ukazuje da se DOM niske molekularne mase kontinuirano oslobađa iz stanica zbog pasivne difuzije kroz membranu (Bjørnsen 1988). U

morskoj vodi, difuzija se javlja zbog jakog gradijenta koncentracije DOM-a niske molekularne težine preko membrane. Ovaj model predviđa oslobađanje monomera neutralnih šećera i dušičnih spojeva, kao što su otopljene slobodne amino kiseline. Naknadno preuzimanje tih spojeva od strane bakterioplanktona održava gradijent (Bratbak i Thingstad 1985; Bjørnsen 1988). Bjørnsen (1988) tvrdi da je pasivna eksudacija proces koji se nastavlja tijekom noći i koji pokazuje vezu više sa fitoplanktonskom biomasom nego sa stopom fotosinteze. Oni procjenjuju da ER (engl. *extracellular release* – izvanstanično izlučivanje) ugljika po danu iznosi 5% od biomase fitoplanktona. Prema Baines i Pace (1991) izvješća u literaturi podržavaju oba modela.

Empirijski dokazi pokazuju da fitoplanktonsko izvanstanično izlučivanje iznosi oko 13% primarne proizvodnje, što nije dovoljno za zadovoljiti bakterijsku potrebu za ugljikom, zato što u mnogim morskim uvjetima bakterije konzumiraju u prosjeku od 40 do 50% primarne proizvodnje (Cole i sur. 1988; Ducklow i Carlson 1992). Dakle, više od dvije trećine ugljika bakterijske potražnje moraju biti zadovoljene iz drugih izvora.

1.4.1.2. Proizvodnja otopljene organske tvari tijekom ishrane zooplanktona

Razni potrošači konzumiraju značajan dio primarne i bakterijske proizvodnje. Potrošači fitoplanktona se razlikuju po strategijama hranjenja i po vrsti hrane te djeluju kao trofička veza, kao regeneratori hranjiva, ali i kao aktivni transformatori materijala plijena u DOM.

Dvije klase zooplanktona, makrozooplankton i mikrozooplankton, uklanjaju značajne frakcije fitoplanktonske i bakterijske proizvodnje u morskim sustavima. Makrozooplankton konzumira od 1% do 77%, a mikrozooplankton konzumira od 4% do 60% fitoplanktonske proizvodnje, ovisno o sustavima (Sherr i Sherr, 1988). Caron i sur. (1991) pokazali su da su nanoplanktonski protisti veliki potrošači prokariota i da mogu ukloniti od 54% do 75% cijanobakterija i heterotrofnih bakterija svaki dan.

Stoga, ovi planktonski potrošači potencijalno mogu odigrati aktivnu ulogu u transformaciji čestica ugljika u otopljenoj fazi putem raznih postupaka, uključujući hranjenje (engl. *sloppy feeding*), egestiju i izlučivanje.

1.4.1.3. Oslobađanje otopljene organske tvari od strane mikrozooplanktona

Rastući broj studija pokazuje da protisti mogu otpustiti značajan dio (od 10% do 30%) progutanog organskog materijala kao DOM (Nagata i Kirchman 1992). Te vrijednosti upućuju na to da su protisti potencijalno dominantan izvor DOC-a u mnogim dijelovima oceana gdje prevladava primarna proizvodnja fitoplanktona malih dimenzija (Sherr i Sherr 1994). Uz pretpostavku da je rast fitoplanktona balansiran grazingom protista, što je često slučaj u otvorenim oceanima, podaci ukazuju da se od 10 do 30% čestica primarne proizvodnje može pretvoriti u DOC za vrijeme hranjenja protista. Osim toga, DOC se proizvodi i tijekom

hranjenja bakterijama. Veličina potencijalnog ispuštanja DOC-a od strane protista je ekvivalentna ili čak veća od ispuštanja fitoplanktona (PER prosjek = 13%).

Protisti doprinose oslobađanjem otopljenih organskih spojeva koji su bogati hranjivim elementima, uključujući N, P i Fe. Nadalje, bičashi ispuštaju organski fosfor (Andersen i sur. 1986) u obliku otopljene DNA (Turk i sur. 1992), što je potencijalno važan izvor P za bakterije.

Protisti oslobađaju DOM tijekom egestije. Ovaj proces karakterizira spoj vakuola s citoplazmatskom membranom, što dovodi do evakuacije sadržaja vakuola koji se sastoji od ostataka plijena, neasimiliranog DOM-a pa čak i probavnih enzima (Nagata i Kirchman 1992). Količina oslobođenog DOM-a kroz egestiju procijenjena je između 10 i 30% progutanog materijala.

Dodatno, protisti, uz ispuštanje DOM-a kroz egestiju, izlučuju i organske metabolite kao što su urea i purin (Caron i Goldman 1990).

1.4.1.4. Oslobađanje otopljene organske tvari od strane makrozooplanktona

U obalnim područjima, doprinos zooplanktona toku DOM-a potencijalno je velik jer ovi organizmi konzumiraju značajan dio primarne proizvodnje velikog fitoplanktona (Dagg 1993). U sredinama u kojima je rast fitoplanktona uravnotežen ispašom zooplanktona, stopa ispuštanja DOC-a od zooplanktona može biti od 10 do 20% primarne proizvodnje. Zooplankton pokazuje četiri načina ispuštanja DOM-a i to su: neuredno hranjenje (engl. *sloppy feeding*), izlučivanje, egestija i oslobađanje iz fekalnih peleta. Relativni doprinos svakog mehanizma sveukupnom izdanju DOM-a još nije dovoljno razjašnjen.

1.4.1.5. Virusna liza

Virioplankton je sveprisutan u morskom okolišu (Wommack i Colwell 2000). Obično količina virusa se kreće u rasponu od 10^9 do 10^{11} virusnih čestica / l što je od 2 do 25 puta više od gustoće bakterija (Bergh i sur. 1989). Virusne infekcije mogu biti odgovorne za 10% do 50% smrtnosti bakterijske populacije (Furhman 1999). Ovaj proces je također povezan sa smanjenjem primarne proizvodnje i povećanom smrtnošću eukariotskih stanica u vodenom stupcu (Suttle i sur. 1990). Suttle i sur. (1990) su procijenili da se oko 3% globalne primarne proizvodnje izgubi zbog virusnih infekcija.

Kroz litičke infekcije, virusi koji su u kontaktu sa stanicom domaćina proizvode brojne virusne potomke. Potomstva tada unište stanicu domaćina i oslobađaju proteine, nukleinske kiseline, monomere, oligomere, polimere i stanične fragmente (Furhman 1999).

Većina DOM-a oslobođenog ovim procesom postane dostupna bakterioplanktonu u kratkom vremenskom razdoblju (Furhman 1999). Uglavnom ovo recikliranje DOM-a od strane bakterija predstavlja poluzatvorenu trofičku petlju koja ima kao neto efekt regeneraciju anorganskih hranjivih tvari i povećanje toka DOC-a kroz bakterioplankton (Furhman 1992). Međutim virusna liza prokariotskih i eukariotskih organizama pridonosi i stvaranju DOM-a koji je otporan na brzu mikrobiološku razgradnju.

Ovaj proces nije još dovoljno kvantificiran u prirodnim uvjetima i potrebno je još istraživanja da bi se utvrdila njegova važnost u morskom ekosustavu.

1.4.1.6. Bakterijska liza

Bakterijski – inducirana liza potencijalno može utjecati na oslobađanje DOM-a koji može biti sastavljen od labilnih spojeva koji se koriste za potporu daljnjem mikrobnom rastu, ili od refraktornih spojeva koji se akumuliraju u morskoj vodi, kao na primjer materijali koji sastavljaju bakterijske stanične stijenke (Carlson 2002). Ova pojava opažena je uglavnom u eksperimentalnim kulturama. Međutim, važnost ovog procesa u prirodnim *in situ* uvjetima nije još kvantificirana.

1.4.1.7. Solubilizacija čestica

Bakterijski egzoenzimi su od temeljne važnosti za hidrolizu polimera DOM-a (Hoppe 1991) i POM (Cho i Azam 1988). Smith i sur. (1992) tijekom pokusa u mezokozmu primijetili su da je značajan dio proizvodnje DOM-a rezultat enzimatske hidrolize materijala koji se nalazi na vanjskoj površini fitoplanktona.

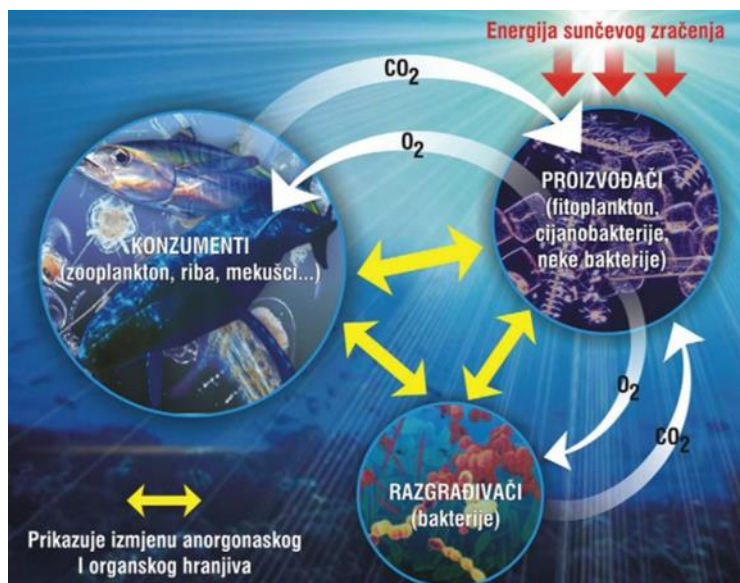
Smith i sur. (1992) pokazali su da bakterije u agregatima mogu proizvoditi visoke razine hidrolitičkih ektoenzima, stvarajući "enzimatski reaktor" koji rezultira izdavanjem DOM-a. Oni sugeriraju da relativne aktivnosti proteaze, karbohidraze i fosfataze upućuju na preferencijalnu solubilizaciju DON-a i DOP-a što ima kao posljedicu zadržavanje dušika i fosfora u eufotičkoj zoni.

1.4.1.8. Izlučivanje i raspadanje bentonskih algi i cvjetnica

Ovaj izvor je značajan u priobalnim područjima bogatim algama. Linley i sur. (1981) navode da se oko 25% ukupne godišnje proizvodnje bentonskih algi izluči ili razgradnjom dođe do DOC-a što može značajno povećati njegovu koncentraciju u tim područjima.

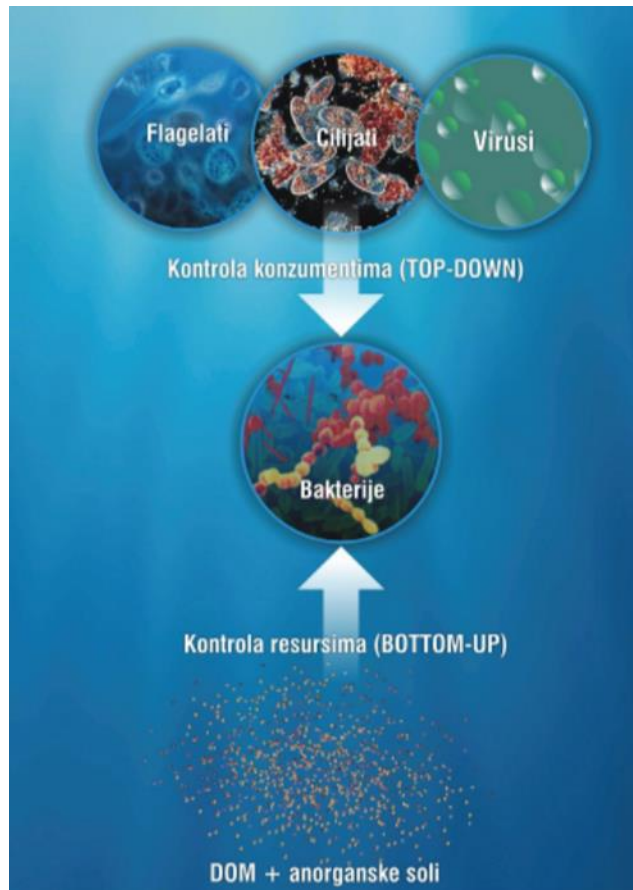
1.5. Dinamika heterotrofnih bakterija u moru

Kako u kopnenim ekosustavima, tako su i morski ekosustavi podijeljeni na trofičke razine, koje jednako kao i kopneni ekosustavi počinju s primarnim proizvođačima (autotrofni planktonski organizmi) koji uz pomoć sunčeve energije pretvaraju anorganski ugljik (CO₂) u organski oblik (ugljikohidrati), preko primarnih (nano- i mikrozooplankton) i sekundarnih (mezo- i makrozooplankton) konzumenata, sve do top predatora (morski psi). Heterotrofne bakterije i gljive sudjeluju u razgradnji organske te transformaciji anorganske tvari u morskome okolišu (slika 4) (Krstulović i Šolić 2006a).



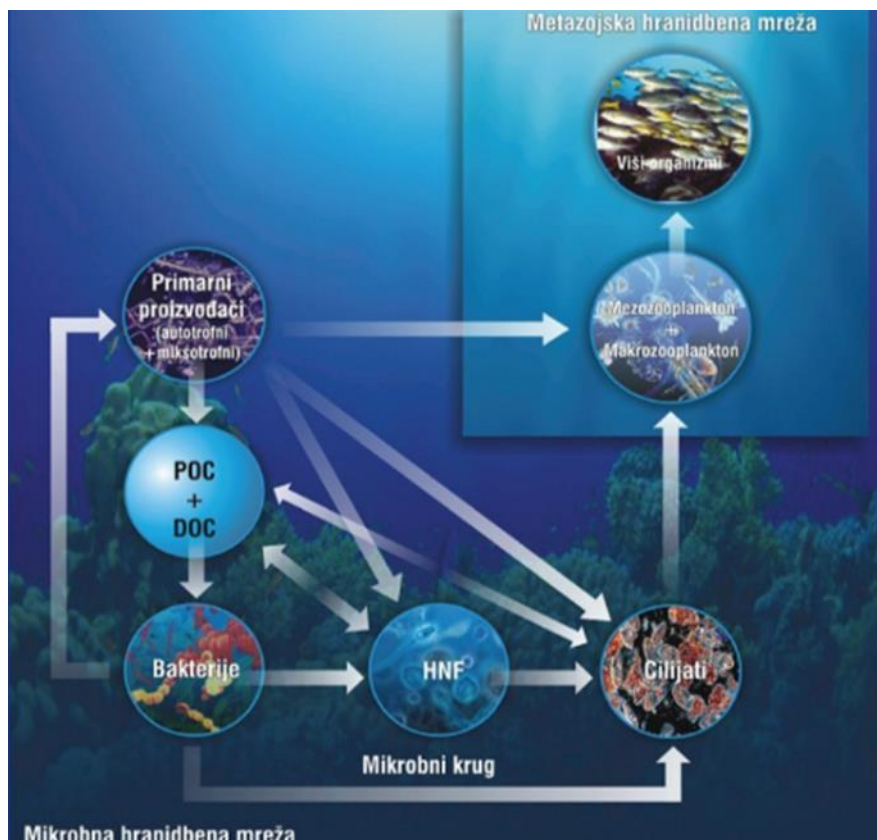
Slika 4: Pelagičke trofičke razine. Preuzeto iz Krstulović i Šolić (2006a)

Populacije bakterija u moru se mogu kontrolirati na dva načina (slika 5). Jedan način je kontrola resursima („bottom-up“), dok je drugi način kontrola predatorima („top-down“). Bottom-up kontrola populacija bakterija u moru obuhvaća mogućnost rasta njihovih populacija, ovisno o količini prisutne otopljene organske tvari i anorganskih soli. Ovaj način kontrole populacija postavlja gornju granicu koju populacije bakterija mogu doseći u okolišu. Top-down kontrola populacija bakterija uvjetovana je prisutnošću predatora (heterotrofni i miksotrofni flagelati te cilijati) i virusa u okolišu, koji koriste bakterije za ishranu, ili kao sredstvo za razmnožavanje. Top-down kontrola populacija određuje razinu realiziranog rasta. Ova dva mehanizma kontrole uglavnom djeluju istovremeno, a u određenim uvjetima (trofički status okoliša i/ili sezonske varijacije), jedan mehanizam može postati dominantan, u odnosu na drugi (Krstulović i Šolić 2006a).



Slika 5: Mehanizmi kontrole populacija bakterija u vodenom okolišu. Preuzeto iz Krstulović i Šolić (2006a)

Svi organizmi u moru sudjeluju u pelagičkoj hranidbenoj mreži (slika 6). Ovisno o uvjetima koji se nalaze u moru, pelagička hranidbena mreža može biti karakterizirana kao herbivorna (klasična) hranidbena mreža, ili mikrobna hranidbena mreža. Herbivorna hranidbena mreža se javlja kada je vodeni stupac izmiješan te kada u vodenome stupcu prevladava veliki fito- i zooplankton. Za razliku od herbivorne hranidbene mreže, mikrobna hranidbena mreža se javlja u stratificiranom vodenom sustavu, u kojemu prevladavaju piko eukariotske alge i cijanobakterije. Mikrobna hranidbena mreža se javlja na području na kojemu je velika zasićenost otopljenim organskim tvarima (DOM). Za razliku od mikrobne hranidbene mreže, koja dominira na područjima bogatim DOM-om, u oligotrofnim područjima, gdje je zasićenost DOM-om niska, dominira mikrobni krug. Mikrobni krug sastavni je dio mikrobne hranidbene mreže, ali on je zatvoreni sustav koji obuhvaća isključivo bakterije i bakteriovorne protiste, kao što su heterotrofni nanoflagelati i cilijati, dok mikrobna hranidbena mreža obuhvaća i druge jednostanične autotrofne i heterotrofne prokariote i eukariote (Krstulović i Šolić 2006a).



Slika 6: Pelagička hranidbena mreža s prikazom mikrobnog kruga. Preuzeto iz Krstulović i Šolić (2006a)

Otopljena organska tvar, odnosno DOC je za heterotrofne bakterije glavni izvor energije i ugljika. One ga vrlo aktivno uzimaju i koriste iz svog okoliša no koncentracije otopljenih labilnih spojeva su jako niske (od 10^{-8} do 10^{-10} mol/l) (Williams 1986) pa su bakterije razvile niz mehanizama da bi se održale u morskom okolišu. Kao prvo, bakterije imaju izuzetno efikasni transportni sustav kroz staničnu membranu i visoki omjer (oko 10) površine i volumena stanice. Uz to sposobne su izlučiti egzoenzime pomoću kojih hidroliziraju partikularnu i otopljenu organsku tvar do monomera i oligomera koji mogu biti iskorišteni. Većina morskih bakterija je pokretljiva, a njihova brzina varira u rasponu od 2 do 40 $\mu\text{m/s}$ (Šolić i Krstulović 2000). U uskoj vezi s pokretljivošću bakterija je kemotaksija, odnosno sposobnost bakterija da osjete organsku tvar koja ih privlači. Stoga bakterije mogu mijenjati svoj prostorni raspored kao odgovor na gradijent hranjivih tvari u njihovom okolišu. Jedan primjer takvog gradijenta su fikosfere, to jest zone oko stanice fitoplanktona gdje je povećana koncentracija DOC-a. Zadnja adaptacija bakterija je velika brzina kojom mogu ukloniti veliki dio raspoloživog DOC-a u moru (Azam i Fuhrman 1984). Ova osobina im je jako važna zbog kompeticije sa drugim morskim organizmima koji koriste otopljenu organsku tvar.

Procjenjuje se da bakterije respiriraju od 40 do 90% konzumiranog ugljika, što sugerira da efikasnost konverzije DOC-a u bakterijsku biomasu varira između 10 i 60% (Azam i sur. 1983). Efikasnost konverzije povećava se u sredinama bogatim hranjivim tvarima, posebno dušikom. Bakterije imaju višestruku ulogu u vezi s anorganskim nutrijentima i to: u uvjetima

kad imaju dovoljno DON-a i DOP-a, mineraliziraju organsku tvar i oslobađaju dušik i fosfor koji su potrebni za primarnu proizvodnju, međutim kada se smanjuje količina raspoloživih nutrijenata, bakterije mogu postati kompetitori fitoplanktonu. To znači da ovisno o količini anorganskih i organskih supstrata, bakterije će biti neto proizvođači ili neto potrošači anorganskih soli (Azam i Smith 1991).

1.6. Heterotrofni prokarioti u sjevernom Jadranu

Brojnost heterotrofnih prokariota (HP) u sjevernom Jadranu se kreće u rasponu od $0,1 \times 10^6$ do 6×10^6 stanica po ml morske vode dok se u središnjem Jadranu kreću od $0,41 \times 10^6$ do $3,43 \times 10^6$ (Krstulović 2006). Najviše vrijednosti izmjerene su u površinskom sloju u zapadnom djelu sjevernog Jadrana (Fuks i sur. 2005). S druge strane vrijednosti brojnosti u pridnom sloju niže su od onih u površinskim vodama i ne mijenjaju se puno u smjeru istok – zapad. Tijekom zime brojnost HP se smanjuje i relativno je ravnomjerno distribuirana u cijelom vodenom stupcu. Kad se more zagrije brojnost HP raste u površinskom sloju. HP u Jadranu pokazuju pozitivnu korelaciju s temperaturom i sa klorofilom *a*, dok je njihova korelacija sa salinitetom negativna označavajući da hranjive soli koji dolaze s rijekama igraju važnu ulogu povećavajući brojnost fitoplanktona i proizvodnju organske tvari u moru (Fuks i sur. 2005). Međutim, nedostatak korelacije sa klorofilom *a* u pridnom sloju ukazuje da HP koriste druge izvore DOM-a kao na primjer resuspendirani detritus i materijale koji dolaze iz stanične lize ili ekskrecije (Fuks i sur. 2005).

1.7. Heterotrofni nanoflagelati u sjevernom Jadranu

Brojnost heterotrofnih nanoflagelata u sjevernom Jadranu se kreće između $0,5 \times 10^3$ i $1,2 \times 10^3$ stanica po ml. Najviše vrijednosti su izmjerene na zapadnome dijelu sjevernoga Jadrana, u površinskom sloju, dok je brojnost u pridnom sloju niža od one u površinskom sloju. Tijekom zime su zabilježene niže vrijednosti brojnosti HNF te ravnomjerna raspodjela u vodenome stupcu. Zagrijavanjem mora dolazi do povećanja brojnosti HNF u površinskom sloju, gdje su aktivniji, nego u pridnom sloju (Fuks i sur. 2005). HNF su pokazali da imaju slično kretanje duž trofičkog gradijenta, kao što to imaju i HP (Krstulović i sur. 1997) koje su njihov glavni plijen. Zbog toga možemo zaključiti da HNF imaju pozitivnu korelaciju s HP. Također HNF imaju pozitivnu korelaciju s temperaturom i klorofilom *a*, budući da se njihova brojnost povećava s povećanjem temperature, ali i s povećanjem koncentracije klorofila *a* (Fuks i sur. 2005).

1.8. Cijanobakterije u sjevernom Jadranu

Brojnost cijanobakterija (CB) se u sjevernom Jadranu kreće između 10^6 i 7×10^8 stanica po ml. Kao HP i HNF, tako je i brojnost cijanobakterija najviša u zapadnome dijelu sjevernog Jadrana te se smanjuje prema istoku. Razlog tomu je dolazak nutrijenata iz rijeke Po. Brojnost CB u pridnom sloju je niža od one u površinskom sloju te se ne mijenja pretjerano u smjeru istok – zapad. Minimalna brojnost zabilježena je tijekom hladnijeg dijela godine, dok je maksimalna brojnost zabilježena tijekom ljeta. To znači da CB pozitivno koreliraju s temperaturom. CB također pozitivno koreliraju i s klorofilom *a* te to može ukazati na činjenicu da su CB zaslužne za glavninu koncentraciju klorofila *a* u pridnom sloju (Fuks i sur. 2005).

1.9. Indikatori fekalnog onečišćenja

Indikatori fekalnog onečišćenja su pokazatelji sanitarne kakvoće mora, odnosno koliki je stupanj rizika na ljudsko zdravlje. Kvantitativno su najznačajnija kategorija alohtonih mikroorganizama u moru, a uključuju predstavnike bakterija, virusa, gljiva i protista, koji mogu uzrokovati širok spektar bolesti (Krstulović i Šolić 2006b; Sović 2017; Vukušić 2019).

U morski okoliš dospjevaju na različite načine, od kojih je najznačajniji direktan unos putem ispusta komunalnih otpadnih voda koje mogu biti djelomično pročišćene ili nepročišćene. Drugi način unosa alohtonih mikroorganizama bi bila atmosfera. Budući da je utvrđen utjecaj vjetra koji puše s kopna na more nosi sa sobom različite mikroorganizme koje kiša obara u rijeke i/ili mora. Tlo isto može biti izvor unosa alohtonih mikroorganizama u more, budući da vjetar može nositi sitne čestice, a kiša dovodi do ispiranja tla (Krstulović i Šolić 2006b; Vukušić 2019). Mogući izvor mikroorganizama, pogotovo u obalnim rekreacijskim područjima, su sami kupači. Dokazano je da rekreacijska morska područja koja nisu pod utjecajem otpadnih voda mogu biti onečišćena različitim patogenima poput enterovirusa, bakterija i gljivica, zbog čega kupanje na prenapučenim plažama može biti efikasan način prijenosa virusnih, ali i bakterijskih i gljivičnih infekcija (Krstulović i Šolić 2006b; Sović 2017; Vukušić 2019).

Važno je poznavati sanitarnu kakvoću mora, prilikom korištenja mora u rekreativne i prehrambene svrhe, kako bi se očuvalo zdravlje ljudi. Da bi se odredila sanitarna kakvoća mora, vrlo je važno odabrati indikatore koji se mogu definirati kao pokazatelji potencijalnog rizika od infekcija kod ljudi za vrijeme njihovog korištenja morskog okoliša (Krstulović i Šolić 2006b; Sović 2017; Vukušić 2019). Najbolji indikatori su oni koji pokazuju najveći stupanj korelacije sa stupnjem rizika za zdravlje ljudi. Prilikom odabira indikatorskog organizma treba težiti k tome da su njegove osobine što sličnije osobinama idealnog indikatora: 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. Danas se kao indikatori fekalnog onečišćenja koriste tri skupine bakterija: ukupni koliformi (UK), fekalni koliformi (FK) i fekalni streptokoki (FS) (Krstulović i Šolić 2006b; Sović 2017; Vukušić 2019).

1.9.1. Fekalni koliformi

Fekalni koliformi (FK) su aerobni i fakultativno anaerobni Gram-negativni, nesporogeni štapići. Oni čine podskupinu ukupnih koliforma koji fermentiraju laktozu na temperaturi od 44,5 °C u razdoblju od 24 sata, pri čemu proizvode kiselinu i plin. FK pokazuju vrlo visoku korelaciju sa stupnjem fekalnog onečišćenja koje potječe od toplokrvnih organizama zbog čega se smatraju boljim indikatorom sanitarne kakvoće mora naspram ukupnih koliforma, među koje pripadaju i koliformne bakterije nefekalnog porijekla. Mogućnost razmnožavanja FK u moru je vrlo mala. Unutar ove skupine, najzastupljenija vrsta je *E. coli* (75-95%). Fekalni koliformi su indikator svježeg fekalnog onečišćenja mora (Krstulović i Šolić 2006b; Sović 2017; Vukušić 2019).

1.9.1.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli je štapićasta, fakultativno anaerobna bakterija iz porodice Enterobacteriaceae te je jedan od boljih indikatora fekalnog zagađenja, jer je za razliku od ostalih bakterija prirodno stanište *E. coli* isključivo probavni sustav toplokrvnih životinja. Ova bakterija je uglavnom bezopasna, ali također je i potencijalni patogen, budući da može uzrokovati oboljenja u određenim uvjetima (izvan probavnog sustava). Međutim, određeni sojevi *E. coli* mogu uzrokovati probleme u probavanom sustavu, poput proljeva, boli u truhu i grčeva. Također, neke infekcije *E. coli* mogu biti opasne (Vukušić 2019; clevelandclinic.org, 2023).

1.9.2. Fekalni streptokoki

Fekalni streptokoki (FS) su Gram-pozitivni, izduženi ili ovalni koki koji dolaze u parovima ili kratkim lancima. Budući da dolaze od toplokrvnih organizama, njihovo prisustvo u morskom okolišu također ukazuje na onečišćenje fekalnim materijalom (Krstulović i Šolić 2006b; Sović 2017; Vukušić 2019). U kombinaciji s FK, FS pružaju precizniju informaciju o izvoru onečišćenja budući da neke vrste unutar ove skupine imaju specifične domaćine. Na taj način je moguće, utvrditi je li određeni izvor fekalnog otpada potječe iz domaćinstva ili od životinja (Krstulović i Šolić 2006b; Sović 2017; Vukušić 2019). Omjer FK:FS se može upotrijebiti kao pokazatelj onečišćenja fekalnog porijekla (Coyne i Howell 1994; Sović 2017).

Omjer FK:FS koji je manji od 0,7 pokazatelj je fekalnog materijala životinjskog porijekla, dok je FK:FS omjer veći od 4,0 pokazatelj fekalnog materijala ljudskog porijekla. Navedeni omjeri vrijede za fekalni materijal, ne stariji od 24 sata (Krstulović i Šolić 2006b; Sović 2017; Vukušić 2019).

Za razliku od UK i FK, FS su otporniji na morsku vodu te mogu preživjeti duže vrijeme. Zbog te osobine su FS pokazatelji nešto starijeg onečišćenja u usporedbi s drugim indikatorima. Omjer FK:FS se može iskoristiti kao pokazatelj udaljenosti mjesta uzorkovanja od izvora onečišćenja ili pokazatelj vremena koje je prošlo od dolaska otpadnih voda fekalnog porijekla do mjesta uzorkovanja (Krstulović i Šolić 2006b; Vukušić 2019).

2. Cilj

Cilj ovog diplomskog rada je istražiti sezonsku dinamiku autohtone mikrobne zajednice (heterotrofnih prokariota, cijanobakterija i heterotrofnih nanoflagelata) i fekalnih bakterija u posebnim hidrografskim uvjetima voda slane močvare Palud i usporediti je s morskom mikrobnom zajednicom.

3. Materijali i metode

3.1. Područje uzorkovanja

Uzorkovanje u svrhu ovoga diplomskoga rada se je odvijalo na devet, prethodno određenih, postaja na području posebnoga rezervata Palud – Palù (slika 7). Od navedenih devet postaja, šest se nalazilo u močvari rezervata (P₁ – P₆), dvije su se nalazile u kanalu koji povezuje močvaru s morem (P₇ i P₈) te se je jedna postaja nalazila kraj morske obale izvan kanala koja je služila kao kontrolna postaja (P₉).



Slika 7: Područje uzorkovanja s naznačenim postajama. Izrađeno u programu QGIS

3.2. Uzorkovanje

Uzorkovanja su se odvijala sedam puta, u periodu od kolovoza 2021. do svibnja 2022. Četiri su se uzorkovanja odvila tijekom ljeta (kraj srpnja i kolovoz 2021.), dok se je tijekom jeseni (studeni 2021.), zime (veljača 2022.) i proljeća (svibanj 2022.) broj uzorkovanja odvio samo jedan put po godišnjem dobu.

Tijekom uzorkovanja, temperatura, salinitet, pH i zasićenje O₂ su izmjereni *in situ* uz pomoć multiparametarske sonde (HANNA instruments; model HI98194) u površinskom sloju. Također, tijekom uzorkovanja vode korišteno je devet sterilnih staklenih boca od 250 ml, označenih prema broju postaje, a koje su služile za prikupljanje uzoraka za određivanje sanitarne kakvoće vode. Dio uzorkovane vode sa svake postaje pretočen je u plastične bočice od 20 ml kako bi se mogla analizirati mikrobna zajednica. Uzorci vode su bili prikupljeni s dubine od 5 cm te su nakon prikupljanja odneseni u Laboratorij za morsku mikrobnu ekologiju Centra za istraživanje mora (Institut Ruđer Bošković) u Rovinju. Dobiveni rezultati su prikazani na grafu, SURFER 12 (Golden software).

3.3. Sanitarna kakvoća vode

Sanitarnu kakvoću vode močvare odredio sam metodom membranske filtracije koristeći bakterijske indikatore *Escherichia coli* i fekalne streptokoke.

Uzorke sam profiltrirao (slika 8) kroz membranske filtre (Millipore) s promjerom pora 0,45 μm te je svaki uzorak profiltriran dva puta. Jednom kako bi membranske filtre postavio u Petrijeve zdjelice s hranjivom podlogom namijenjenu razvoju kolonija bakterije *E. coli* te drugi put kako bi se razvile kolonije fekalnih streptokoka. Profiltrirao sam 100 ml uzorka, osim kada se je na nekim postajama nalazila veća količina organske tvari koja je mogla začepiti pore te je tada sam profiltrirao 25, 50 ili 75 ml uzorka.



Slika 8: Membranska filtracija uzoraka. Autorska fotografija

Za određivanje brojnosti bakterije *E. coli* filteri sam postavio na hranjivu podlogu *Chromocult agar* (Merck) u Petrijevim zdjelicama koje su inkubirane na temperaturi od 36 °C tijekom 24 sata. Kolonije koje su izrasle i poprimile karakterističnu tamnoplavu boju sam identificirao i izbrojao kao *E. coli* te je rezultat izražen kao broj izraslih kolonija (CFU, engl. *Colony Forming Unit*) na 100 ml vode, ili manje ako je profiltrirano manje vode zbog začepjenja pora filtera.

Fekalni streptokoki sam odredio postavljanjem membranskih filtara na površinu *Slanetz-Bartley* agara (Sigma Aldrich) koji se također nalazio u Petrijevim zdjelicama te koje su inkubirane na 36 °C tijekom 48 sati. Filtri na kojima su se pojavile crvene kolonije sam premjestio u Petrijeve zdjelice s hranjivom podlogom *Bile-aesculin* agar (Sigma Aldrich) za potvrdno testiranje. Podloge s filtrima sam inkubirao na temperaturi od 44,5 °C tijekom 2 sata. Kolonije koje su poprimile tamnu boju ili koje su oko sebe stvorile tamni krug sam izbrojao te su konačni rezultati izračunati i prikazani kao CFU na 100 ml vode, ili manje ako je profiltrirano manje vode zbog začepjenja pora filtera.

3.4. Brojnost mikrobne zajednice močvare Palud

Uz određivanje sanitarne kakvoće močvare Palud, određivao sam i brojnost heterotrofnih prokariota, heterotrofnih nanoflagelata i cijanobakterija. Za određivanje mikrobne zajednice, uzorke vode sam prikupio u sterilne staklene boce. Dio uzorkovane vode sa svake postaje, pretočio sam u plastične bočice od 20 ml te su uzorci fiksirani dodavanjem formaldehida u završnoj koncentraciji od 2% i skladišteni na 4 °C. U laboratoriju, kako bi se odredila brojnost heterotrofnih prokariota, u 2 ml svakog uzorka dodana je DAPI boja (4,6-diamidino-2-fenilindol) (Thermo Fisher Scientific) u finalnoj koncentraciji od 1 µg/ml te su uzorci ostavljeni na mirovanje u zamračenom prostoru 10 minuta. Slijedila je filtracija kroz crne polikarbonatne filtre (Whatmann) s promjerom 25 mm te porama veličine 0,2 µm. Nakon filtracije, filteri su postavljeni na mikroskopsko stakalce te im je dodano imerzijsko ulje i pokrovno stakalce (Porter i Feig, 1980). Za određivanje brojnosti heterotrofnih nanoflagelata, u 10 ml svakog uzorka dodana je DAPI boja (Thermo Fisher Scientific) te su uzorci ostavljeni na mirovanje u zamračenom prostoru 10 minuta. Nakon toga, uzorke sam profiltrirao kroz crne polikarbonatne filtre (Whatmann) s promjerom 25 mm te porama veličine 0,4 µm. Postupak za određivanje brojnosti cijanobakterija je sličan postupku za određivanje HNF, osim što za potrebu određivanja CB nije potrebno dodavati DAPI boju, budući da njihovi fotosintetski pigmenti prirodno fluoresciraju kad su izloženi zelenom svjetlu.

Brojnost heterotrofnih prokariota, heterotrofnih nanoflagelata i cijanobakterija određena je uz pomoć epifluorescentnog mikroskopa (Carl Zeiss AXIO IMAGER.M2) pri povećanju od 1000x (Porter i Feig, 1980). Uzorci su osvijetljeni UV svjetlom prouzročivši fluorescenciju DAPI boje koja je emitirala plavu boju te omogućila vizualizaciju i brojanje heterotrofnih prokariota i heterotrofnih nanoflagelata. Za brojanje cijanobakterija korištena je ekscitacija zelenim svjetlom koja je prouzročila njihovu autofluorescenciju crveno – narančaste boje i vizualizaciju stanica.

3.5. Statistička analiza podataka

Za usporedbu između postaja, napravljena je statistička analiza okolišnih podataka u programu PRIMER 6.0 (PRIMER-e). Za određivanje hidroloških parametara (temperatura, salinitet, pH i zasićenje O₂) tijekom mjeseci u kojima su se odvijala uzorkovanja koristio sam PCA (engl. *Principal Component Analysis*) analizu. PCA analiza omogućuje prikaz sezonskih promjena parametara koji imaju različite mjerne jedinice (temperatura, salinitet, pH, zasićenje O₂). Tijekom provođenja PCA analize i prije izrade samog PCA grafa, podatke sam normalizirao, kako bi se smanjile razlike između korištenih varijabli i omogućila adekvatna statistička analiza.

Također je korištena i nMDS (engl. *Non-metric Multi-Dimensional Scaling*) analiza za određivanje grupiranja između postaja, prema poziciji uzorkovanja (močvara, morski kanal i obala), ovisno o prisutnosti fekalnih bakterija te nMDS za određivanje grupacija između postaja prema poziciji uzorkovanja, ovisno o prisutnosti autohtone mikrobne zajednice (heterotrofni prokarioti, heterotrofni nanoflagelati i cijanobakterije). Prije provođenja nMDS analize, podaci o koncentracijama fekalnih bakterija i autohtone mikrobne zajednice su transformirani pomoću logaritamske funkcije [$\log(x+1)$], kako bi se dobila normalna raspodjela. Napravljena je Bray – Curtis-ova matrica sličnosti te je nakon toga provedena nMDS analiza. nMDS analiza je kao i PCA analiza napravljena u programu PRIMER 6.0 (PRIMER-e) (Clarke i Gorley 2006).

4. Rezultati

4.1. Temperatura

Temperatura unutar močvare za vrijeme prvog ljetnog uzorkovanja (slika 9A) je u prosjeku iznosila $27,56 \pm 1,23$ °C. Najviša zabilježena temperatura (28.7 °C) je izmjerena na postaji P₄, koja se nalazi u središnjem dijelu močvare, dok je najniža zabilježena temperatura (26,01 °C) bila izmjerena na postaji P₆, koja se nalazi na sjeverozapadnom dijelu močvare. Temperatura u kanalu koji povezuje močvaru s morem je bila nešto niža, nego li temperatura vode u močvari te je maksimalna temperatura bila izmjerena na postaji P₈ (26,23 °C), a minimalna temperatura je iznosila 26,09 °C na postaji P₇. Na postaji P₉, koja se nalazi na morskoj obali te koja je služila kao kontrolna točka za morski akvatorij pored Paluda, izmjerena je temperatura od 26,33 °C.

Za vrijeme drugog ljetnog uzorkovanja (slika 9B), prosjek temperatura je iznosio $26,81 \pm 0,62$ °C. Najviša zabilježena temperatura unutar močvare bila je na postaji P₁, koja se nalazi na početku kanala te je iznosila 27,75 °C. Najniža izmjerena temperatura bila je na postaji P₆ te je iznosila 25,96 °C. Temperatura vode u morskome kanalu se je snizila u odnosu na postaju P₁ te je temperatura iznosila 27,5 °C na postaji P₇ i 27,1 °C na postaji P₈, dok je na kontrolnoj postaji P₉ je zabilježena temperatura niža, nego li je zabilježena na postaji P₈.

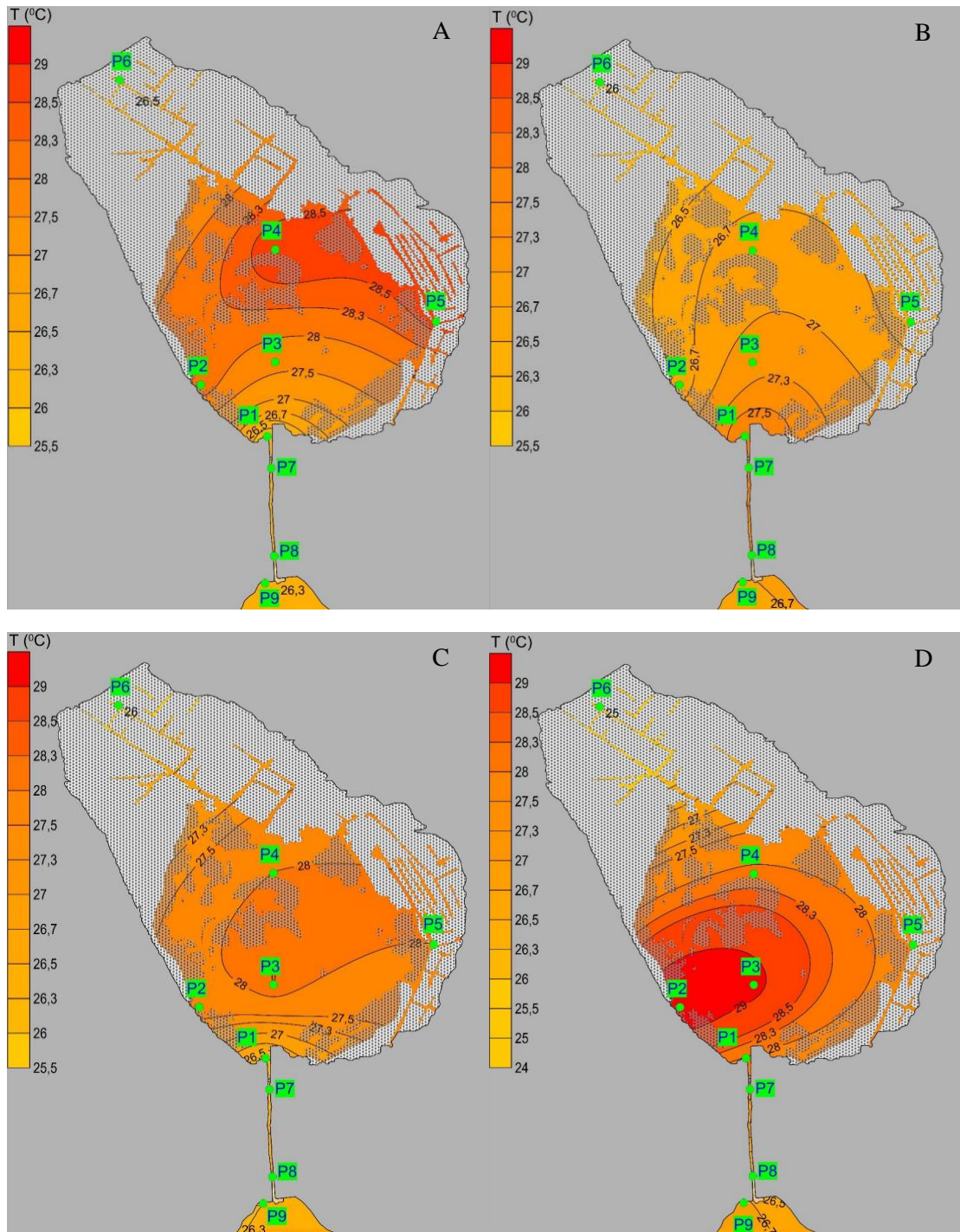
Tijekom trećeg ljetnog uzorkovanja (slika 9C), prosječna temperatura je iznosila $27,35 \pm 1,05$ °C. U močvari, najviša izmjerena temperatura je bila na postaji P₃ (28,31 °C) u središnjem dijelu močvare, dok je najniža izmjerena temperatura bila na postaji P₆ (25,8 °C). Temperatura vode u morskome kanalu je bila niža, nego temperatura vode u močvari te je iznosila 26,15 °C na postaji P₇ i 26,43 °C na postaji P₈.

Temperatura močvare tijekom četvrtog ljetnog uzorkovanja (slika 9D) u prosjeku je iznosila $27,81 \pm 1,85$ °C. Najviša izmjerena temperatura je bila na postaji P₂, u jugozapadnom dijelu močvare te je iznosila 29,48 °C. Najniža zabilježena temperatura tijekom ovog uzorkovanja je izmjerena na postaji P₆ te je iznosila 24,29 °C. Temperatura vode izmjerena na postajama u morskome kanalu je iznosila $26,53 \pm 0,83$ °C, s povećanjem u smjeru močvare.

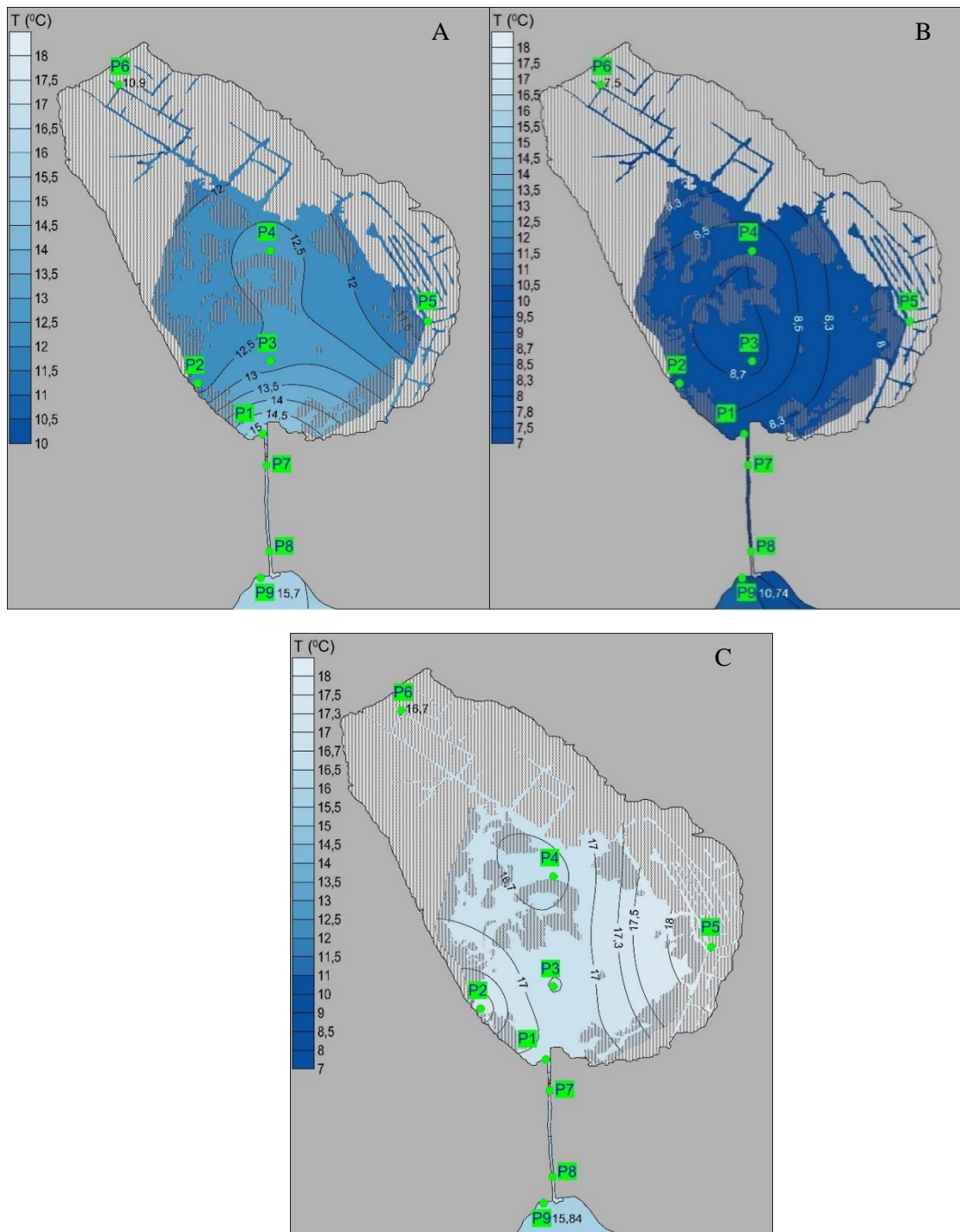
Za vrijeme jesenskog uzorkovanja (slika 10A), prosječna temperatura u močvari je bila $12,44 \pm 1,65$ °C. Postaja na kojoj su izmjerene najviše vrijednosti (15,48 °C) unutar močvare je P₁, dok je najniža temperatura izmjerena na postaji P₆ (10,9 °C). U morskome kanalu, temperatura vode je rasla u smjeru mora te je na postaji P₈ temperatura bila 15,68 °C, dok je na postaji P₇ iznosila 15,59 °C. Na postaji P₉ je tijekom ovoga uzorkovanja zabilježena najviša temperatura (15,72 °C).

Temperatura vode tijekom zimskog uzorkovanja (slika 10B) imala je prosječnu vrijednost od $8,3 \pm 0,54$ °C. Najviša temperatura je bila na postaji P₃ te je iznosila 8,81 °C, dok je najniža izmjerena na postaji P₆ (7,5 °C). U morskome kanalu, temperatura se je kretala oko $8,28 \pm 0,4$ °C, uz povećanje temperature približavanjem moru.

Za vrijeme proljetnog uzorkovanja (slika 10C), temperatura vode unutar močvare se je kretala oko $17,2 \pm 0,84$ °C. Najviša je temperatura izmjerena na postaji P₅ na istočnom dijelu močvare, a iznosila je 18,68 °C. Najniža temperatura u močvari je izmjerena na postaji P₄. Temperatura vode u morskome kanalu je iznosila $15,99 \pm 0,52$, a temperatura se je blago povećavala približavanjem močvari. Temperatura na kontrolnoj postaji (P₉) iznosila je 15,79 °C.



Slika 9: Prostorna raspodjela temperature na istraživanom području močvare Palud u ljetnom periodu 2021 godine. A) 25.7.2021.; B) 1.8.2021.; C) 8.8.2021.; D) 15.8.2021.



Slika 10: Prostorna raspodjela temperature na istraživanom području močvare Palud. A) jesen 27.11.2021.; B) zima 26.2.2022.; C) proljeće 7.5.2022.

4.2. Salinitet

Salinitet u močvari je tijekom prvog ljetnog uzorkovanja (slika 11A) u prosjeku iznosio $43,91 \pm 5,17$ PSU. Najviši salinitet ($49,55$ PSU) u močvari je izmjeren na postaji P₂, na jugozapadnome dijelu močvare, dok se je salinitet počeo smanjivati prema središnjem i južnome dijelu močvare. Tako je na južnom dijelu močvare, na postaji P₁ izmjereni salinitet od $34,8$ PSU. U morskome kanalu je trend opadanja saliniteta bio također uočljiv te je varirao oko $33,82 \pm 0,05$ PSU. Salinitet morske vode, na postaji P₉, imao je slične vrijednosti kao i voda u morskome kanalu te je iznosio $35,0$ PSU.

Za vrijeme drugog ljetnog uzorkovanja (slika 11B), prosjek saliniteta u močvari je bio $47,22 \pm 3,29$ PSU. Najviši izmjereni salinitet je bio na postaji P₂ te je iznosio $52,00$ PSU, a najniži salinitet ($43,0$ PSU) je izmjeren na postaji P₆, na sjeverozapadnome dijelu močvare. U morskome kanalu, salinitet je imao slične vrijednosti kao i salinitet u većemu dijelu močvare te je iznosio $45,6$ PSU na obje postaje. Salinitet morske vode, izmjeren na postaji P₉, tijekom drugog uzorkovanja bio je znatno niži, nego li salinitet vode u morskome kanalu i u močvari te je iznosio $35,3$ PSU.

Tijekom trećeg ljetnog uzorkovanja (slika 11C), salinitet u močvari u prosjeku je iznosio $44,64 \pm 3,34$ PSU. Najviši salinitet tijekom ovog uzorkovanja je izmjeren na postaji P₅ na istočnome dijelu močvare te je iznosio $49,77$ PSU. Salinitet se je u močvari počeo smanjivati približavanjem morskome kanalu te je najniži salinitet ($40,48$ PSU) u močvari izmjeren na postaji P₁. U morskome kanalu, salinitet se je kretao $35,87 \pm 0,47$ PSU, uz njegovo povećanje u smjeru močvare. Salinitet morske vode je na postaji P₉ imao sličnu vrijednost ($35,4$ PSU) kao i salinitet vode u morskome kanalu.

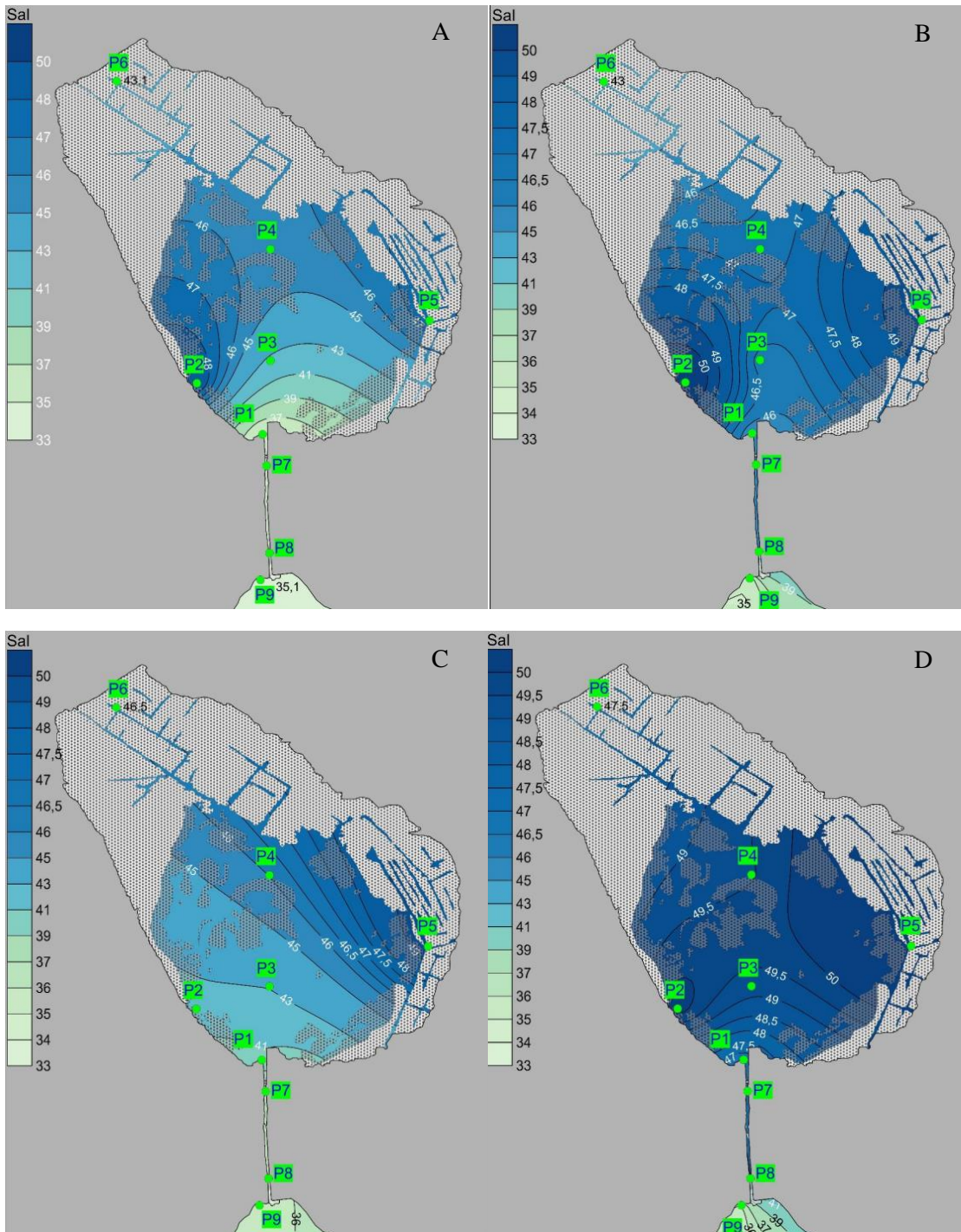
U močvari tijekom četvrtog ljetnog uzorkovanja (slika 11D), prosječne vrijednosti saliniteta su bile $49,08 \pm 1,92$ PSU. Najviši izmjereni salinitet bio je na postaji P₅ te je iznosio $51,72$ PSU, dok se je salinitet smanjivao prema morskome kanalu te je na postaji P₁ iznosio $46,63$ PSU. U morskome kanalu su vrijednosti saliniteta bile slične kao i na postaji P₁ te su iznosile $46,73$ PSU na postaji P₇ i $46,68$ PSU na postaji P₈. Salinitet je na postaji P₉ bio značajno manji, nego li u morskome kanalu ili močvari te je iznosio svega $35,73$.

Tijekom jesenskog uzorkovanja (slika 12A), prosječan salinitet u močvari je iznosio $35,13 \pm 2,54$ PSU. Najviši salinitet bio je zabilježen na postaji P₁ ($37,63$ PSU), dok je najniži izmjereni salinitet bio na postaji P₆ te je iznosio svega $30,66$ PSU. U morskome kanalu salinitet je bio konstantan te je iznosio $37,65$ PSU, dok je u moru imao sličnu vrijednost kao i u kanalu te je iznosio $37,61$ PSU.

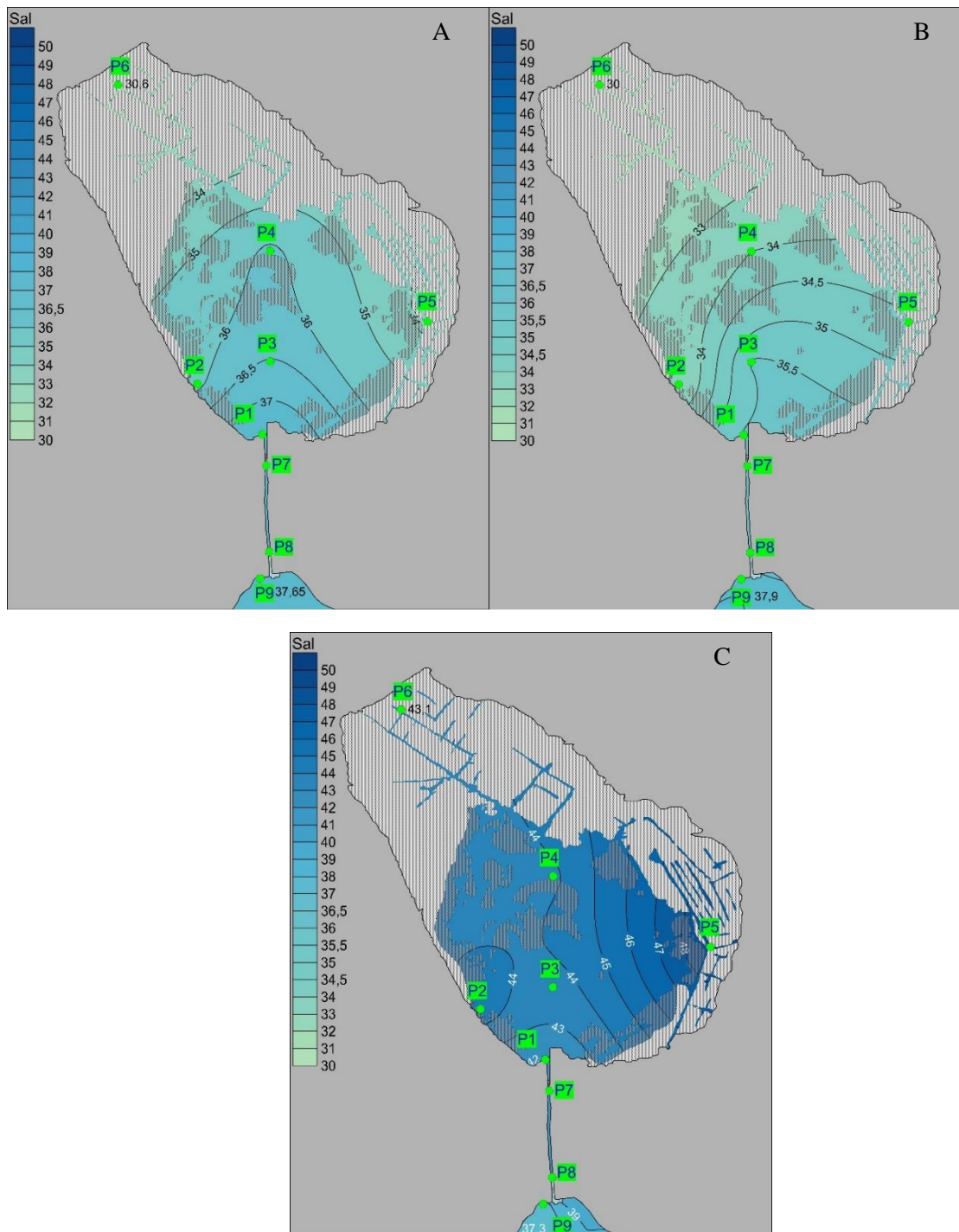
Za vrijeme zimskog uzorkovanja (slika 12B), vrijednost prosječnog saliniteta u močvari je bila $34,1 \pm 2,17$ PSU. Najviši izmjereni salinitet u močvari je bio na postaji P₄ u središnjem dijelu močvare te je iznosio $35,59$. Najniži izmjereni salinitet u močvari je bio na postaji P₆ te je iznosio $30,07$ PSU. U morskome kanalu, salinitet se je kretao oko $35,63 \pm 0,09$ PSU, uz povećanje vrijednosti u smjeru mora. Salinitet na postaji P₉ iznosio je $37,89$ PSU.

Salinitet tijekom proljetnog uzorkovanja (slika 12C), u močvari je iznosio $44,35 \pm 2,53$ PSU. Najviša izmjerena vrijednost saliniteta je bila na postaji P₅ te je iznosio $49,14$ PSU, dok

je najniža izmjerena vrijednost saliniteta (41,84 PSU) bila na postaji P₁. Salinitet u morskome kanalu se je kretao oko $41,55 \pm 0,07$ PSU, uz smanjenje vrijednosti prema moru. Vrijednost saliniteta je na postaji P₉ bila je manja, nego li u kanalu te je iznosila 37,32 PSU.



Slika 11: Prostorna raspodjela saliniteta na istraživanom području močvare Palud u ljetnom periodu 2021 godine. A) 25.7.2021.; B) 1.8.2021.; C) 8.8.2021.; D) 15.8.2021.



Slika 12: Prostorna raspodjela saliniteta na istraživanom području močvare Palud. A) jesen 27.11.2021.; B) zima 26.2.2022.; C) proljeće 7.5.2022.

4.3. pH vrijednost

pH vrijednost tijekom prvog ljetnog uzorkovanja (slika 13A) u močvari je bila u prosjeku $8,02 \pm 0,33$. Najviši pH izmjeren je na postaji P₂, na jugozapadnome dijelu močvare te je iznosio 8,64, dok je najniži pH izmjeren na postaji P₅, na istočnome dijelu močvare, a iznosio je 7,76. U morskome kanalu pH vrijednost je bila konstantna, uz blagi pad od 0,01 u smjeru mora. Na morskoj postaji P₉, pH vrijednost je iznosila 8,24.

Tijekom drugog ljetnog uzorkovanja (slika 13B) prosjek pH vrijednosti u močvari je bio $7,91 \pm 0,21$. Najviši izmjereni pH u močvari je iznosio 8,34 (postaja P₂), a najniži izmjereni pH u močvari je izmjeren na postaji P₆ te je iznosio 7,76. pH vrijednost u morskome kanalu je bila ujednačena te je iznosila 7,8 na obje postaje, dok je pH vrijednost morske vode iznosila 8,23.

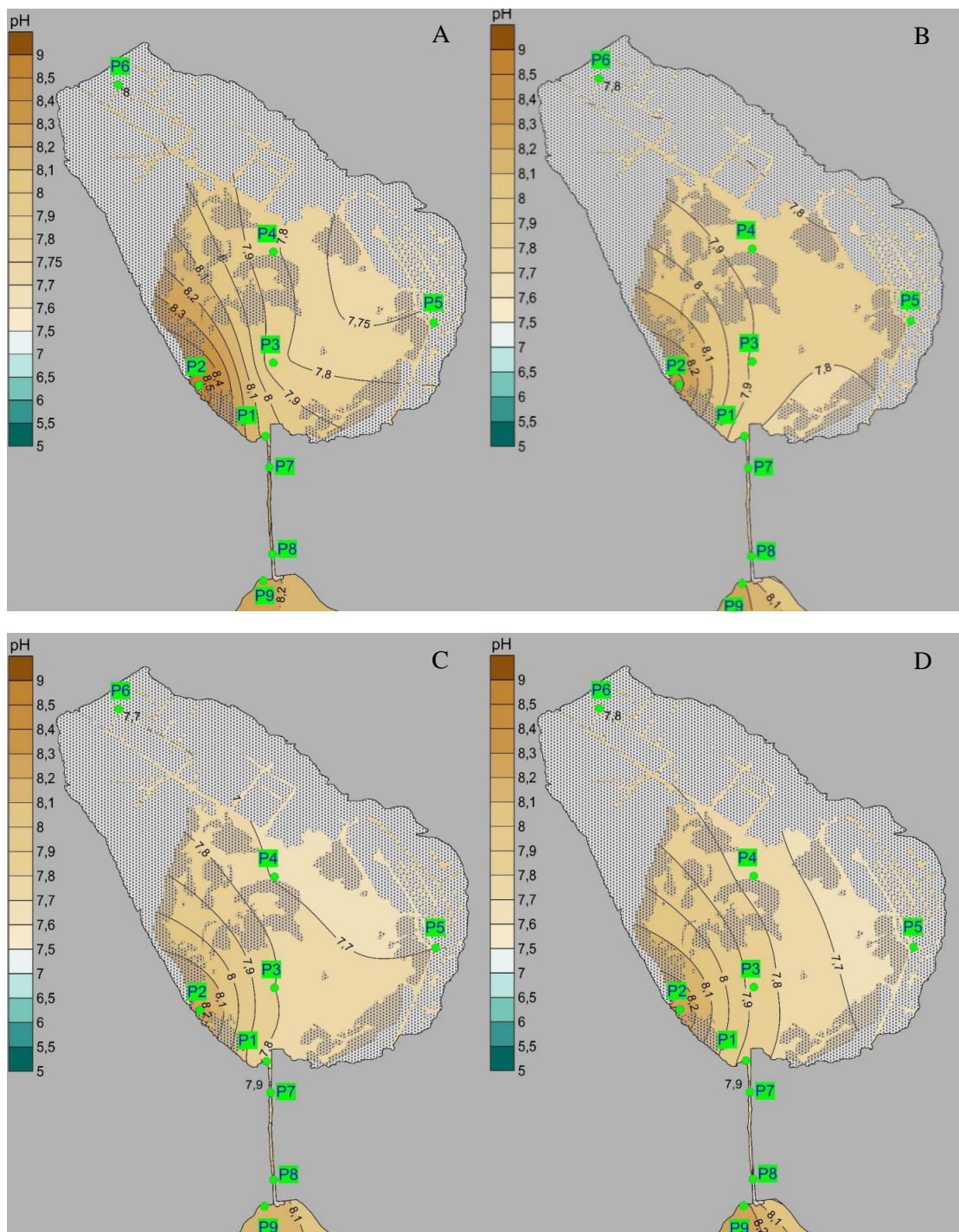
Tijekom trećeg ljetnog uzorkovanja (slika 13C), prosjek pH vrijednosti močvare bio je $7,82 \pm 0,23$. Najviši pH je izmjeren na postaji P₂ te je iznosio 8,28. Najniži pH je tijekom ljetnog uzorkovanja zabilježen na postaji P₄ u središnjem dijelu močvare i na postaji P₆ na sjeverozapadnome dijelu močvare te je iznosio 7,69 na obje postaje. pH vrijednost morskoga kanala se je kretala oko $8,02 \pm 0,11$, s povećanjem vrijednosti prema moru, gdje je pH iznosio 8,15.

Na četvrtom ljetnom uzorkovanju (slika 13D), pH vrijednost u močvari u prosjeku je iznosila $7,87 \pm 0,23$. Najviša pH vrijednost je izmjerena na postaji P₂ (8,31), dok je najniža pH vrijednost izmjerena na postaji P₅ (7,64). pH vrijednost morskoga kanala je bila slična te je iznosila 7,82 na postaji P₇ i 7,79 na postaji P₈. U odnosu na vrijednost pH močvare, pH vrijednost izmjerena na postaji P₉ je bila znatno veća te je iznosila 8,27.

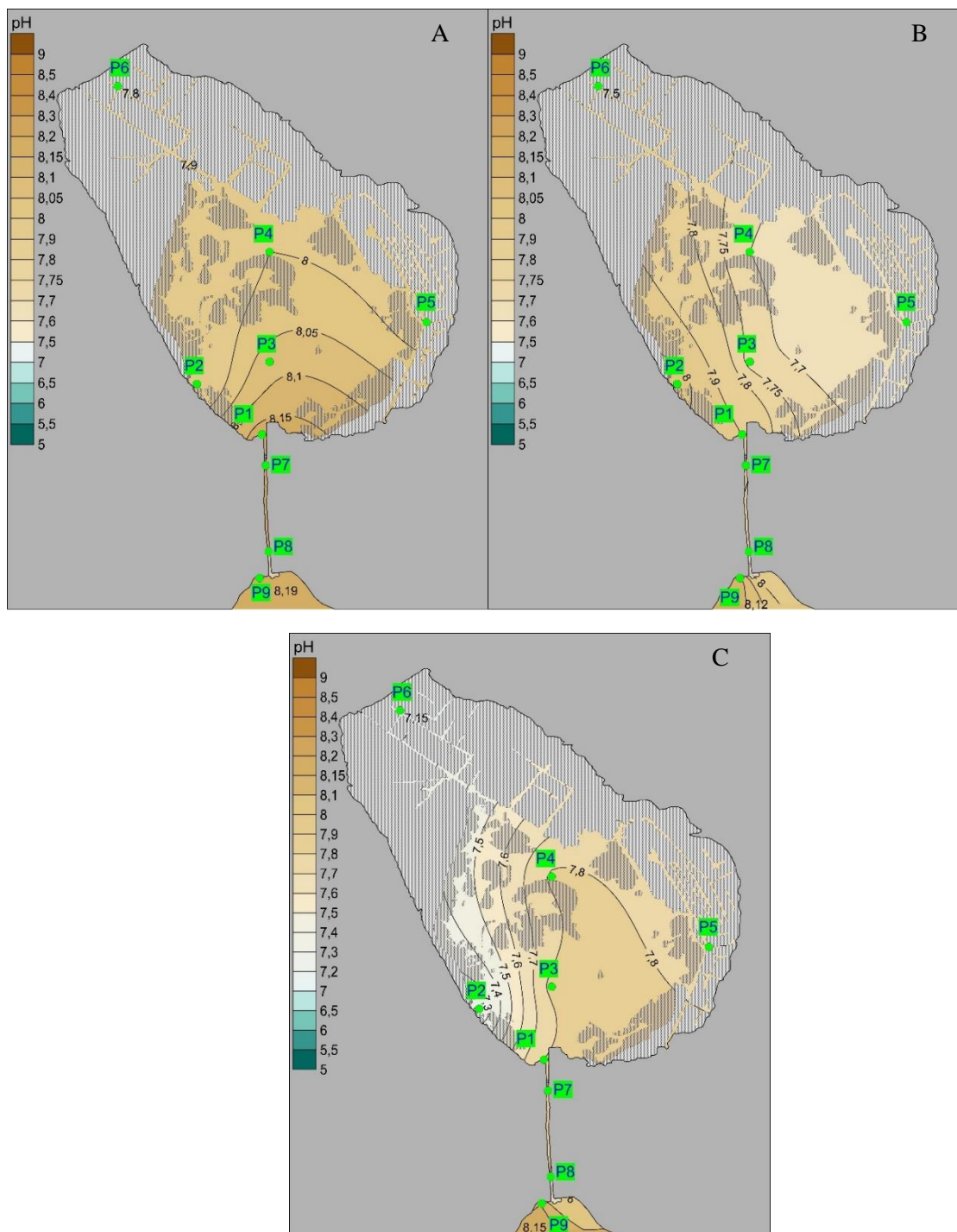
Za vrijeme jesenskog uzorkovanja (slika 14A), pH vrijednost močvare je iznosila $8,01 \pm 0,12$. Najviša izmjerena pH vrijednost (8,18) je bila na postaji P₁, dok je najniža vrijednost pH (7,84) izmjerena na postaji P₆. pH vrijednost morskoga kanala bila je ujednačena te je bila slična pH vrijednosti s postaje P₁ i pH vrijednosti s morske postaje P₉ (8,2).

Prosječna pH vrijednost za vrijeme zimskog uzorkovanja (slika 14B) je bila $7,82 \pm 0,15$. Najviša izmjerena pH vrijednost (8,05) bila je na postaji P₂, dok je najniža pH vrijednost (7,64) izmjerena na postaji P₅. U morskome kanalu pH vrijednost je iznosila 7,81 na postaji P₇ i 7,75 na postaji P₈. Vrijednost pH izmjerena na morskoj postaji P₉ bila je veća od srednje pH vrijednosti izmjerene u močvari te je iznosila 8,12.

Za vrijeme proljetnog uzorkovanja (slika 14C), prosječna pH vrijednost u močvari je iznosila $7,58 \pm 0,32$. Najviši izmjereni pH je izmjeren na postaji P₃, u središnjem dijelu močvare te je iznosio 7,84, dok je najniži pH (7,15) izmjeren na postaji P₆. U morskome kanalu, pH vrijednost je iznosila $7,83 \pm 0,05$ s trendom povećanja vrijednosti u smjeru močvare. pH vrijednost izmjerena na postaji P₉ imala je veću vrijednost, nego srednje pH vrijednosti močvare i morskoga kanala te je jedino na ovoj postaji izmjerena pH vrijednost iznosila iznad 8.



Slika 13: Prostorna raspodjela pH vrijednosti na istraživanom području močvare Palud u ljetnom periodu 2021. godine. A) 25.7.2021.; B) 1.8.2021.; C) 8.8.2021.; D) 15.8.2021.



Slika 14: Prostorna raspodjela pH vrijednosti na istraživanom području močvare Palud. A) jesen 27.11.2021.; B) zima 26.2.2022.; C) proljeće 7.5.2022.

4.4. Zasićenje kisikom (O₂)

Tijekom prvog ljetnog uzorkovanja (slika 15A), zasićenje kisikom je u močvari iznosilo u prosjeku $51,08 \pm 19,94\%$. Najviše izmjereno zasićenje izmjereno je na južnome dijelu močvare, na postaji P₁ te je iznosila 70,2%, dok je najniže zasićenje izmjereno na istočnome dijelu močvare, na postaji P₅, gdje su tijekom vršenja uzorkovanja uočeni hipoksični uvjeti (15,1%). Zasićenje O₂ u morskome kanalu je bilo više od srednje vrijednosti zasićenja u močvari te je iznosilo $76,6 \pm 6,08\%$, uz povećanje zasićenja O₂ prema moru. Na postaji P₉, izmjereno zasićenje kisikom iznosilo je 89%

Za vrijeme drugog ljetnog uzorkovanja (slika 15B), zasićenje O₂ u močvari se je iznosilo $28,11 \pm 17,43\%$. Najviše zasićenje je izmjereno u središnjem dijelu močvare, na postaji P₄ (50,1%). Na postaji P₆ uočeni su hipoksični uvjeti te je zasićenje kisikom iznosilo svega 8,1%. U morskome kanalu je zasićenje O₂ ponovo bilo više od srednje vrijednosti u močvari te je iznosilo $32,95 \pm 3,32\%$. Na postaji P₉, zasićenje O₂ je bilo značajno više od zasićenja izmjerenih u močvari i morskome kanalu te je iznosilo 82,7%.

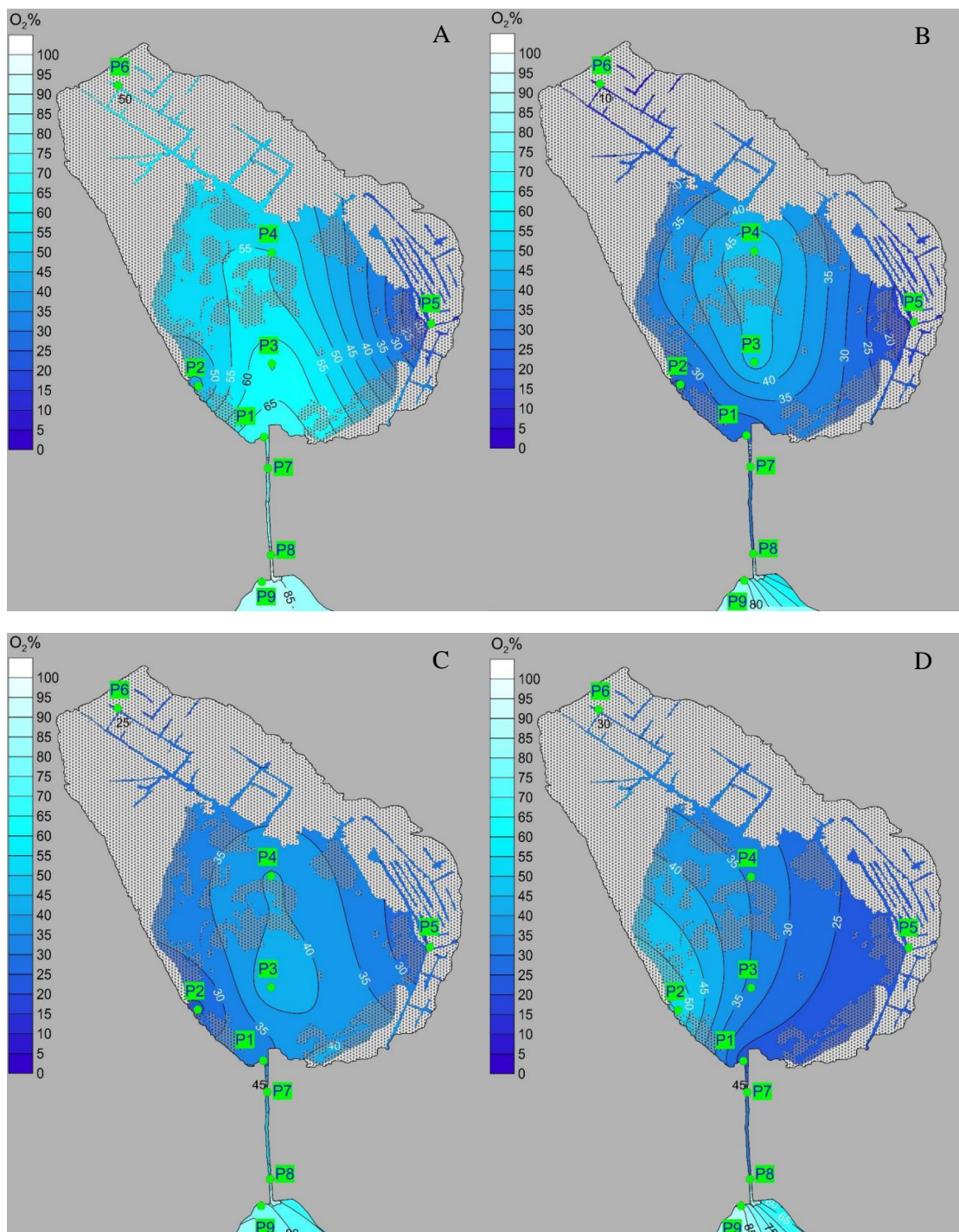
Tijekom trećeg ljetnog uzorkovanja (slika 15C), zasićenje O₂ je iznosilo $31,3 \pm 9,59\%$. Najviše zabilježeno zasićenje O₂ je izmjereno na postaji P₃ u središnjem dijelu močvare. Najniže zasićenje O₂ je iznosilo 22,5% (P₆). Kroz morski kanal, sve do mora, zasićenje O₂ se povećavalo. Tako je u morskome kanalu zasićenje O₂ iznosilo $52,25 \pm 5,59\%$, dok se je u moru zasićenje O₂ značajno povećalo te je iznosilo 79,3%.

Zasićenje O₂ je u močvari tijekom četvrtog ljetnog uzorkovanja (slika 15D) iznosilo $32,27 \pm 12,57\%$. Najviše zasićenje O₂ je izmjereno na jugozapadnom dijelu močvare, na postaji P₂ (55,01%). Najniže izmjereno zasićenje O₂ je izmjereno na postaji P₅ te je iznosilo 20,4%. U morskome kanalu zasićenje O₂ je iznosilo $32,5 \pm 1,7\%$ uz povećavanje zasićenja u smjeru mora. Na morskoj postaji P₉ je zasićenje O₂ iznosilo 87,2%.

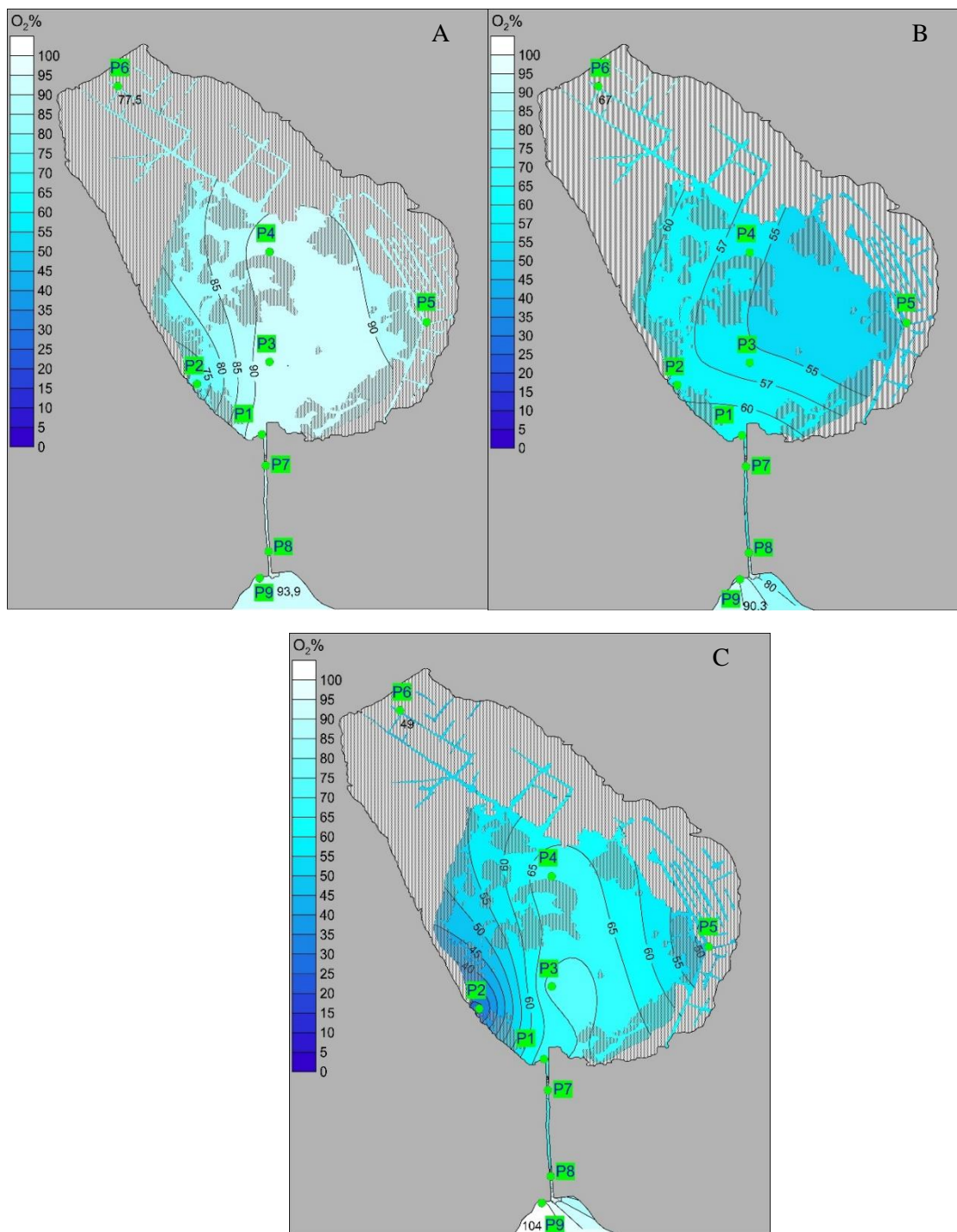
Tijekom jesenskog uzorkovanja (slika 16A), zasićenje O₂ je u močvari iznosilo $85,78 \pm 10,34\%$. Najviše zabilježeno zasićenje O₂ je izmjereno na postaji P₃ s 94,7%. Najniže izmjereno zasićenje O₂ je iznosilo 69,8% na postaji P₂. U morskome kanalu, zasićenje O₂ je bilo ujednačeno, uz povećanje u smjeru mora, koje je imalo sličan postotak zasićenja O₂ kao i kanal.

Za vrijeme zimskog uzorkovanja (slika 16B), u močvari je zasićenje O₂ iznosilo oko $58,22 \pm 6,34\%$. Najviše zasićenje O₂ (67%) izmjereno je na postaji P₆, dok je najniže zasićenje u močvari (49,8%) izmjereno na postaji P₅. Zasićenje O₂ u morskome kanalu bilo je iznad 60% te je time bilo više od srednje vrijednosti zasićenja O₂ u močvari, dok je zasićenje O₂ u moru bilo oko 90%.

Zasićenje O₂ tijekom proljetnog uzorkovanja (slika 16C) u močvari je iznosilo $55,73 \pm 17,63\%$. Najviši postotak zasićenja O₂ (73,5%) je izmjeren na postaji P₃, dok je najniže zasićenje (27,6%) izmjereno je na postaji P₂. U morskome kanalu, zasićenje O₂ je iznosilo $67,5 \pm 4,95\%$, uz porast zasićenja O₂ u smjeru močvare. Na morskoj postaji P₉, zabilježeno je značajno veće zasićenje O₂, nego u močvari i kanalu s postotkom zasićenja od 104,0%.



Slika 15: Prostorna raspodjela zasićenja kisikom ($O_2\%$) na istraživanom području močvare Palud u ljetnom periodu 2021. godine. A) 25.7.2021.; B) 1.8.2021.; C) 8.8.2021.; D) 15.8.2021.



Slika 16: Prostorna raspodjela zasićenja kisikom ($O_2\%$) na istraživanom području močvare Palud. A) jesen 27.11.2021.; B) zima 26.2.2022.; C) proljeće 7.5.2022.

4.5. Koncentracija bakterije *Escherichia coli*

Tijekom prvog ljetnog uzorkovanja (slika 17A), koncentracija bakterije *Escherichia coli* je bila vrlo niska na području cijele močvare (u prosjeku 13 ± 5 CFU/100 ml). Najviša zabilježena koncentracija *E. coli* (20 CFU/100 ml) bila je na postaji P₁, na južnome dijelu močvare. Najniža koncentracija *E. coli*, zabilježena je na istočnome dijelu močvare, na postaji P₅ te je iznosila 7 CFU/100 ml. U morskome kanalu se je koncentracija *E. coli* smanjila na 2 CFU/100 ml (P₇), dok na postaji P₈ i morskoj postaji P₉ nije zabilježena niti jedna izrasla kolonija *E. coli* na 100 ml.

Koncentracija *E. coli* je tijekom drugog ljetnog uzorkovanja (slika 17B) iznosila 13 ± 19 CFU/100 ml. U močvari je najviša koncentracija (52 CFU/100 ml) zabilježena u središnjem dijelu močvare na postaji P₃. Najniža koncentracija unutar močvare je zabilježena na postaji P₂ (0 CFU/100 ml). U morskome kanalu zabilježena je koncentracija *E. coli* oko 10 ± 3 CFU/100 ml, sa smanjenjem koncentracije u smjeru mora.

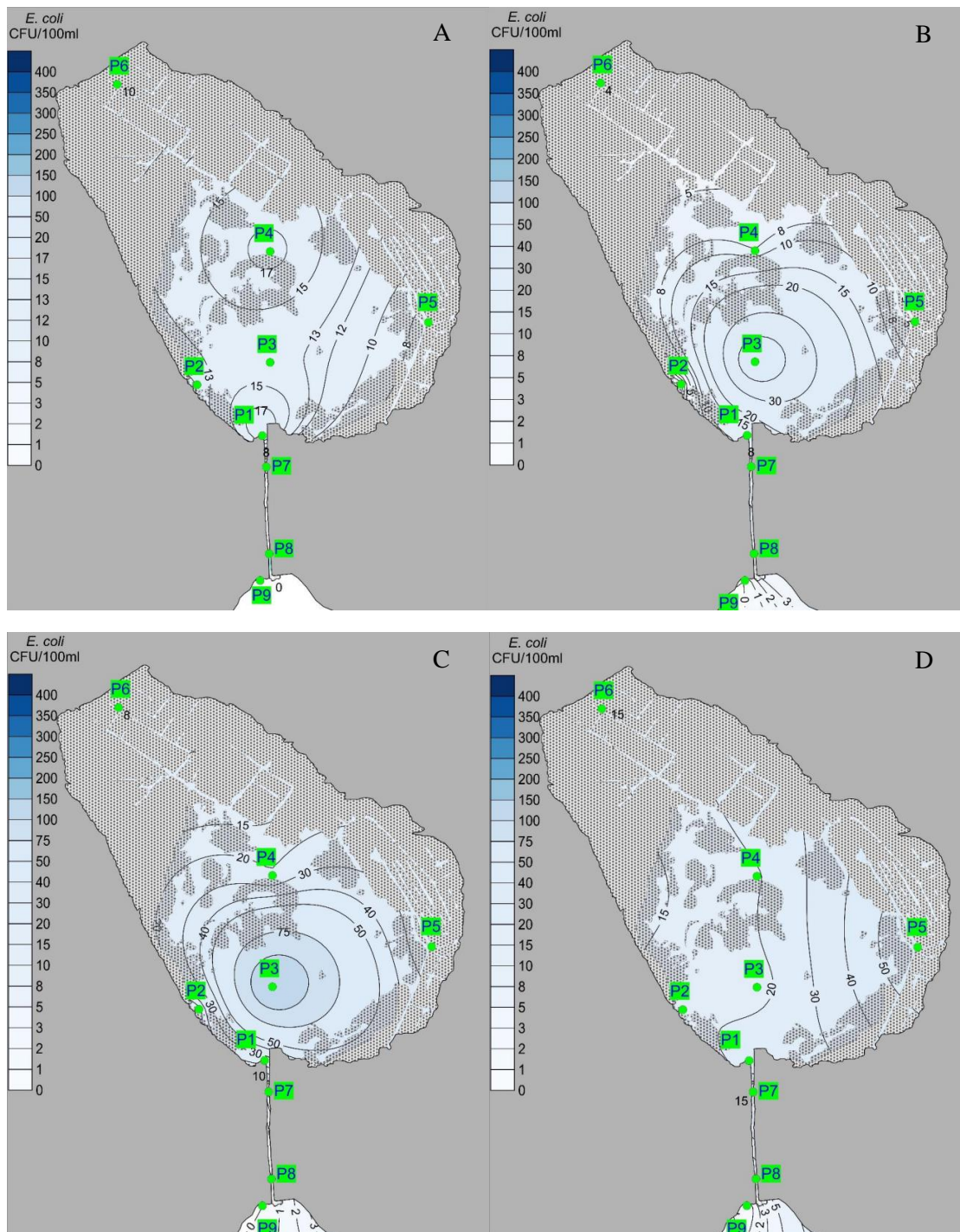
Za vrijeme trećeg ljetnog uzorkovanja (slika 17C), koncentracija *E. coli* je iznosila 37 ± 49 CFU/100 ml. Najviša koncentracija zabilježena je na postaji P₃ te je iznosila 138 CFU/100 ml, dok je najniža koncentracija (8 CFU/100 ml) zabilježena na sjeverozapadnome dijelu močvare, na postaji P₆. U morskome kanalu na postaji P₇ zabilježeno je 2 CFU/100 ml *E. coli*, dok je na postaji P₈ i P₉ zabilježeno 0 CFU/100 ml.

Tijekom četvrtog ljetnog uzorkovanja (slika 17D), koncentracija *E. coli* u močvari se je kretala oko 26 ± 17 CFU/100 ml. 62 CFU/100 ml *E. coli* je zabilježeno na postaji P₅, dok je najniža zabilježena koncentracija (15 CFU/100 ml) bila na postaji P₆. U morskome kanalu se je koncentracija *E. coli* kretala oko 10 ± 5 CFU/100 ml, sa smanjenjem koncentracije u smjeru mora.

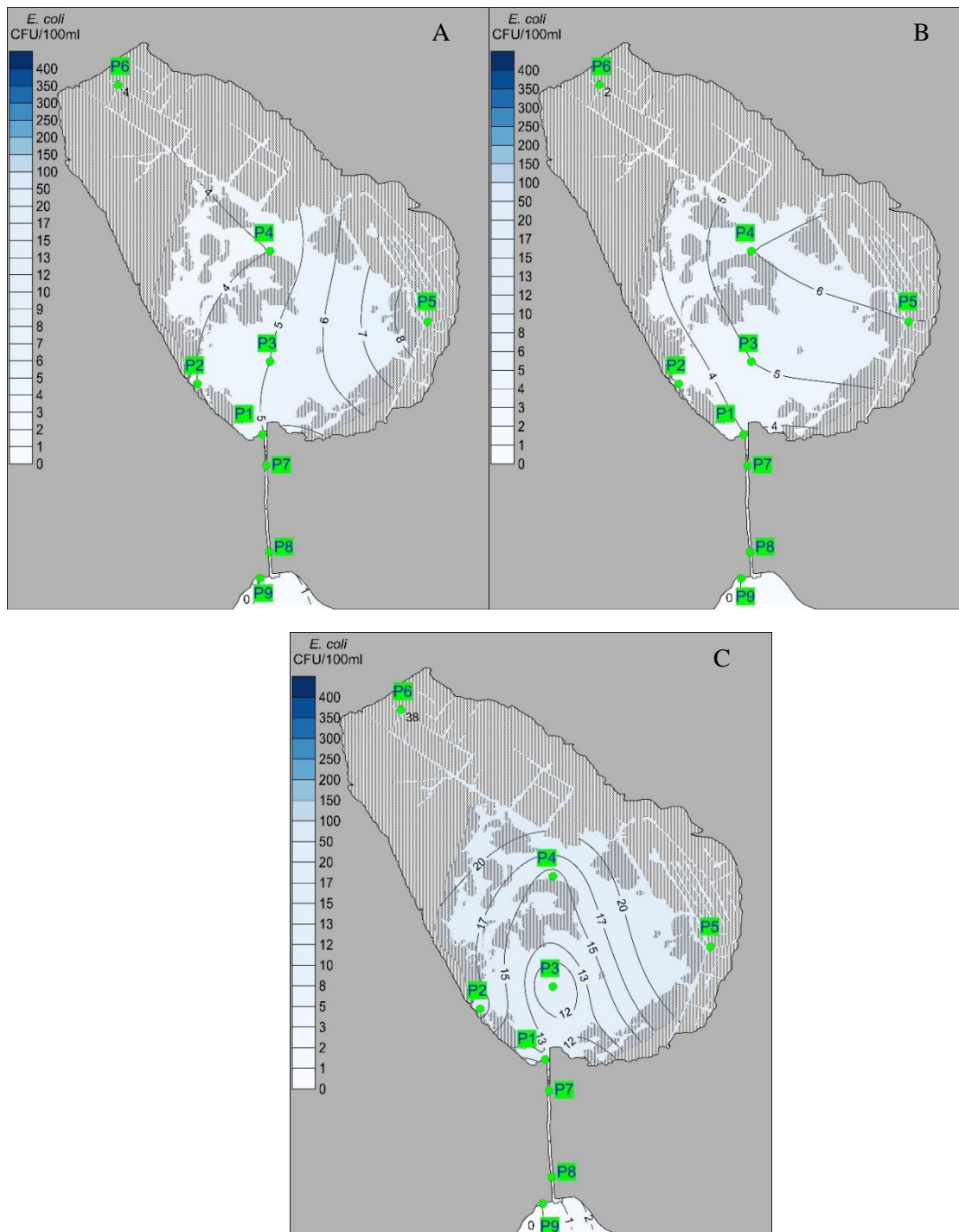
Koncentracija *E. coli* u močvari je tijekom jesenskog uzorkovanja (slika 18A) iznosila oko 7 ± 1 CFU/100 ml. Najviša koncentracija *E. coli* zabilježena na postaji P₅ te je iznosila 11 CFU/100 ml, dok je najniža koncentracija (6 CFU/100 ml) zabilježena na postajama P₂ i P₄. U morskome kanalu, na postaji P₇ zabilježena je koncentracija *E. coli* od 6 CFU/100 ml, dok je na postaji P₈ zabilježena koncentracija od 2 CFU/100 ml i 0 CFU/100 ml na P₉.

Tijekom zimskog uzorkovanja (slika 18B), zabilježena je koncentracija *E. coli* u močvari oko 4 ± 1 CFU/100 ml. Najviša koncentracija *E. coli* (6 CFU/100 ml) je zabilježena na postajama P₄ i P₅. Najniža zabilježena koncentracija *E. coli* je zabilježena na postaji P₆ (2 CFU/100 ml). Na postaji P₇ (morski kanali) zabilježena je koncentracija *E. coli* od 2 CFU/100 ml, dok na postaji P₈ nije zabilježena niti jedna izrasla kolonija na 100 ml. U moru (P₉) nije zabilježena prisutnost *E. coli*.

Za vrijeme proljetnog uzorkovanja (slika 18C) u močvari je zabilježena koncentracija *E. coli* oko 20 ± 11 CFU/100 ml. Najviša koncentracija (38 CFU/100 ml) zabilježena je na postaji P₆, dok je najniža koncentracija (10 CFU/100 ml) zabilježena na postaji P₃. Koncentracija *E. coli* u morskome kanalu je bila značajno niža od one u močvari te se je kretala oko 3 ± 1 CFU/100 ml, sa smanjenjem koncentracije u smjeru mora. Na postaji P₉ nije zabilježena prisutnost *E. coli*.



Slika 17: Prostorna raspodjela koncentracije bakterije *Escherichia coli* (CFU/100 ml) na istraživanom području močvare Palud u ljetnom periodu 2021. godine. A) 25.7.2021.; B) 1.8.2021.; C) 8.8.2021.; D) 15.8.2021.



Slika 18: Prostorna raspodjela koncentracije bakterije *Escherichia coli* (CFU/100 ml) na istraživanom području močvare Palud. A) jesen 27.11.2021.; B) zima 26.2.2022.; C) proljeće 7.5.2022.

4.6. Koncentracija fekalnih streptokoka (FS)

Tijekom prvog ljetnog uzorkovanja (slika 19A), prosječna koncentracija FS je u močvari bila 28 ± 7 CFU/100 ml. Najviša zabilježena koncentracija od 35 CFU/100 ml, zabilježena je na istočnome dijelu močvare, na postaji P₅. S druge strane, najniža koncentracija (16 CFU/100 ml) je zabilježena je u središnjem dijelu močvare, na postaji P₃. Koncentracija FS je u morskome kanalu bila značajno niža od koncentracije FS u močvari te je zabilježena koncentracija od 2 CFU/100 ml (P₇) i 1 CFU/100 ml (P₈). U morskoj vodi (P₉), zabilježena je koncentracija od 1 CFU/100 ml.

Za vrijeme drugog ljetnog uzorkovanja (slika 19B) u močvari se je koncentracija FS iznosila 54 ± 21 CFU/100 ml. U močvari je najviša koncentracija iznosila 80 CFU/100 ml te je zabilježena na postaji P₅, dok je najniža koncentracija iznosila 19 CFU/100 ml, a zabilježena je na sjeverozapadnome dijelu močvare, na postaji P₆. U morskome kanalu, koncentracija FS se je kretala oko 11 ± 1 CFU/100 ml, sa smanjenjem koncentracije u smjeru mora. Na postaji P₉ zabilježena koncentracija FS je iznosila 2 CFU/100 ml.

Koncentracija FS u močvari je tijekom trećeg ljetnog uzorkovanja (slika 19C) iznosila je 37 ± 19 CFU/100 ml. Najviša koncentracija (63 CFU/100 ml) zabilježena je na južnome dijelu močvare, na postaji P₁, dok je najniža koncentracija (13 CFU/100 ml) zabilježena na postaji P₆. U morskome kanalu, koncentracija FS se kretala oko 3 ± 2 CFU/100 ml, sa smanjenjem koncentracije u smjeru mora. Na postaji P₉ nije zabilježena niti jedna izrasla kolonija.

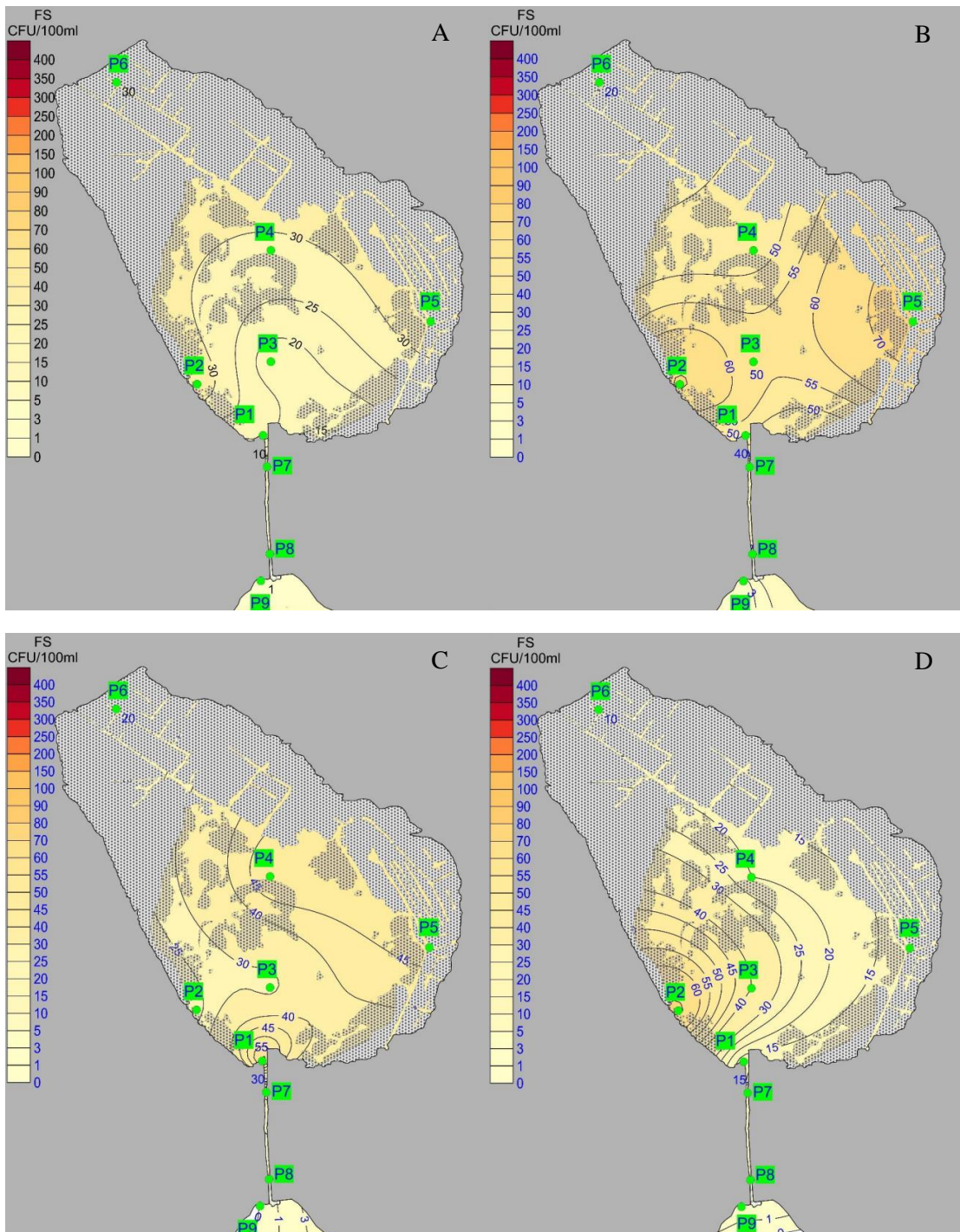
Koncentracija FS u močvari tijekom četvrtog ljetnog uzorkovanja (slika 19D) iznosila je 27 ± 25 CFU/100 ml. 73 CFU/100 ml je najviša zabilježena koncentracija FS te je zabilježena na jugozapadnome dijelu močvare, na postaji P₂. Najniža koncentracija je zabilježena na postaji P₆ te je iznosila 8 CFU/100 ml. Koncentracija FS je u morskome kanalu bila značajno niža, nego koncentracija FS u močvari te je iznosila 8 ± 1 CFU/100 ml, sa smanjenjem koncentracije u smjeru mora. U morskoj vodi je zabilježena koncentracija FS od 2 CFU/100 ml.

Tijekom jesenskog uzorkovanja (slika 20A), koncentracija FS u močvari je iznosila 11 ± 4 CFU/100 ml. Najviša koncentracija (18 CFU/100 ml) je zabilježena na postaji P₅, dok je najniža koncentracija bila zabilježena na postaji P₆ (7 CFU/100 ml). Koncentracija FS se kroz morski kanal postepeno smanjivala približavanjem moru te je tako na postaji P₇ zabilježena koncentracija od 2 CFU/100 ml, na postaji P₈ je zabilježena koncentracija od 1 CFU/100 ml, a na morskoj postaji je zabilježena koncentracija od 0 CFU/100 ml.

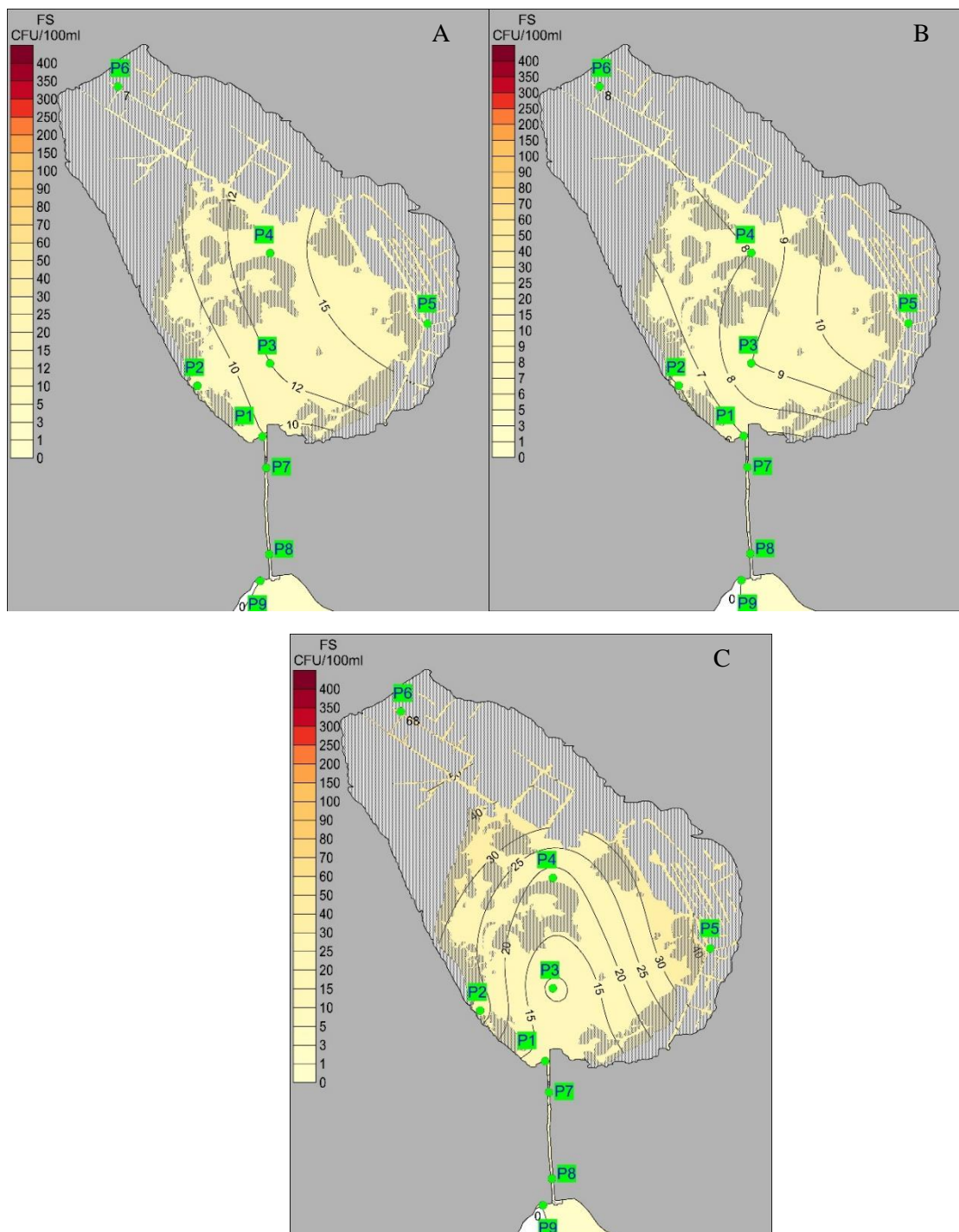
Za vrijeme zimskog uzorkovanja (slika 20B) je u močvari zabilježena koncentracija FS od 8 ± 2 CFU/100 ml. Najveća koncentracija FS je zabilježena na postaji P₅ te je iznosila 12 CFU/100 ml, dok je najniža koncentracija zabilježena na postaji P₂ (6 CFU/100 ml). U morskom kanalu su jedino na postaji P₇ zabilježene izrasle kolonije FS te je koncentracija iznosila 4 CFU/100 ml.

Koncentracija FS tijekom proljetnog uzorkovanja (slika 20C) je u močvari iznosila 29 ± 22 CFU/100 ml. Najviša koncentracija (68 CFU/100 ml) je zabilježena na postaji P₆, dok je najniža koncentracija (8 CFU/100 ml) zabilježena na postaji P₃, u središnjem dijelu močvare.

U morskome kanalu je koncentracija FS iznosila 4 ± 1 CFU/100 ml, sa smanjenjem u smjeru mora, a u moru nije zabilježena niti jedna izrasla kolonija FS.



Slika 19: Prostorna raspodjela koncentracije fekalnih streptokoka (CFU/100 ml) na istraživanom području močvare Palud u ljetnom periodu 2021. godine. A) 25.7.2021.; B) 1.8.2021.; C) 8.8.2021.; D) 15.8.2021.



Slika 20: Prostorna raspodjela koncentracije fekalnih streptokoka (CFU/100 ml) na istraživanom području močvare Palud. A) jesen 27.11.2021.; B) zima 26.2.2022.; C) proljeće 7.5.2022.

4.7. Koncentracija heterotrofnih prokariota (HP)

Tijekom prvog ljetnog uzorkovanja (slika 21A), u močvari prosječna koncentracija HP je bila $3,7 \pm 1,39 \times 10^6$ stanica/ml. Najviša koncentracija je zabilježena na postaji P₅ te je iznosila $5,91 \times 10^6$ stanica/ml, a najniža koncentracija ($2,41 \times 10^6$ stanica/ml) je zabilježena na postaji P₁. Prosječna koncentracija se je kretala oko $1,31 \pm 0,69 \times 10^6$ stanica/ml. Na postaji P₉, koncentracija HP je iznosila $0,54 \times 10^6$ stanica/ml što je za gotovo red veličine manje od koncentracije HP u močvari i kanalu.

Za vrijeme drugog ljetnog uzorkovanja (slika 21B) u močvari koncentracija je bila $7,88 \pm 1,97 \times 10^6$ stanica/ml. Najviša koncentracija ($10,97 \times 10^6$ stanica/ml) je zabilježena na postaji P₅, dok je najniža koncentracija zabilježena na postaji P₁ te je iznosila $5,3 \times 10^6$ stanica/ml. U morskome kanalu se je koncentracija HP kretala oko $4,08 \pm 1,45 \times 10^6$ stanica/ml. Na postaji P₉ je koncentracija HP iznosila $0,46 \times 10^6$ stanica/ml što je za preko jednog veličine manje, nego koncentracija u močvari.

U močvarnoj vodi je tijekom trećeg ljetnog uzorkovanja (slika 21C) zabilježena koncentracija HP od $4,04 \pm 1,15 \times 10^6$ stanica/ml. Najviša koncentracija iznosila je $5,82 \times 10^6$ stanica/ml te je zabilježena na postaji P₅. Najniža koncentracija HP je iznosila $2,89 \times 10^6$ stanica/ml te je zabilježena na postaji P₁. Koncentracija HP u morskome kanalu se je kretala oko $1,18 \pm 0,59 \times 10^6$ stanica/ml. Koncentracija HP je u morskoj vodi iznosila $0,59 \times 10^6$ stanica/ml.

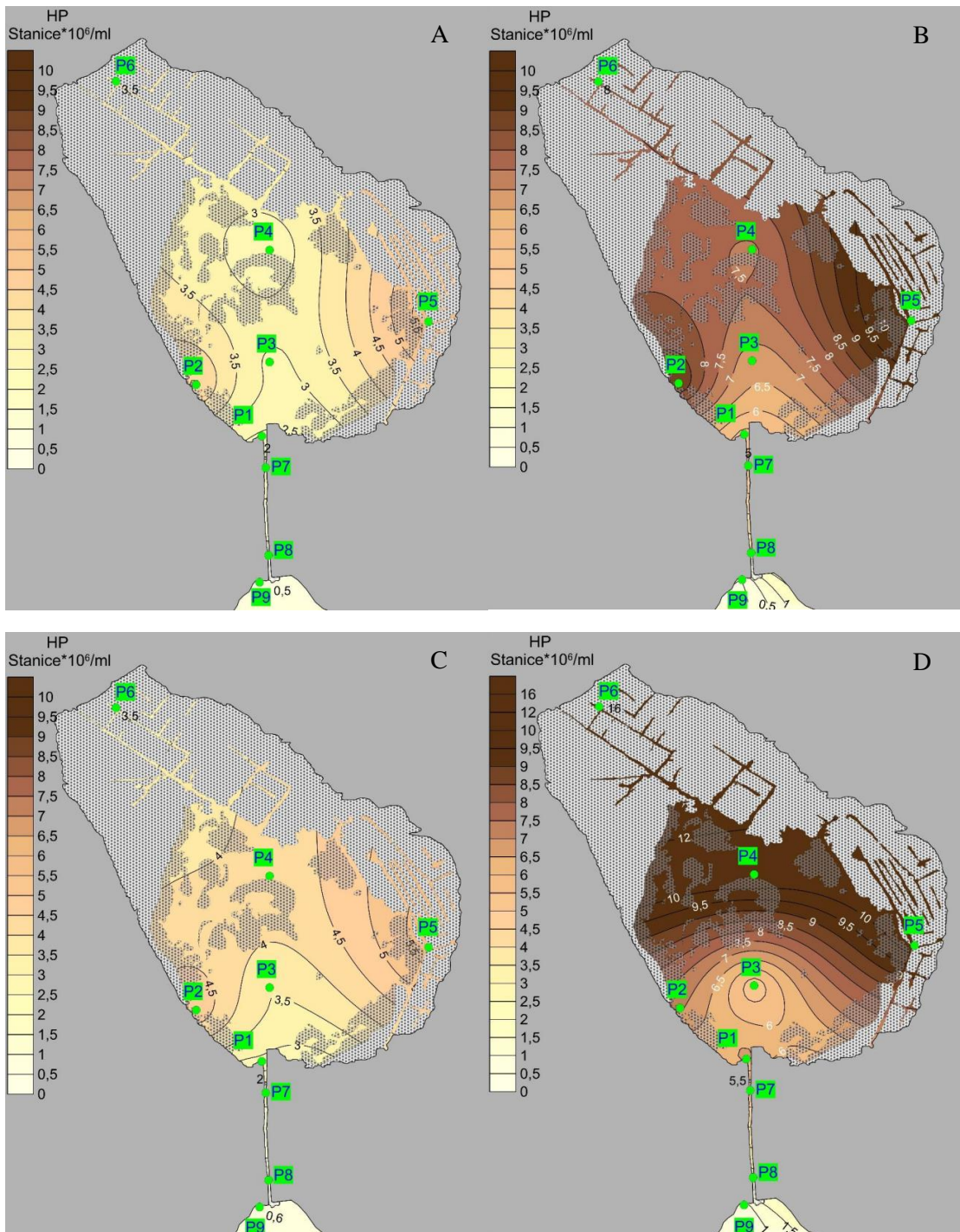
Za vrijeme četvrtog ljetnog uzorkovanja (slika 21D), koncentracija HP u močvarnoj vodi je bila $9,45 \pm 4,1 \times 10^6$ stanica/ml. Najviša koncentracija ($16,51 \times 10^6$ stanica/ml) zabilježena je na postaji P₆, a najniža koncentracija ($5,06 \times 10^6$ stanica/ml) je zabilježena na postaji P₃. U morskome kanalu je zabilježen značajan pad u koncentraciji HP u odnosu prema koncentraciji močvare. Prosječna koncentracija se je kretala oko $3,85 \pm 1,47 \times 10^6$ stanica/ml. Na morskoj postaji, koncentracija HP je za gotovo dva reda veličine manja od koncentracije HP u močvari, a iznosila $0,78 \times 10^6$ stanica/ml.

Koncentracija HP tijekom jesenskog uzorkovanja (slika 22A) iznosila je $3,38 \pm 1,57 \times 10^6$ stanica/ml. Najviša koncentracija zabilježena je na postaji P₂ ($5,63 \times 10^6$ stanica/ml), dok je najniža koncentracija izmjerena na postaji P₆ ($1,03 \times 10^6$ stanica/ml). U morskome kanalu se je koncentracija HP kretala oko $1,72 \pm 0,49 \times 10^6$ stanica/ml, a u morskoj vodi je koncentracija HP iznosila $0,74 \times 10^6$ stanica/ml.

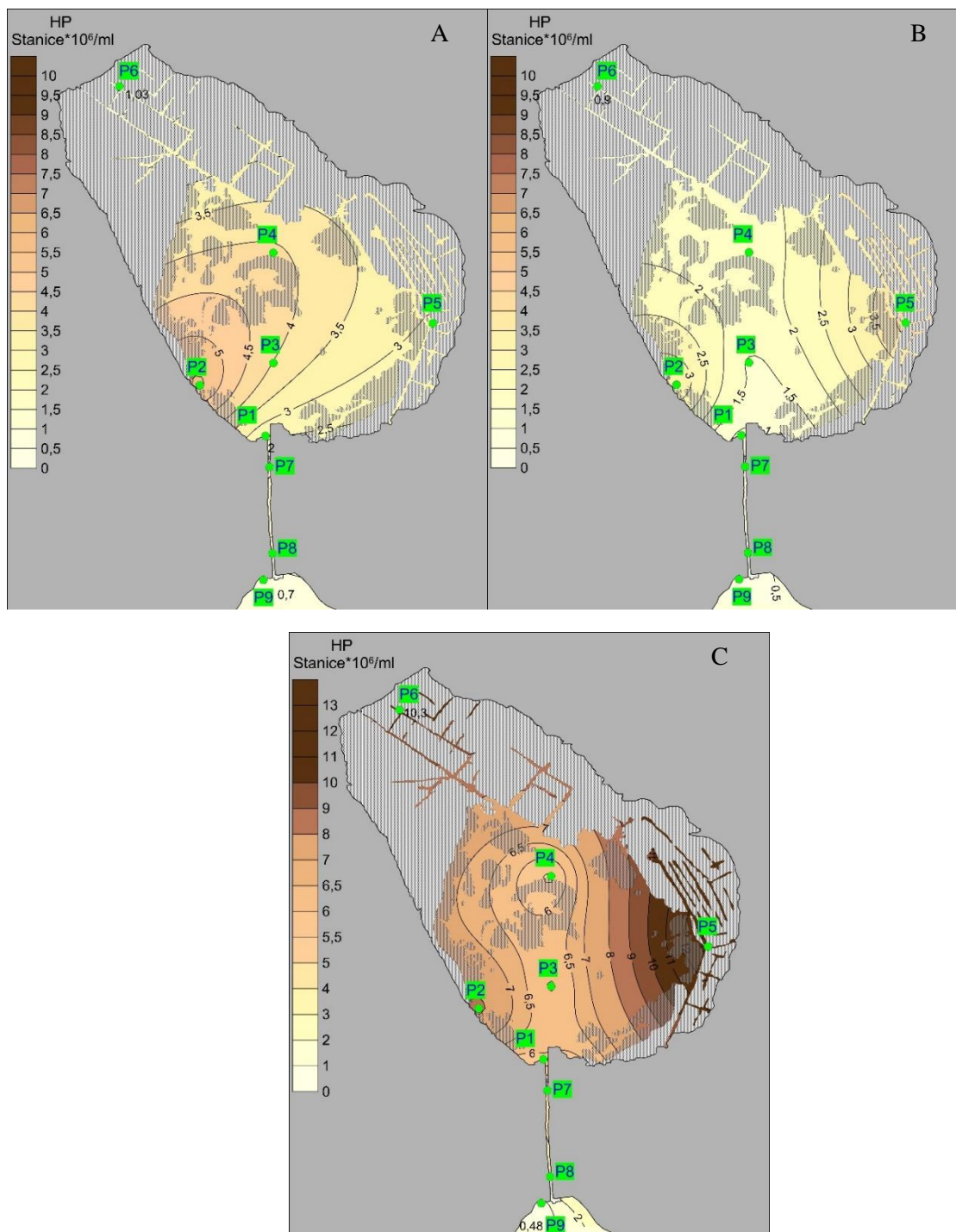
Koncentracija HP u močvari tijekom zimskog uzorkovanja (slika 22B) je bila $2,09 \pm 1,43 \times 10^6$ stanica/ml. Najviša koncentracija je izmjerena na postaji P₅ te je iznosila $4,22 \times 10^6$ stanica/ml. Najniža koncentracija ($0,87 \times 10^6$ stanica/ml) izmjerena je na postaji P₁. U morskome kanalu je zabilježen značajan pad u koncentraciji HP (76,41%) u odnosu na koncentraciju HP u močvari. U morskoj je vodi zabilježena koncentracija HP za više od reda veličine niža od koncentracije u močvari ($0,32 \times 10^6$ stanica/ml).

Za vrijeme proljetnog uzorkovanja (slika 22C), koncentracija HP je u močvari iznosila $8,19 \pm 3,17 \times 10^6$ stanica/ml. Najviša koncentracija ($13,4 \times 10^6$ stanica/ml) je zabilježena na postaji P₅, dok je najniža koncentracija ($5,35 \times 10^6$ stanica/ml) zabilježena na postaji P₄. U

morskome kanalu je koncentracija HP $3,98 \pm 0,18 \times 10^6$ stanica/ml, sa smanjenjem koncentracije u smjeru mora, gdje je izmjerena koncentracija od $0,49 \times 10^6$ stanica/ml.



Slika 21: Prostorna raspodjela koncentracije heterotrofnih prokariota ($\times 10^6$ stanica/ml) na istraživanom području močvare Palud u ljetnom periodu 2021. godine. A) 25.7.2021.; B) 1.8.2021.; C) 8.8.2021.; D) 15.8.2021.



Slika 22: Prostorna raspodjela koncentracije heterotrofnih prokariota ($\times 10^6$ stanica/ml) na istraživanom području močvare Palud. A) jesen 27.11.2021.; B) zima 26.2.2022.; C) proljeće 7.5.2022.

4.8. Koncentracija heterotrofnih nanoflagelata (HNF)

Tijekom prvog ljetnog uzorkovanja (slika 23A) prosječna koncentracija HNF u močvari je iznosila $38,11 \pm 10,19 \times 10^3$ stanica/ml. Najviša koncentracija ($57,28 \times 10^3$ stanica) je zabilježena na postaji P₅, dok je najniža koncentracija zabilježena na postaji P₆ te je iznosila $28,98 \times 10^3$ stanica/ml. U odnosu na močvarnu vodu, koncentracija HNF se je u morskome kanalu smanjila za 61,67% te se je koncentracija kretala oko $14,61 \pm 0,57 \times 10^3$ stanica/ml, dok je na morskoj postaji (P₉) zabilježena najniža koncentracija HNF ($12,38 \times 10^3$ stanica/ml).

Prosječna koncentracija HNF u močvarnoj vodi tijekom drugog ljetnog uzorkovanja (slika 23B) bila je $60,5 \pm 20,46 \times 10^3$ stanica/ml. Najviša koncentracija je zabilježena na postaji P₄ te je iznosila $84,2 \times 10^3$ stanica/ml. Najniža koncentracija iznosila je $40,15 \times 10^3$ stanica/ml te je zabilježena na postaji P₂. U morskome kanalu je zabilježen značajan pad u koncentraciji HNF u odnosu s koncentracijom u močvari (50,22%). U odnosu na koncentraciju HNF u močvari i morskome kanalu, koncentracija HNF je u morskoj vodi bila skoro za red veličine niža ($8,03 \times 10^3$ stanica/ml).

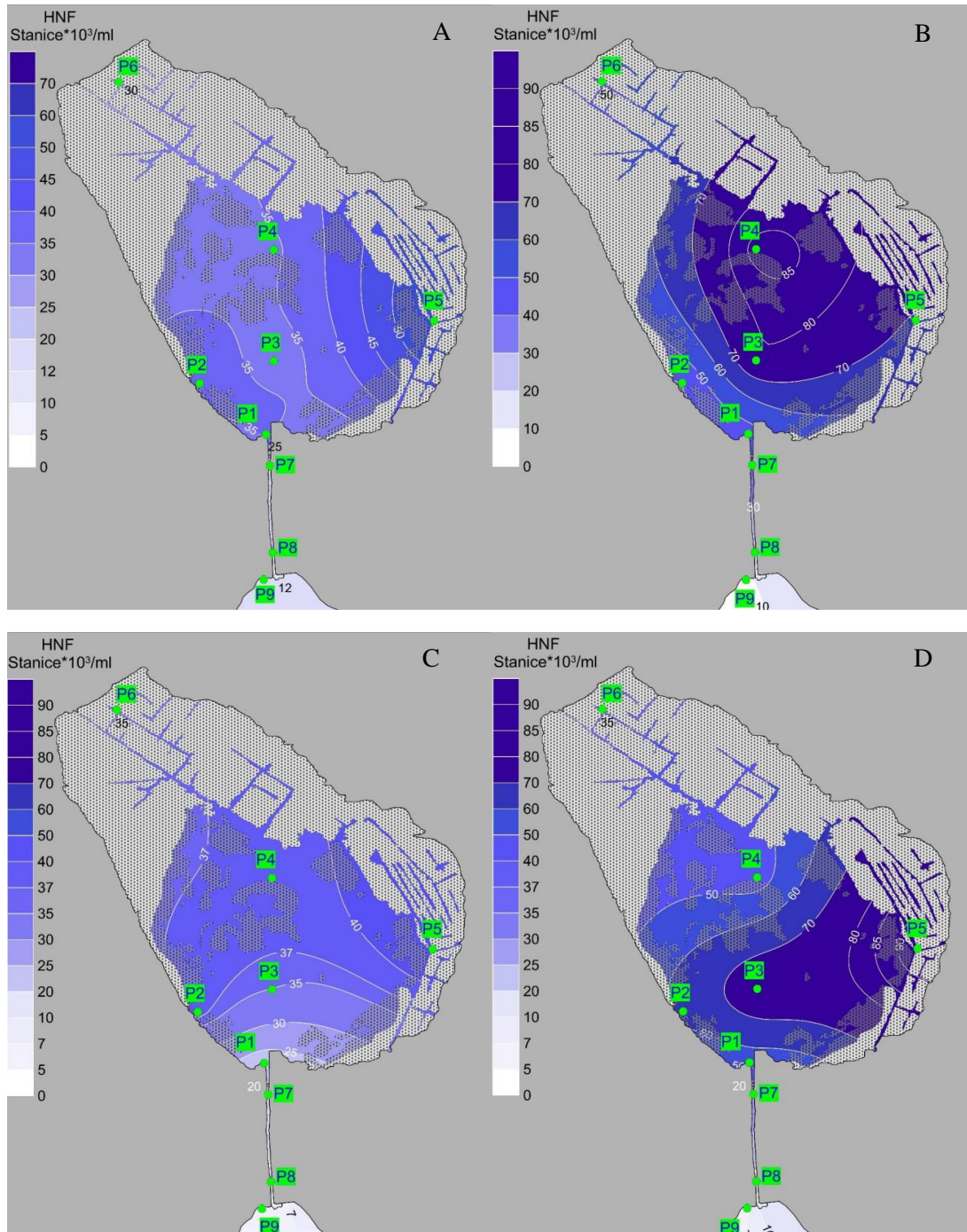
Za vrijeme trećeg ljetnog uzorkovanja (slika 23C), prosječna koncentracija HNF u močvari je iznosila $35,1 \pm 7,3 \times 10^3$ stanica/ml. Najviša koncentracija je zabilježena na postaji P₅ te je iznosila $44,01 \times 10^3$ stanica/ml, dok je najniža koncentracija zabilježena na postaji P₁ te je iznosila $21,98 \times 10^3$ stanica/ml. U morskome kanalu, na postaji P₇ je zabilježena koncentracija HNF od $18,43 \times 10^3$ stanica/ml, dok je na postaji P₈ zabilježena koncentracija za gotovo red veličine niža od one na postaji P₇. Na postaji P₉ koncentracija HNF se nije značajno razlikovala od one na postaji P₈.

Tijekom četvrtog ljetnog uzorkovanja (slika 23D), koncentracija HNF u močvarnoj vodi je iznosila $61,94 \pm 21,63 \times 10^3$ stanica/ml. Najviša koncentracija je zabilježena na postaji P₅ te je iznosila $94,79 \times 10^3$ stanica/ml, dok je najniža koncentracija ($36,25 \times 10^3$ stanica/ml) zabilježena na postaji P₆. U morskome kanalu se je koncentracija HNF kretala oko $24,19 \pm 7,81 \times 10^3$ stanica/ml. Na postaji P₉ zabilježena je koncentracija HNF od $6,63 \times 10^3$ stanica/ml, što je gotovo deset puta manje od prosjeka koncentracije u močvari.

Tijekom jesenskog uzorkovanja (slika 24A), prosječna koncentracija HNF u močvari iznosila je $10,09 \pm 6,94 \times 10^3$ stanica/ml. Najviša koncentracija ($19,91 \times 10^3$ stanica/ml) je zabilježena na postaji P₂, dok je najniža koncentracija ($0,74 \times 10^3$ stanica/ml) zabilježena na postaji P₆, što je za red veličine manje u odnosu na prosjek močvare. U morskome kanalu zabilježen je pad koncentracije HNF za gotovo 50% u odnosu na močvaru. Koncentracija HNF je u postaji P₉ iznosila $3,18 \times 10^3$ stanica/ml, što je oko tri puta manje od koncentracije HNF u močvari.

Prosječna koncentracija HNF u močvari tijekom zimskog uzorkovanja (slika 24B) je iznosila $10,94 \pm 13,27 \times 10^3$ stanica/ml. Najviša koncentracija je zabilježena na postaji P₅ te je iznosila $35,13 \times 10^3$ stanica/ml. Najniža koncentracija je zabilježena na postaji P₆ te je iznosila $1,34 \times 10^3$ stanica/ml. U morskome kanalu se je koncentracija HNF kretala oko $3,23 \pm 2,15 \times 10^3$ stanica/ml, što je smanjenje za gotovo 70% u odnosu na koncentraciju u močvari. U morskoj je vodi koncentracija HNF iznosila $1,04 \times 10^3$ stanica/ml.

Tijekom proljetnog uzorkovanja (slika 24C) prosječna koncentracija HNF u močvari je bila $120,01 \pm 60,89 \times 10^3$ stanica/ml. Najviša koncentracija ($230,17 \times 10^3$ stanica/ml) zabilježena je na postaji P₅, dok je najniža koncentracija ($58,15 \times 10^3$ stanica/ml) zabilježena na postaji P₆. Prosjek HNF u morskome kanalu se je smanjio za gotovo 80% u odnosu na močvaru, dok je u moru koncentracija HNF bila gotovo 54 puta manja od prosjeka koncentracije u močvari.



Slika 23: Prostorna raspodjela koncentracije heterotrofnih nanoflagelata ($\times 10^3$ stanica/ml) na istraživanom području močvare Palud u ljetnom periodu 2021. godine. A) 25.7.2021.; B) 1.8.2021.; C) 8.8.2021.; D) 15.8.2021.

4.9. Koncentracija cijanobakterija (CB)

Tijekom prvog ljetnog uzorkovanja (slika 25A) prosječna koncentracija CB u močvari je bila $0,74 \pm 0,58 \times 10^4$ stanica/ml. Najviša koncentracija je zabilježena na postaji P₃, a iznosila je $1,42 \times 10^4$ stanica/ml, dok je najniža koncentracija zabilježena na postaji P₆, a iznosila je $0,05 \times 10^4$ stanica/ml. Koncentracija CB u morskome kanalu je naglo porasla u odnosu na močvaru te je na postaji P₇ iznosila $2,53 \times 10^4$ stanica/ml, dok je na postaji P₈ iznosila $8,24 \times 10^4$ stanica/ml. Na morskoj postaji (P₉) koncentracija CB je iznosila $12,71 \times 10^4$ stanica/ml, što je oko 17 puta više od prosjeka močvare.

Prosječna koncentracija CB se je u močvari tijekom drugog ljetnog uzorkovanja (slika 25B) bila je $1,17 \pm 0,25 \times 10^4$ stanica/ml. Najviša koncentracija ($1,62 \times 10^4$ stanica/ml) je zabilježena na postaji P₁. Najniža koncentracija ($0,89 \times 10^4$ stanica/ml) je zabilježena na postaji P₆. U morskome kanalu, koncentracija CB se je kretala oko $2,69 \pm 1,06 \times 10^4$ stanica/ml, što je oko 2,3 puta više, nego li u močvari. Na morskoj postaji, koncentracija CB je bila oko 9 puta viša u odnosu na prosjek močvare.

Tijekom trećeg ljetnog uzorkovanja (slika 25C), prosječna koncentracija CB u močvari je iznosila $1,06 \pm 0,42 \times 10^4$ stanica/ml. Najviša koncentracija je zabilježena na postaji P₁ te je iznosila $1,87 \times 10^4$ stanica/ml. Najniža koncentracija je zabilježena na postaji P₂ te je iznosila $0,66 \times 10^4$ stanica/ml. U odnosu na močvaru, zabilježen prosjek koncentracije CB je bio gotovo 40 puta viši, nego li u močvari. Na morskoj postaji zabilježena je koncentracija CB od $8,94 \times 10^4$ stanica/ml, što je gotovo 8,5 puta više, nego li prosjek močvare i 2 puta više od prosjeka zabilježenog u morskome kanalu.

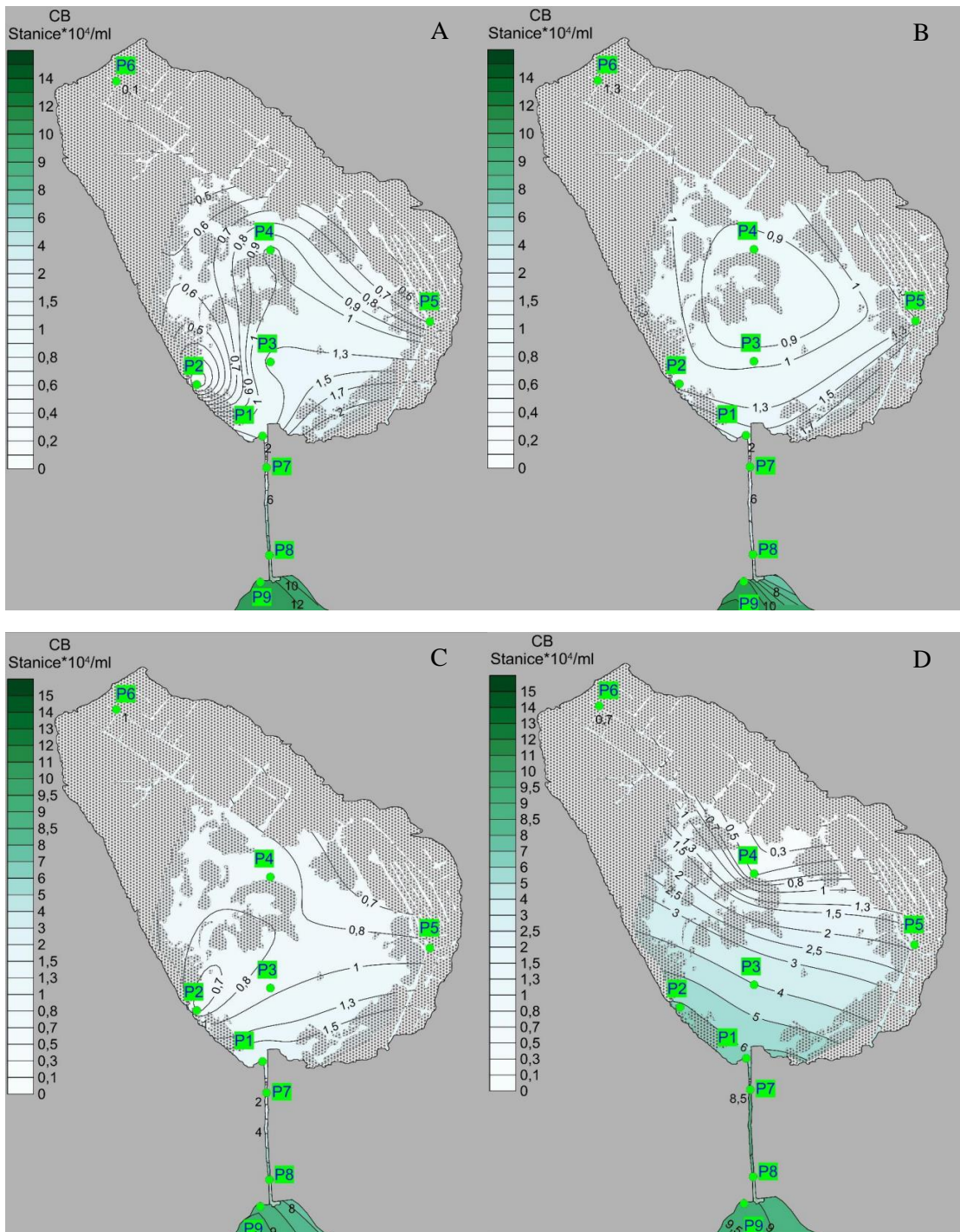
Za vrijeme četvrtog ljetnog uzorkovanja (slika 25D) u močvari koncentracija CB bila je $3,28 \pm 2,57 \times 10^4$ stanica/ml. Najviša koncentracija ($6,2 \times 10^4$ stanica/ml) zabilježena je na postaji P₁, dok je najniža koncentracija ($0,46 \times 10^4$ stanica/ml) zabilježena na postaji P₄. Koncentracija CB u morskome kanalu je iznosila $8,63 \pm 0,43 \times 10^4$ stanica/ml. Na postaji P₉, zabilježena koncentracija CB je bila gotovo 3 puta veća od prosjeka koncentracije u močvari.

Tijekom jesenskog uzorkovanja (slika 26A) u močvari koncentracija CB iznosila je $1,33 \pm 1,08 \times 10^4$ stanica/ml. Najviša koncentracija je zabilježena na postaji P₁, a iznosila je $2,78 \times 10^4$ stanica/ml. Najniža koncentracija je zabilježena na postaji P₅ te je iznosila $0,07 \times 10^4$ stanica/ml. Koncentracija u morskome kanalu je iznosila $3,36 \pm 0,56 \times 10^4$ stanica/ml, što je 2,5 puta više, nego u močvari. Koncentracija CB na postaji P₉ bila je gotovo 3 puta viša od one u močvari, a iznosila je $3,92 \times 10^4$ stanica/ml.

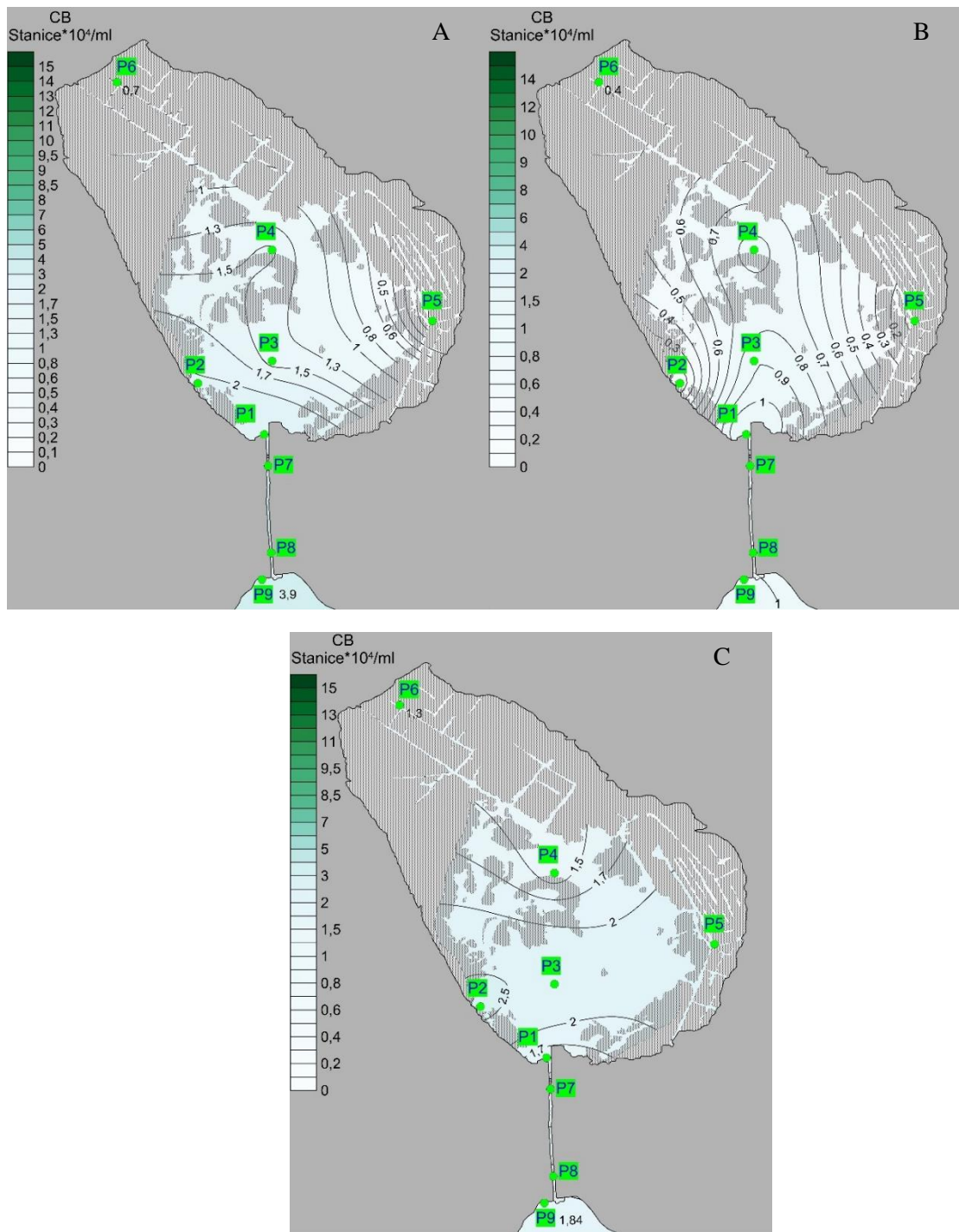
Koncentracija CB u močvari je tijekom zimskog uzorkovanja (slika 26B) iznosila $0,57 \pm 0,48 \times 10^4$ stanica/ml. Na postaji P₁, zabilježena je najviša koncentracija CB ($1,23 \times 10^4$ stanica/ml), dok je na postaji P₅ zabilježena najniža koncentracija CB ($0,03 \times 10^4$ stanica/ml). U morskome kanalu je zabilježena koncentracija od $0,85 \pm 0,09 \times 10^4$ stanica/ml, dok je u moru zabilježena koncentracija za red veličine viša od one u močvari.

Za vrijeme proljetnog uzorkovanja (slika 26C) u močvari je zabilježena koncentracija $1,97 \pm 0,62 \times 10^4$ stanica/ml. Najviša koncentracija ($2,68 \times 10^4$ stanica/ml) je zabilježena na postaji P₂, dok je najniža koncentracija ($1,36 \times 10^4$ stanica/ml) zabilježena na postaji P₄. U

morskome kanalu se je prosjek koncentracije CB smanjio za gotovo 34% u odnosu na močvaru, dok se je u moru koncentracija CB smanjila za gotovo 7% u odnosu na močvaru.



Slika 25: Prostorna raspodjela koncentracije cijanobakterija ($\times 10^4$ stanica/ml) na istraživanom području močvare Palud u ljetnom periodu 2021. godine. A) 25.7.2021.; B) 1.8.2021.; C) 8.8.2021.; D) 15.8.2021.

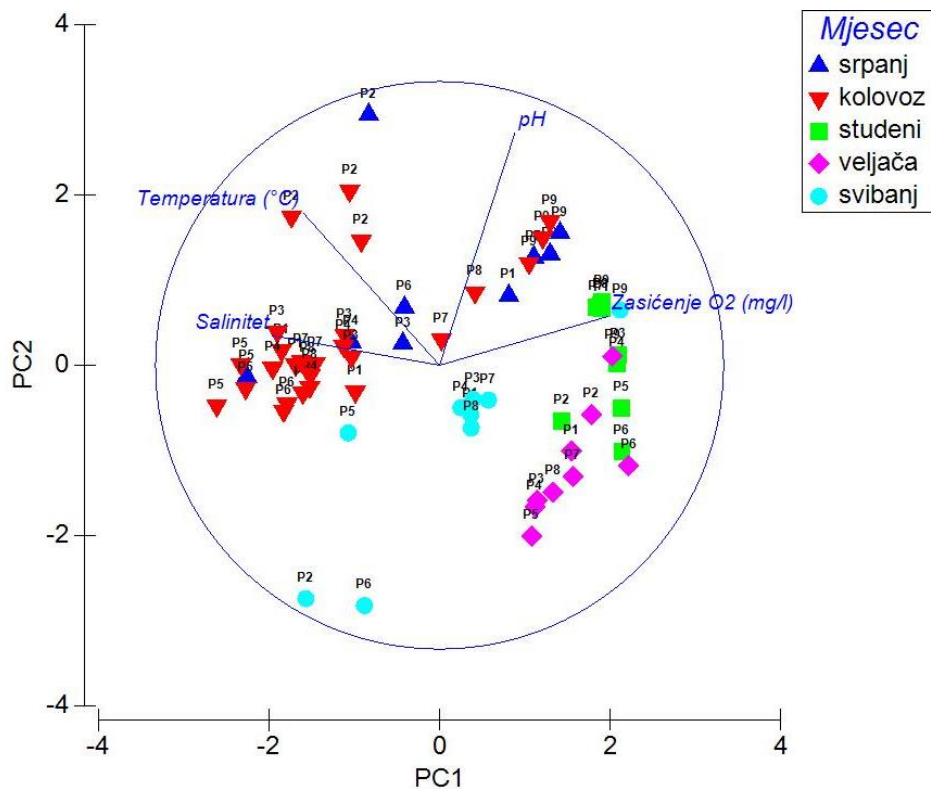


Slika 26: Prostorna raspodjela koncentracije cijanobakterija ($\times 10^4$ stanica/ml) na istraživanom području močvare Palud. A) jesen 27.11.2021.; B) zima 26.2.2022.; C) proljeće 7.5.2022.

4.10. Statistička analiza podataka

Rezultati statističke analize podataka pokazali su kako sezonalnost utječe na abiotičke čimbenike (hidrografski parametri) te kako se grupiraju postaje prema brojnosti fekalnih bakterija i autohtone mikrobne zajednice, ovisno o poziciji na kojoj se nalazi postaja (močvara, morski kanal ili obala).

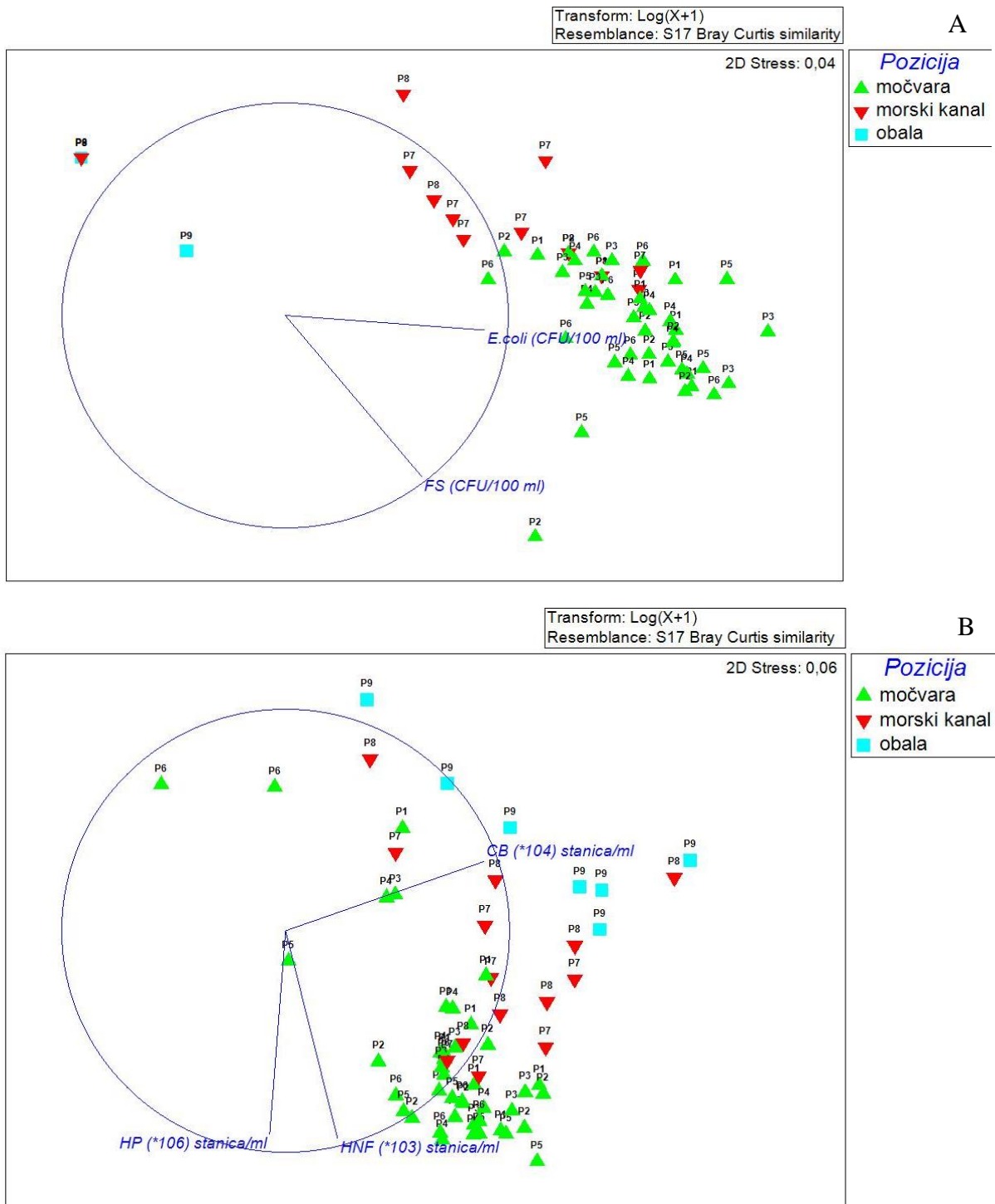
Statistička analiza hidrografskih parametara prikazana je PCA analizom (slika 27). Postotak varijabilnost opisan je s preko 87%, pomoću prve dvije komponente. Prva komponenta je opisala 58,4% varijabilnosti, dok je druga opisala 28,7% varijabilnosti. Temperatura i salinitet negativno koreliraju s PC1 osi, dok zasićenje O₂ pozitivno korelira s PC1 osi. Također temperatura i pH pozitivno koreliraju s PC2 osi. Na grafu se na ovaj način može vidjeti da su postaje tijekom srpnja i kolovoza slanije, ali i toplije od onih tijekom studenog i veljače. Također je vidljivo da su postaje tijekom studenog i veljače zasićenije kisikom, budući da je topivost kisika u vodi bolja tijekom nižih temperatura.



Slika 27: PCA prikaz raspodjele uzoraka na temelju hidrografskih parametara s naznačenim pozicijama postaja i mjesecima uzorkovanja

Statistički prikaz grupacije postaja prema prisutnosti fekalnih bakterija (slika 28A) i autohtone mikrobne zajednice (slika 28B) u močvari Palud, morskom kanalu te u moru prikazana je pomoću nMDS analize. Stres na prvom grafu (slika 28A) iznosi 0,04, dok na drugom grafu (slika 28B) iznosi 0,06, što prikazuje dobru koreliranost između postaja prema

Bray – Curtis-ovoj matrici sličnosti. Na slici 28A se jasno vidi odvajanje 2 uzorka s obalne pozicije i postaje P₈, na kojima nema prisutnosti bakterije *Escherichia coli*, ili fekalnih streptokoka, dok na slici 28B se jasno vidi da nema grupiranja među postajama.



Slika 28: nMDS prikaz grupacija postaja ovisno o prisutnosti: A) fekalnih bakterija (*Escherichia coli* (*E. coli*) i fekalni streptokoki (FS)) na određenoj poziciji uzorkovanja; B) autohtone mikrobne zajednice (heterotrofni prokarioti (HP), heterotrofni nanoflagelati (HNF) i cijanobakterije (CB)) na određenoj poziciji uzorkovanja

5. Rasprava

Kako bi se karakterizirao i interpretirao okvir hidrografskih uvjeta u kojima se razvija mikrobna zajednica u močvari Palud izmjereni rezultati uspoređeni su s prosječnim podacima za sjeverni Jadran dostupnim u literaturi i s dugoročnim prosjecima podataka za postaju RV001 na 1 NM zapadno od Rovinja, koja se koristi kao referentna lokacija za akvatoriji zapadne Istre (Tablica 1.).

Tablica 1. Prosjeci dugoročnih podataka o temperaturi, salinitetu, pH i saturaciji kisikom (1972-2004), na referentnoj postaji RV001 na 1 NM zapadno od Rovinja za Kolovoz, Studeni, Siječanj i Svibanj u površinskom sloju mora (Baza podataka CIM-a Rovinj).

Parametar	Prosjek vrijednosti na površini mora (Kolovoz)	Prosjek vrijednosti na površini mora (Studeni)	Prosjek vrijednosti na površini mora (Siječanj)	Prosjek vrijednosti na površini mora (Svibanj)
T (°C)	24,41±1,2	16,8±1,1	10,7±1,2	16,45±1,0
S	36,35±1.1	37,4±0.9	38,01±0.7	37,21±0,9
O ₂ (%)	108,8±2	100,02±1,5	99,5±1,3	110,0±1,2
pH	8,3±0,1	8,26±0,1	8,27±0,1	8,29±0,1

Prosječna godišnja temperatura sjevernog Jadrana kreće se od 8 °C do 24 °C u površinskom sloju, dok salinitet u prosjeku varira između 32,8 PSU i 37,3 PSU, s maksimumom od oko 38,4 PSU (Cibić i sur. 2017; Malačić i Žagar 2019). pH vrijednost Jadrana u prosjeku iznosi 8,2 ± 0,1 te blago je u lužnatom području zbog suviška otopljenih aniona kojeg čini uglavnom bikarbonatni i karbonatni ioni (Antolić i sur. 2012) Najveći utjecaj na pH u moru imaju procesi proizvodnje i razgradnje organske tvari prilikom kojih se u morskom ekosustavu CO₂ uklanja tijekom fotosinteze ili proizvodi tijekom respiracije. Uz te procese, intenzivna razgradnja organskog materijala može smanjiti pH ispod 8 (Antolić i sur. 2012).

Jadransko more je vrlo oksigenirani sustav (Artegiani i sur. 1997) iako je u brojnim obalnim regijama zasićenje otopljenim kisikom u padu zbog antropogenog utjecaja, poput razvoja poljoprivrede i uporabe gnojiva (Kralj i sur. 2019), bogatim nutrijentima, koji u mora dolaze uglavnom rijekama. Tijekom kiša dolazi do ispiranja tla te se nutrijenti iz gnojiva ispiru u tekućice te tako dospijevaju u more ili druge vodene ekosustave, što dovodi do povećanja fitoplanktonske biomase i naposljetku do eutrofnih uvjeta koji mogu rezultirati hipoksijama, (zasićenje kisikom padne ispod 30%) i anoksijama (potpuni nedostatak kisika) u pojedinim dijelovima pridonog sloja mora (dfo-mpo.gc.ca 2022).

Temperatura (prilog 1A) močvare je tijekom ljetnih uzorkovanja prelazila prosječnu maksimalnu godišnju temperaturu za sjeverni Jadran i za akvatorij Rovinja za oko 3 °C. Iz literaturnih izvora (Pokrajac 2002) proizlazi da temperatura močvare može biti i veća od one zabilježene i maksimalno dostići 32 °C u srpnju što je čini izuzetno toplim vodenim tijelom.

Srednja temperatura u močvari prelazila je temperaturu obližnjeg mora za oko 1 °C, osim tijekom drugog ljetnog uzorkovanja kada je razlika bila oko 0,27 °C. Stoga, vidljivo je da ulazak morske vode tijekom plime umjereno osvježava vodu močvare.

Za vrijeme jesenskog uzorkovanja prosječna temperatura u močvari je iznosila 12,4 °C što je oko 4 °C niže u odnosu na referentne vrijednosti kod postaje RV001, što ukazuje na intenzivne procese hlađenja izuzetno plitkih močvarnih voda. U odnosu na more u neposrednoj blizini močvara je bila za oko 3 °C hladnija. Taj podatak sugerira da ulazak morske vode tijekom plime doprinosi zagrijavanju močvare i djelomično ublažava promjene temperature unutar nje.

Tijekom zime vode Paluda su dostigle svoj godišnji minimum (8,3 °C) što je blizu najnižim temperaturama registriranih na razini cijelog sjevernog Jadrana i za 2,4 °C manje u odnosu na referentu postaju RV001. Kao i za vrijeme jeseni, temperatura mora u neposrednoj blizini je bila viša u odnosu na močvaru i razlika je iznosila 2,4 °C. Prema literaturnim podacima temperatura u močvari krajem zime može biti i niža od izmjerenih vrijednosti i dostići 4,8 °C (Pokrajac 2002) a mjestimice i -2 °C uz stvaranje leda uz sjevernu obalu (Zavodnik 1967).

U proljeće, vode Paluda su imale prosječnu temperaturu od 17,2 °C, što je blago povećanje od 0,75 °C u odnosu na dugoročne podatke kod referentne postaje. Razlike između temperature močvare i mora iznosile su 1,36 °C. Močvara je bila malo toplija u odnosu na more što ukazuje da ulazak morske vode tijekom plime može rashladiti sustav i ublažavati oscilacije temperature.

Salinitet močvare (prilog 1B) tijekom svih ljetnih uzorkovanja bio je ekstremno visok zbog jakih procesa evaporacije. U toj sezoni prosječna razlika saliniteta unutar i izvan močvare bila je oko 11 PSU, dok je razlika s dugoročnim podacima za referentnu postaju bila oko 10 PSU i oko 9 PSU uspoređeno sa vrijednostima za cijeli sjeverni Jadran. Ovi podaci ukazuju da u ljetnim mjesecima Palud postaje hiperhalino vodeno tijelo. Močvara je tijekom oseka bila znatno slanija (u rasponu od 47,22 PSU do 49,08 PSU) u odnosu na plimu (43,91 PSU do 44,64 PSU) što potvrđuje da ulazak mora smanjuje salinitet sustava.

Tijekom jeseni i zime salinitet močvare bio je niži u odnosu na more u neposrednoj blizini i u odnosu na dugoročne podatke. Najveće razlike zabilježene su zimi kada je salinitet u močvari bio manji za 3,76 PSU u odnosu na more. Tijekom jeseni i zime donos slatkih voda precipitacijom i procjeđivanjem tla nadmašuje gubitke evaporacijom pa se ukupni salinitet u močvari smanji i postane manji u odnosu na more. Ovisno o količini padalina i razini morskih mijena sustav postaje više ili manje bočat, pogotovo u naj unutrašnjim dijelovima gdje se salinitet može spustiti i na 30 PSU. U proljeće zabilježen je znatan porast saliniteta u odnosu na hladniji dio godine s vrijednostima koje su bile malo niže od ljetnih razina. Razlika u salinitetu između močvare i okolnog iznosila je oko 7 PSU. Dobiveni podaci ukazuju da tijekom proljeća močvara Palud prelazi iz umjereno bočatih uvjeta na hiperhaline uvijete zbog pojačane evaporacije i smanjenog dotoka slatkih voda.

Ljeti, prosjek pH vrijednosti (prilog 1C) močvare Palud bio je niži za oko 0,27 u odnosu na morsku postaju P₉ što ukazuje da su vode močvare bile dosta kiseliije i u odnosu na dugoročne i prosječne vrijednosti sjevernog Jadrana. Razlog tome se može pripisati procesima razgradnje organskih tvari unutar močvare, koje vode do oslobađanja CO₂ i posljedičnog zakiseljavanja vodenog stupca. Razlike u vrijednostima pH bile su najizraženije tijekom oseka kada je unutar močvare postignut prosječni pH 7,87 dok je okolno more imalo pH 8,27. Povećanje pH močvare za vrijeme plime posljedica je razrjeđenja kiselijih močvarnih voda sa umjereno lužnatim morskim vodama.

U jeseni razlike pH između močvare i okolnog mora bile su najniže (0,19), najvjerojatnije zbog usporavanja procesa razgradnje organskog materijala uslijed naglog zahlađivanja vodenog stupca. Uz to, uzorkovanje je provedeno tijekom plime, kada se zbog ulaska mora djelomično ujednačavanju hidrografski parametara mora i močvare. Zimi razlike u pH su bile malo veće nego tijekom jeseni jer je uzorkovanje provedeno tijekom oseke.

Najveća razlika u pH (0,57) registrirana je u proljeće zbog kombiniranog utjecaja oseke, i podizanja temperature koja je stimulirala procese razgradnje organskom materijala.

Zasićenje kisikom (prilog 1D) tijekom ljeta unutar močvare bio je u prosjeku oko 35%, dok je more u neposrednoj blizini imalo prosječno zasićenje od 84,6%. Razlika u zasićenju kisikom bila je najizraženija u uvjetima oseke kada su vode močvare bile na samoj granici hipoksije (%O₂ ≤30%). Usporedbom rezultata sa dugoročnim podacima na referentnoj točki vidi se da i same razine na morskoj postaji P₉ su bile znatno niže u odnosu na dugoročne podatke. Razlog tome bi mogao biti da kao što more utječe na hidrografske uvjete močvare, istjecanje močvarnih voda tijekom oseke mogao bi imati određeni utjecaj na akvatoriji u blizini kanala. Taj je fenomen zapravo i vidljiv tijekom oseke s obzirom da su močvarne vode smeđe obojane i karakterizirane niskom prozirnošću a primijećene su u krugu od 20 m oko kanala gdje se ubrzo izmiješaju s morem. U jesen zasićenje kisikom je znatno poraslo u odnosu na ljeto i dostigao razinu od 85,8%, što je ujedno i najviša prosječna zasićenost izmjerena u močvari tijekom istraživanja. Razlike s morem bile su umjerene (oko 7%). U usporedbi sa dugoročnim podacima opet su rezultati bili niži. Generalno povećanje zasićenja kisikom u odnosu na ljeto može se objasniti padom temperature koja pospješuje topivost kisika i usporavaju procese razgradnje organske tvari koje troše kisik. Tijekom zime i proljeća zasićenje kisikom u močvari je bilo također veći u odnosu na ljeto i kretalo se je u rasponu 56 – 58%, što je dosta niže u odnosu na morske razine zasićenja koje su se kretale u rasponu od 90 do 104%, dok su dugoročne saturacije bile još više (99,5 – 110%). Navedeni rezultati ukazuju da je zasićenje močvare kisikom u većem dijelu godine smanjen u odnosu na more i da znatno ovisi o klimatskim uvjetima. Postotak zasićenja kisikom u moru uglavnom ne pada ispod 75%, dok maksimum može biti i veći od 110% (Artegiani i sur. 1997). Također izuzetno važnu ulogu u opskrbi močvare kisikom imaju morske mijene koje tijekom oseke prazne močvaru od hipoksičnih voda, a tijekom plime oksigeniraju vodeni stupac i štite sustav od pojave jačih hipoksija i anoksija, koje bi bile negativne za sve aerobne organizme u vodenom stupcu i sedimentu.

Koncentracije mikrobioloških indikatora fekalnog onečišćenja (*E. coli* (prilog 1E) i fekalni streptokoki (prilog 1F)) unutar močvare bile su veće u odnosu na razine u moru oko močvare tijekom svih uzorkovanja. Najveće koncentracije indikatora u močvari zabilježene su u toplijem dijelu godine odnosno tijekom ljeta i proljeća. U moru koncentracije fekalnih bakterija su uvijek bile na 0 bik/100ml ili na samoj donjoj granici detekcije indikatora. Fekalni streptokoki bili su malo brojniji u odnosu na *E. coli* tijekom svih uzorkovanja. Fekalno onečišćenje je bilo vrlo nisko te u usporedbi s propisanim graničnim vrijednostima za kupanje i rekreaciju u moru (NN 51/2014) (prilog 2A i 2B), može se zaključiti da kakvoća vode u močvari Palud pripada kategoriji izvrsne kakvoće, a tome također pridonosi i nedostatak urbanih sredina (Bachoon i sur. 2010) u neposrednoj blizini rezervata. Razlog umjerenog povećanja fekalnih indikatora unutar močvare može se pripisati eroziji tla, resuspenziji sedimenta i velikom broju ptica, koje borave na području ornitološkog rezervata, s obzirom da su one toplokrvne životinje te imaju mikrobnu zajednicu koja ima određene zajedničke osobine kao i ljudska. Prevladavanje fekalnih streptokoka uobičajeno je s obzirom da su oni prisutniji u životinjskom izmetu i rezistentniji su na uvjete u morskom okolišu u odnosu na *E. coli* (Krstulović i Šolić, 2006b). U samoj močvari prostorna rasprostranjenost fekalnih indikatora nije pokazala neke jasne trendove najvjerojatnije zbog slučajne distribucije ptičjih oslobađanja izmeta.

Heterotrofne komponente mikrobne zajednice (HP (prilog 1G) i HNF (prilog 1H)) bile su izuzetno brojne u vodama Paluda tijekom svih uzorkovanja, dok je prokariotska autotrofna komponenta tj. CB (prilog 1I), bila znatno niža u odnosu na more u neposrednoj blizini. HP i HNF pokazali su najveće abundancije u proljeće i ljeti, ali i značajne oscilacije koje su ovisile o morskim mijenama. Tijekom oseke HP i HNF bili su oko 2 puta brojniji u odnosu na plimu, dok su CB pokazale nepravilni trend kretanja brojnosti. U većini slučajeva raspodjela HNF je dobro pratila rasprostranjenost i brojnost HP, budući da su HNF njihovi glavni predatori (Sanders i sur. 1992). Visoke brojnosti HNF sugeriraju da je mikrobni krug, koji vraća energiju u glavni hranidbeni lanac putem bakterijske razgradnje otopljene i partikularne organske tvari preko HNF i cilijata, prilično aktivan u vodama Paluda te da je uloga mikrobne zajednice ključna za funkcioniranje tog ekosustava. Raspon brojnosti HP unutar močvare bile su usporedive sa vrijednostima tipičnim za eutrofne vode, poput ušća rijeke James (SAD) ($3,1-12,6 \times 10^6$ stanica/ml) (Koepfler i sur. 1993) tijekom oseke i s ušćem rijeke Neve (Baltik) ($3,1-4,2 \times 10^6$ stanica/ml) (Pitkänen i sur. 1993) tijekom plime. Ukupni prosjek HP močvare Palud ($6,1 \times 10^6$ stanica/ml) bio je viši od najvećih izmjerenih brojnosti HP u Sjevernom Jadranu ($5,94 \times 10^6$ stanica/ml) (Fuks i sur. 1995). Pojedinačna najveća registrirana koncentracija HP zabilježena je 15.08.2021. i prelazila je najveće brojnosti iz literature (Krstulović i Šolić 2006a) ($12,83 \times 10^6$ stanica/ml) registrirane u eutrofnom obalnom području Vranskog bazena u Kaštelanskom zaljevu (Krstulović i sur. 1997). Usporedive brojnosti HP na području sjevernog Jadrana izmjerene su ranije samo na područjima pod jakim antropogenim utjecajem poput kanalizacijskih ($1,4 \times 10^6$ stanica/ml) (Paliaga i sur. 2017) i industrijskih ispusta ($3,9 \times 10^6 - 11 \times 10^6$ stanica/ml) (Paliaga 2015; Paliaga i sur. 2019). Brojnost HNF unutar močvare bila je za jedan do dva reda veličine viša u odnosu na tipične vrijednosti za sjeverni Jadran ($0,5 \times 10^3 - 1,2 \times 10^3$ stanica/ml) (Fuks i sur. 2005, 2012). Usporedive, ali niže brojnosti HNF zabilježene su unutar nakupina rebraša ($15 \pm 8,4 \times 10^3$ stanica/ml) (Paliaga i sur. 2021) i u sluzavim agregatima

tijekom cvjetanja mora (24×10^3 stanica/ml) (Fuks i sur. 2005). Brojnost CB u močvari bila je bliska nižem spektru uobičajenih vrijednosti drugih lokacija na području Jadrana poput Tršćanskog zaljeva ($0,3 - 6 \times 10^4$ stanica/ml) (Turk 1991) ili Kaštelanskog zaljeva ($0,2 - 6,2 \times 10^4$ stanica/ml) (Ninčević 2000). Najvjerojatnije niske koncentracije CB zabilježene u močvari posljedica su izuzetno mutnih voda, u kojima je prodiranje svjetla oko 5 cm za vrijeme oseke i 30 cm tijekom plime.

U hladnijem djelu godine koncentracije HP i pogotovo HNF bile su dosta niže u odnosu na ljeto i proljeće, ali i dalje više u odnosu na more na postaji P₉. Taj rezultat sugerira da opadanje temperature i primarne proizvodnje utječe posredno i neposredno na brojnost HP. Smanjenjem temperature usporavaju se prokariotske metaboličke aktivnosti a smanjenjem fotosinteze smanjuje se proizvodnja POC-a i DOC-a koji služe kao hrana za HP. Kao posljedica toga i hlađenja vodenog stupca močvare vidi se znatan porast zasićenja kisikom, Uz to, vidi se i porast pH, najvjerojatnije zbog smanjenog oslobađanja CO₂ prokariotskom respiracijom.

PCA analiza je pokazala grupiranje postaja unutar i izvan močvare (kanal i postaja P₉) zbog razlika u temperaturi, salinitetu i zasićenju kisikom tijekom ljeta. Razlike između spomenutih područja bile su izražene. S druge strane tijekom jeseni i zime postaje su se razlikovale prema vrijednosti pH i temperaturi, a njihove razlike su bile umjerenije u odnosu na ljeto. Za proljetno uzorkovanje zasićenje kisikom i salinitet su značajno razlikovali postaju P₉ od ostalih, dok su između močvarnih postaja i kanala, pH i temperatura imali najvažniju ulogu u razlikovanju postaja.

nMDS analiza provedena je kako bi se odredila grupacija između pozicija uzorkovanja, ovisno o prisutnosti određenih fekalnih bakterija ili autohtone mikrobne zajednice (slika 28A i 28B). Naime, ovisno o prisutnosti određenih fekalnih bakterija ili autohtone mikrobne zajednice, prikazani grafovi ne pokazuju jasnu grupaciju između postaja prema poziciji uzorkovanja, budući da se pojedine postaje koje se nalaze u morskome kanalu mogu grupirati s postajama u močvari, dok su druge bile sličnije onoj na morskoj obali (P₉). To nam govori da prisutnost fekalnih bakterija i autohtone mikrobne zajednice u morskome kanalu ovisi o morskim mijenama.

6. Zaključak

Močvara unutar posebnog ornitološkog rezervata Palud – Palù od posebnog je značaja zbog svoje visoke bioraznolikosti i specifičnosti na području sjevernog Jadrana. Rezultati su pokazali da hidrografski parametri u močvari imaju velike sezonske oscilacije, ali i da morske mijene imaju izuzetno važnu ulogu u funkcioniranju ekosustava. U odnosu na obližnje more, uvjeti u močvari su tijekom ljeta ekstremniji, nego tijekom hladnijih mjeseci, kada su oni poprilično ujednačeni. To se najbolje vidi na primjeru saliniteta i zasićenja kisikom, čije su vrijednosti najviše odskakale od onih u moru tijekom ljetnih mjeseci i tijekom perioda kada je bila oseka. Indikatori fekalnog onečišćenja su bili znatno ispod propisanih graničnih vrijednosti tijekom svih uzorkovanja, a vode su sve karakterizirane kao izvrsne kakvoće. U toplijem dijelu godine koncentracije indikatora su bile blago povišene, ali uvijek jako niske u apsolutnim razinama. S obzirom da se na širem području ornitološkog rezervata ne nalaze izvori ljudskog fekalnog onečišćenja, blago povišenje fekalnih streptokoka i *E. coli* u močvari može se pripisati prirodnim procesima resuspenzije sedimenta, erozije obale i ptičjem izmetu, koji je značajniji u toplim mjesecima zbog veće populacije ornitofaune. S druge strane, u moru *E. coli* nije bila uopće prisutna, dok su fekalni streptokoki bili zabilježeni tijekom 3 uzorkovanja s izrazito malim brojem kolonija na 100 ml profiltrirane morske vode.

Klimatski uvjeti i morske mijene su se značajno odrazile na brojnost autohtone mikrobne zajednice. Brojnost autohtone heterotrofne mikrobne zajednice je bio veći u močvari te se je smanjivala približavajući se moru. Najveća brojnost autohtone heterotrofne mikrobne zajednice je zabilježena u toplijim mjesecima i u uvjetima oseke, kada je salinitet bio viši. Mogući razlog veće brojnosti autohtone heterotrofne mikrobne zajednice u močvari, u odnosu na more, je taj da su u močvari dostupniji izvori organske tvari koju heterotrofni prokarioti mogu dobiti iz sedimenta, što može dovesti do povećanja njihove brojnosti, a samim time i povećanja brojnosti njihovih glavnih predatora (HNF). S druge strane, cijanobakterije su bile brojnije izvan močvare najvjerojatnije zbog utjecaja ekstremnog saliniteta i izuzetno niske prozirnosti močvarnih voda, što smanjuje njihovu sposobnost provođenja fotosinteze, zbog čega je njihova brojnost bila manja u močvari, nego u moru. Brojnost svih predavnika autohtone mikrobne zajednice i u močvari i u moru je bio veći tijekom ljetnih mjeseci, kada su uvjeti za njihov rast i razmnožavanje bili povoljniji te zbog veće količine dostupnih nutrijenata u okolišu, dok je, približavanjem zimi, njihova brojnost počela padati zbog smanjenja temperature, saliniteta, ali i manje dostupnosti nutrijenata.

Osim što su klimatski uvjeti i cirkulacija mora djelovali na mikrobnu zajednicu, oni su svojim aktivnostima modificirali uvjete u močvari i u kanalu snižavajući pH zbog oslobađanja CO₂ i smanjivanjem koncentracije kisika zbog respiracije. Provedeno istraživanje je pokazalo da je močvara Palud izrazito specifičan, jako dinamičan i jedinstven ekosustav i zbog toga ga je potrebno nastaviti pratiti i istraživati kako bi se što bolje razumjelo funkcioniranje svih njegovih komponenti i na temelju toga donijela što bolja strategija održivog upravljanja.

7. Literatura

- Andersen O.K., Goldman J.C., Caron D.A., Dennett M.R. (1986) Nutrient cycling in a microflagellate food chain. III. Phosphorus dynamics; *Marine Ecology – Progress Series*, 31, 47-55
- Antolić B., Bogner D., Dadić V., Dulčić. J., Čikeš Keč V., Grbec B., Grubelić I., Kušpilić G., Kršnić F., Krstulović N., Marasović I., Matijević S., Milun V., Nikolić V., Ninčević Ž., Skejčić S., Šolić M., Tičina V., Vrgoč N., Zorica B., Žuljević A., Precali R., Mikac N., Vojvodić N., Furdek M. (2012) Početna procjena stanja i opterećenja morskog okoliša Hrvatskog dijela Jadrana; Institut za oceanografiju i ribarstvo Split, 396 str.
- Artegiani A., Bregant D., Paschini E., Pinardi N., Raicich F., Russo A. (1997) The Adriatic Sea General Circulation. Part I: Air–Sea Interactions i Water Mass Structure; *Journal of Physical Oceanography*, 27(8), 1492-1514
- Azam F., Fenchel T., Field J.G., Gray J.S., Meyer-Reil L.A., Thingst F. (1983) The ecological role of water-column microbes in the sea; *Marine Ecology – Progress Series*, 10, 257-263
- Azam F., Fuhrman J.A. (1984) Measurement of bacterioplankton growth in the sea and its regulation by environmental conditions; *Heterotrophic activity in the sea*, 179-196
- Azam F., Smith D.C. (1991) Bacterial influence on the variability in the ocean's biogeochemical state: a mechanistic view; *Particles analysis in oceanography*, 213-236
- Bachoon D.S., Marki S., Otero E., Perry G., Ramsubaugh A. (2010) Assessment of non-point sources of fecal pollution in coastal waters of Puerto Rico i Trinidad; *Marine Pollution Bulletin*, 60, 1117–1121
- Baines S.B. i Pace M.L. (1991) The production of dissolved organic matter by phytoplankton and its importance to bacteria: Patterns across marine and freshwater systems; *Limnology and Oceanography*, 36, 1078-1090
- Bakran – Petricioli T. (2011) Priručnik za određivanje morskih staništa u Hrvatskoj prema Direktivi o staništima EU Državni zavod za zaštitu prirode Zagreb
- Balwan W.K. i Kour S. (2021) Wetli -An Ecological Boon for the Environment; *East African Scholars Journal of Agriculture i Life Sciences*, 4(3), 38-48
- Bbalali S., Hoseini S.A., Ghorbani R., Kordi H. (2013) Relationships between Nutrients i Chlorophyll *a* Concentration in the International Alma Gol Wetland, Iran; *Journal of Aquaculture Research & Development*, 4(3), 1-5
- Bergh Ø., Børsheim K.Y., Bratbak G., Heldal M. (1989) High abundance of viruses found in aquatic environments; *Nature*, 340(6233) 467-468
- Bicking S., Burkhard B., Kruse M., Müller F. (2019) Bayesian Belief Network-based assessment of nutrient regulating ecosystem services in Northern Germany; *PLoS ONE*, 14(4), 1-25
- Bjørnsen P.K. (1988) Phytoplankton exudation of organic matter: Why do healthy cells do it?; *Limnology and Oceanography*, 33(1), 151-154
- Bodelier P.L.E. i Dedysh S.N. (2013) Microbiology of wetli s; *Frontiers in Microbiology*, 4, 1-4

- Bowen J.L., Crump B.C., Deegan L.A., Hobbie J.E. (2009) Salt marsh sediment bacteria: their distribution i response to external nutrient inputs; *ISME J*, 3, 924–934
- Bratbak G. i Thingstad T.F. (1985) Phytoplankton-bacteria interaction: An apparent paradox? Analysis of a model system with both competition and commensalism; *Marine Ecology – Progress Series*, 25, 23-30
- Buesing N., Filippini M., Bürgmann H., Gessner M.O. (2009) Microbial communities in contrasting freshwater marsh microhabitats; *FEMS Microbial Ecology*, 69(1), 84-97
- Carlson C.A. (2002) Production and Removal Processes (chapter 4); *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter* str. 91-151
- Caron D. A., Lim E. L., Miceli G., Waterbury J.B., Valois F.W. (1991) Grazing and utilization of chroococoid cyanobacteria and heterotrophic bacteria by protozoa in laboratory cultures and a coastal plankton community; *Marine Ecology – Progress Series*, 76, 205-217
- Caron, D.A. i Goldman J.C. (1990) Protozoan nutrient regeneration *Ecology of Marine Protozoa.*; Oxford University Press, New York, str. 283-306
- Cavari B. i Colwell R.R. (1988) Effect of pollution on the bacterial community structure in the coastal waters of the eastern Mediterranean sea; *Progress in Oceanography*, 21, 147-157
- Cho B.C. i Azam F. (1988) Major role of bacteria in biogeochemical fluxes in the ocean’s interior; *Nature*, 332, 441-443
- Cibić T., Franzo A., Nasi F., Auriemma R., Del Negro P. (2017) The Port of Trieste (Northern Adriatic Sea) – A Case Study of the “Ecosystem Approach to Management”; *Frontiers in Marine Science*, 4:336, 1-17
- Clarke K.R., Gorley R.N. (2006) *PRIMER v6: User Manual/Tutorial*. PRIMER-E, Plymouth.
- Cohan F.M. (2001) Bacterial Species i Speciation; *Systematic Biology*, 50(4), 513-524
- Cole J.J. Findlay S., Pace M.L. (1988) Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: A cross-system overview; *Marine Ecology – Progress Series*, 43, 1-10
- 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 Science News and Views*, 34, 1-4
- Dagg M.J. (1993) Grazing by copepod community does not control phytoplankton production in the subarctic Pacific Ocean; *Progress in Oceanography*, 32, 163-183
- Deegan L.A., Bowen J.L., Drake D., Fleeger J.W., Friedrichs C.T., Galvan K.A., Hobbie J.E., Hopkinson C., Johnson D.S., Johnson J.M., LeMay L.E., Miller E., Peterson B.J., Picard C., Sheldon S., Sutherli M., Vallino J., Warren R.S. (2007) Susceptibility of salt marshes to nutrient enrichment i predator removal; *Ecological Applications*, 17(5), S42-S63
- Ducklow H.W., Purdie D.A., Williams P.J. L., Davies J.M. (1986) Bacterioplankton: A Sink for Carbon in a Coastal Marine Plankton Community; *Science*, 232(4725), 865-867
- Ducklow H.W. i Carlson C.A. (1992) Oceanic bacterial production. U Marshall K.C., *Advances in Microbial Ecology*; Plenum Press, New York, 12, str. 113-181
- *E. coli* Infection (2023) [E. coli: What is It, How Does it Cause Infection, Symptoms & Causes \(clevelandclinic.org\)](https://www.clevelandclinic.org/health/condition/e-coli-infection) (pristupljeno: 19.siječanj 2023.)

- Fogg G.E. (1966) The extracellular products of algae; *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* 4, 195-212
- Fogg G.E. (1983) The ecological significance of extracellular products of phytoplankton; *Botanica Marina*, 26(1), 3-14
- Fuks, D., Radić J., Radić, T., Najdek, M., Blažina, M., Degobbis, D., Smodlaka, N. (2005) Relationships between heterotrophic bacteria i cyanobacteria in the northern Adriatic in relation to the mucilage phenomenon; *Science of the Total Environment*, 353, 178-188
- Fuks D., Ivančić, I., Najdek, M., Njire, J., Godrijan, J., Maric Pfannkuchen, D., Silovic, T., Paliaga, P., Blazina, M., Precali, R., Orlić, S., (2012) Changes in the planktonic community structure related to trophic conditions: The case study of the northern Adriatic Sea; *Journal of marine systems*, 96-97, 95-102
- Furhman J.A. (1999) Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects; *Nature*, 399, 541-548
- Gardner W.S. i Stephens J.A. (1978) Stability and composition of terrestrial derived dissolved organic nitrogen in continental shelf surface waters; *Marine Chemistry*, 335-342
- Hansell D.A., Carlson C.A. (1998a) Deep ocean gradients in dissolved organic carbon concentrations; *Nature*, 395, 263-266.
- Hansell, D.A. and Carlson, C.A. (1998 b) Net community production of dissolved organic carbon; *Global Biogeochemical Cycles*, 12, 443-453
- Hartman W.H., Richardson C.J., Vilgalys R., Bruli G.L. (2008) Environmental i anthropogenic controls over bacterial communities in wetli soils; *PNAS*, 105, 17842-17847
- Hedges J.I. (1992) Global biogeochemical cycles: progress and problems; *Marine Chemistry*, 39(1-3), 67-93
- Herak M., Brana S., Čehić N., Zahtila E. (2014) Zaštićene prirodne vrijednosti Istarske županije. *Natura Histrica*, Pula, str. 34
- Hoppe H.G. (1991) Microbial extracellular enzyme activity: A new key parameter in aquatic ecology; *Microbial Enzymes in Aquatic Environments*, str. 60-83
- Hypoxia, Hipoksija (2018) <https://www.dfo-mpo.gc.ca/oceans/publications/sotorceo/2012/page03-eng.html#a3> (pristupljeno 19. listopad 2022.)
- Kathilankal J.C., Mozdzer T., Fuentes J.D., D'Odorico P., McGlathery K.J., Zieman J.C. (2008) Tidal influences on carbon assimilation by a salt marsh; *Environmental Research Letters*, 3(4), 1-6
- Koepfler E., Kator H., Wetzel R., Haas L., Webb K. (1993) Spatial and temporal bacterioplankton dynamics during destratification of the James River estuary, Virginia, USA; *Marine Ecology – Progress Series*, 102, 229-244
- Kralj M., Lipizer M., Čermelj B., Fabbro C., Brunetti F., Francé J., Mozetič P., Giani M. (2019) Hypoxia i dissolved oxygen trends in the northeastern Adriatic Sea (Gulf of Trieste); *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 164, 74-88
- Krstulović N., Šolić M., Marasović I. (1997) Relationship between bacteria, phytoplankton and heterotrophic nanoflagellates along the trophic gradient: *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, 51, 433-443
- Krstulović N., Šolić M. (2006a) *Ekologija*. U: Krstulović N., Šolić M. (urednici) *Mikrobiologija mora*. Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split, str. 101-148

- Krstulović N., Šolić M. (2006b) Alohtoni mikroorganizmi mora. U: Krstulović N., Šolić M. (urednici) Mikrobiologija mora. Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split, str. 199-260
- Laanbroek H.J., Keijzer R.M., Verhoeven J.T.A., Whigham D. (2012) The distribution of ammonia-oxidizing betaproteobacteria in soils of Black mangroves (*Avicennia germinans*); *Frontiers in Microbiology*, 3, 1-11
- Linley E.A.S., Newell R.C. Bosma S.S. (1981) Heterotrophic utilization of mucilage released during fragmentation of kelp. Development of microbial communities associated with the degradation of kelp mucilage; *Marine Ecology – Progress Series*, 4, 31-41
- Lynam C.A., Bulseco A.N., Dunphy C.M., Osborne S.M., Vineis J.H., Bowen J.L. (2020) Microbial Community Response to a Passive Salt Marsh Restoration; *Estuaries and Coasts*, 43, 1439–1455
- Malačić V., Žagar N. (2019) Seawater Icicles of the Adriatic Sea; *Bulletin of the American Meteorological Society*, 100(6), 987–994
- Nagata T. (2000) Production mechanisms of dissolved organic matter. U: *Microbial Ecology of the Oceans* (urednik: Kirchman, D.L.) str. 121-152. John Wiley & Sons, New York
- Nagata, T. i Kirchman, D. L. (1992) Release of dissolved organic matter by heterotrophic protozoa; Implications for microbial foodwebs; *Archiv für Hydrobiologie, Beiheft Ergebnisse der Limnologie*, 35, 99-109.
- Ninčević Ž. (2000) Biomasa veličinskih kategorija fitoplanktona u srednjem Jadranu. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb
- NN 51/2014 (2014): Uredba o kakvoći vode za kupanje. Narodne novine, 51/2014
- Paliaga P. (2015) Accumulation and persistence of fecal pollution in the coastal area of Rovinj. Doktorski rad, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Biološki odsjek, Zagreb
- Paliaga P., Korlević M., Ivančić I., Najdek M. (2017) Limited influence of primary treated sewage waters on bacterial abundance, production and community composition in coastal seawaters; *Marine Environmental Research*, 131, 215-226
- Paliaga P., Felja I., Budiša A., Ivančić I. (2019) The Impact of a Fish Cannery Wastewater Discharge on the Bacterial Community Structure and Sanitary Conditions of Marine Coastal Sediments; *Water*, 11(12), 2566, 1-15
- Paliaga P., Budiša A., Dautović J., Djakovac T., Dutour-Sikirić M. A., Mihanović H., Supić N., Celić I., Iveša N., Buršić M., Balković I., Jurković L., Ciglencečki I. (2021) Microbial response to the presence of invasive ctenophore *Mnemiopsis leidyi* in the coastal waters of the Northeastern Adriatic; *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 259, 1-12
- Palud: ornitološki park <https://www.istra.hr/hr/doziviljaji/zelena-istra/prirodne-atrakcije/1021> (pristupljeno 12. srpanj 2022.)
- Pitkänen H., Tamminen T., Kangas P., Huttula T., Kivi K., Kuosa H., Sarkkula J., Eloheimo K., Kauppila P., Skakalsky B. (1993) Late Summer Trophic Conditions in the North-east Gulf of Finland and the River Neva Estuary, Baltic Sea; *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 37(5), 453-474
- Pokrajac A (2002) Palud - prvi zaštićeni ornitološki park u Istri, franina i Jurina: str. 45-48

- Porter K. G., Feig Y. S. (1980) The use of DAPI for identifying i counting aquatic microflora. *Limnology i Oceanography*, 25(5), 943–948
- Poseban ornitološki rezervat Palud – Palù <https://www.inforovinj.com/hrv/rovinj/znamenje/palud.asp> (pristupljeno 12. srpanj 2022.)
- Prohić L. (2010): Obilježja i usporedba močvarnih staništa u Iranu i Hrvatskoj. Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Biološki odsjek, Zagreb
- Puddu A., Zoppini A., Pettine M. (2000) Dissolved organic matter and microbial food web interactions in the marine environment: the case of the Adriatic Sea; *International Journal of Environment and Pollution*, 13(1-6) 473-494
- Sanders R.W., Caron D.A., Berninger U.G. (1992) Relationships between bacteria and heterotrophic nanoplankton in marine and fresh waters: an inter-ecosystem comparison: *Marine Ecology – Progress Series*, 86, 1-14
- Seyfferth A.L., Bothfeld F., Vargas R., Stuckey J.W., Wang J., Kearns K., Michael H.A., Guimond J., Yu X., Sparks D.L. (2020) Spatial i temporal heterogeneity of geochemical controls on carbon cycling in a tidal salt marsh; *Geochemia et Cosmochemia*, 282, 1-18
- Sherr E. i Sherr B. (1988) Roles of microbes in pelagic food webs: A revised concept; *Limnology and Oceanography*, 33, 1225-1257
- Sherr E. i Sherr B. (1994) Bacterivory and herbivory: Key roles of phagotrophic protists in pelagic food webs; *Microbial Ecology*, 28(2), 223-235
- Smith D., Simon M., Alldredge A.L., Azam F. (1992) Intense hydrolytic enzyme activity on marine aggregates and implications for rapid particle dissolution; *Nature*, 359, 139-142
- Sović T. (2017) Procjena mikrobiološkog stanja mora priobalja zapadne Istre. Završni rad, Sveučilište Jurja Dobrile u Puli, Preddiplomski sveučilišni studij Znanost o moru, Pula
- Suttle C.A., Chan A.M., Cottrell M.T. (1990) Infection of phytoplankton by viruses and reduction of primary productivity; *Nature*, 347, 467-469
- Šolić M. i Krstulović N. (2000) Resursi. U: Šolić M. i Krstulović N. (urednici) *Ekologija morskog bakterioplanktona*. Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split, str. 105-131
- Thomas C.R., Christian R.R. (2001) Comparison of nitrogen cycling in salt marsh zones related to sea-level rise; *Marine Ecology – Progress Series*, 211, 1-16
- Thurman M. (1985) *Organic Geochemistry of Natural Waters. Developments in Biogeochemistry*: Nijhoff/Junk Publishers Dordrecht
- Turk V. (1991) The pelagic microbial food web in the eastern part of the Gulf of Trieste (Northern Adriatic). Diplomski rad, Univerza v Ljubljani, Ljubljana
- Turk V., Rehnstam A.S., Lundenberg E., and Hagström Å. (1992) Release of bacterial DNA by marine nanoflagellate, an intermediate step in phosphorus regeneration; *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 58, 3744-3750
- Vukušić M. (2019) Mikrobiološka analiza vode iz Riječke luke i ušća Rječine. Završni rad, Sveučilište Jurja Dobrile u Puli, Preddiplomski sveučilišni studij Znanost o moru, Pula
- Williams P.M. (1986) Chemistry of the dissolved and particulate phases in the water column. U Eppley R.W. (urednik) *Plankton Dynamics of the Southern California Bight*. Williams, P. M. (1986). *Chemistry of the dissolved and particulate phases in the water column. Lecture Notes on Coastal and Estuarine Studies*, 15, 58-83

- Wommack K.E. i Colwell R.R. (2000) Virioplankton: Viruses in aquatic ecosystems; *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64, -114
- Wood A.M., and Van Valen L.M.V. (1990) Paradox lost? On the release of energy rich compounds by phytoplankton; *Marine Microbial Food Webs*, 4(1), 103-116
- Zavodnik N. (1967) Hydrological and ecological observations in the brackish swamp of Palu near Rovinj; *Thalassia Jugoslavica*, 3, 1-6

8. Životopis

Marin Vukušić je rođen u Rijeci, gdje je pohađao i završio osnovnu školu Srdoči te srednju Prirodoslovno – grafičku školu, smjer Prirodoslovna gimnazija. Od 2016. godine, pohađao je preddiplomski sveučilišni studij Znanosti o moru u Puli, na Odjelu za prirodne i znanstvene studije (danas Fakultet prirodnih znanosti) te je 2019. godine, braneći rad „Mikrobiološka analiza vode iz Riječke luke i ušća Rječine“, pod vodstvom mentora doc. dr. sc. Paola Paliage, stekao akademski naziv sveučilišni prvostupnik struke znanosti o moru (univ. bacc. mariscient.). Diplomski studij upisao je 2020. godine na Sveučilištu u Zagrebu, na Biološkom odsjeku, Prirodoslovno – matematičkog fakulteta, smjer Ekologija i zaštita prirode, modul: more. Tijekom diplomskog studija, bio je član Udruge studenata biologije (BIUS) te je sudjelovao na nekoliko projekata koje je BIUS organizirao – Veliki teren Žumberak 2021. i Mala škola mamalogije u Mrkoplju 2021. Također je bio jedan od organizatora projekta Mala škola mamalogije 2022. Tijekom diplomskog studija, također je odradio i stručnu praksu u Zoološkom vrtu Grada Zagreba, na odjelu za edukaciju, na kojemu se je upoznao s poslovima edukatora.

9. Prilozi

Prilog 1A: Zabilježena temperatura vode (°C) na svim postajama na području posebnog rezervata Palud - Palù tijekom sedam uzorkovanja

Postaja	25.7.2021.	1.8.2021.	8.8.2021.	15.8.2021.	27.11.2021.	26.2.2022.	7.5.2022.
P ₁	26,08	27,75	26,26	27,98	15,48	8,35	16,93
P ₂	28,31	26,51	27,70	29,48	12,09	8,62	17,70
P ₃	27,68	27,20	28,31	29,18	12,7	8,81	16,64
P ₄	28,70	26,87	28,01	28,14	12,4	8,73	16,54
P ₅	28,59	26,56	28,00	27,80	11,08	7,8	18,68
P ₆	26,01	25,96	25,80	24,29	10,9	7,5	16,72
P ₇	26,09	27,50	26,15	27,12	15,59	7,99	16,36
P ₈	26,23	27,10	26,43	25,94	15,68	8,56	15,62
P ₉	26,33	26,54	26,30	26,87	15,72	10,74	15,79

Prilog 1B: Zabilježeni salinitet vode (PSU) na svim postajama na području posebnog rezervata Palud - Palù tijekom sedam uzorkovanja

Postaja	25.7.2021.	1.8.2021.	8.8.2021.	15.8.2021.	27.11.2021.	26.2.2022.	7.5.2022.
P ₁	34,80	45,53	40,48	46,63	37,63	35,55	41,84
P ₂	49,55	52,00	42,30	50,35	35,86	33,3	44,69
P ₃	42,60	46,11	43,06	49,20	36,53	35,55	43,52
P ₄	45,39	46,60	46,02	49,43	36,37	35,59	43,78
P ₅	47,71	50,10	49,77	51,72	33,7	34,56	49,14
P ₆	43,40	43,00	46,18	47,17	30,66	30,07	43,10
P ₇	33,85	45,60	36,20	46,73	37,65	35,56	41,50
P ₈	33,78	45,60	35,54	46,68	37,65	35,7	41,60
P ₉	35,00	35,30	35,40	35,73	37,61	37,89	37,32

Prilog 1C: Zabilježeni pH vode na svim postajama na području posebnog rezervata Palud - Palù tijekom sedam uzorkovanja

Postaja	25.7.2021.	1.8.2021.	8.8.2021.	15.8.2021.	27.11.2021.	26.2.2022.	7.5.2022.
P ₁	8,06	7,81	7,76	7,86	8,18	7,90	7,80
P ₂	8,64	8,34	8,28	8,31	7,91	8,05	7,19
P ₃	7,82	7,88	7,80	7,86	8,08	7,73	7,84
P ₄	7,81	7,84	7,69	7,75	8,06	7,71	7,82
P ₅	7,76	7,84	7,70	7,64	7,96	7,64	7,70
P ₆	8,00	7,76	7,69	7,77	7,84	7,89	7,15
P ₇	8,20	7,80	7,94	7,82	8,19	7,81	7,86
P ₈	8,19	7,80	8,09	7,79	8,19	7,75	7,79
P ₉	8,24	8,23	8,15	8,27	8,20	8,12	8,15

Prilog 1D: Zabilježeno zasićenje vode kisikom (%O₂) na svim postajama na području posebnog rezervata Palud - Palù tijekom sedam uzorkovanja

Postaja	25.7.2021.	1.8.2021.	8.8.2021.	15.8.2021.	27.11.2021.	26.2.2022.	7.5.2022.
P ₁	70,20	25,70	32,10	21,70	94,20	63,70	67,90
P ₂	43,20	23,80	23,40	55,01	69,80	58,10	27,60
P ₃	65,60	47,80	44,80	33,60	94,70	55,50	73,50
P ₄	55,10	50,10	40,70	34,40	93,50	55,20	69,20
P ₅	15,10	13,20	24,30	20,40	85,00	49,80	47,20
P ₆	57,30	8,08	22,50	28,50	77,50	67,00	49,00
P ₇	72,30	35,30	48,30	31,30	91,50	67,40	71,00
P ₈	80,90	30,60	56,20	33,70	93,90	62,30	64,00
P ₉	89,00	82,70	79,30	87,20	93,80	90,30	104,00

Prilog 1E: Zabilježena koncentracija *Escherichia coli* (CFU/100 ml) u vodi na svim postajama na području posebnog rezervata Palud - Palù tijekom sedam uzorkovanja

Postaja	25.7.2021.	1.8.2021.	8.8.2021.	15.8.2021.	27.11.2021.	26.2.2022.	7.5.2022.
P ₁	20	11	24	24	8	4	13
P ₂	12	0	12	20	6	3	18
P ₃	13	52	138	16	7	5	10
P ₄	18	8	21	19	6	6	14
P ₅	7	3	19	62	11	6	31
P ₆	9	4	8	15	8	2	38
P ₇	2	13	2	14	6	2	4
P ₈	0	8	0	6	2	0	2
P ₉	0	0	0	0	0	0	0

Prilog 1F: Zabilježena koncentracija fekalnih streptokoka (CFU/100 ml) u vodi na svim postajama na području posebnog rezervata Palud - Palù tijekom sedam uzorkovanja

Postaja	25.7.2021.	1.8.2021.	8.8.2021.	15.8.2021.	27.11.2021.	26.2.2022.	7.5.2022.
P ₁	23	52	63	11	10	7	14
P ₂	34	72	23	73	7	6	28
P ₃	16	55	27	40	12	9	8
P ₄	29	46	50	20	14	8	17
P ₅	35	80	47	13	18	12	44
P ₆	32	19	13	8	7	8	68
P ₇	2	12	5	9	2	4	5
P ₈	1	10	1	7	1	0	3
P ₉	1	2	0	2	0	0	0

Prilog 1G: Zabilježena koncentracija heterotrofnih prokariota ($\times 10^6$ stanica/ml) u vodi na svim postajama na području posebnog rezervata Palud - Palù tijekom sedam uzorkovanja

Postaja	25.7.2021.	1.8.2021.	8.8.2021.	15.8.2021.	27.11.2021.	26.2.2022.	7.5.2022.
P ₁	2,409	5,299	2,887	6,690	2,583	0,869	5,892
P ₂	4,594	9,032	4,918	7,079	5,632	3,546	8,266
P ₃	2,877	6,624	3,492	5,075	3,977	1,411	5,899
P ₄	2,556	7,380	4,080	10,943	4,116	1,563	5,352
P ₅	5,908	10,973	5,823	10,370	2,942	4,215	13,402
P ₆	3,882	7,987	3,030	16,511	1,029	0,936	10,331
P ₇	1,793	5,103	1,600	4,892	2,065	0,535	4,107
P ₈	0,823	3,049	0,763	2,809	1,365	0,451	3,855
P ₉	0,535	0,461	0,588	0,782	0,742	0,324	0,488

Prilog 1H: Zabilježena koncentracija heterotrofnih nanoflagelata ($\times 10^3$ stanica/ml) u vodi na svim postajama na području posebnog rezervata Palud - Palù tijekom sedam uzorkovanja

Postaja	25.7.2021.	1.8.2021.	8.8.2021.	15.8.2021.	27.11.2021.	26.2.2022.	7.5.2022.
P ₁	36,837	45,837	21,982	54,242	11,462	2,674	134,55
P ₂	40,219	40,146	38,273	64,143	19,906	17,842	123,2
P ₃	31,367	78,871	35,002	77,471	12,397	4,46	96,353
P ₄	34,009	87,202	37,082	44,752	12,553	4,187	77,632
P ₅	57,275	68,942	44,012	94,792	3,463	35,127	230,173
P ₆	28,978	41,988	34,234	36,249	0,744	1,338	58,153
P ₇	15,009	40,113	18,433	29,734	6,364	4,806	28,237
P ₈	14,208	20,113	6,839	18,644	4,533	1,764	23,953
P ₉	12,384	8,029	5,992	6,682	3,18	1,04	2,23

Prilog 1I: Zabilježena koncentracija cijanobakterija ($\times 10^4$ stanica/ml) u vodi na svim postajama na području posebnog rezervata Palud - Palù tijekom sedam uzorkovanja

Postaja	25.7.2021.	1.8.2021.	8.8.2021.	15.8.2021.	27.11.2021.	26.2.2022.	7.5.2022.
P ₁	1,172	1,617	1,872	6,196	2,783	1,227	1,507
P ₂	0,078	1,193	0,659	6,189	2,072	0,094	2,684
P ₃	1,422	0,973	0,943	4,015	1,407	0,891	2,488
P ₄	1,042	0,888	0,913	0,457	1,543	0,855	1,364
P ₅	0,672	1,215	0,853	1,899	0,068	0,034	2,420
P ₆	0,053	1,133	1,092	0,899	0,092	0,418	1,366
P ₇	2,534	1,945	1,193	8,930	2,963	0,780	1,063
P ₈	8,239	3,442	7,129	8,324	3,753	0,913	1,553
P ₉	12,706	10,705	8,936	9,387	3,920	1,050	1,840

Prilog 2A: Standardi za ocjenu kakvoće mora za kupanje nakon svakog ispitivanja. Preuzeto i prilagođeno iz NN 51/2014

Pokazatelj	Kakvoća mora			Metoda ispitivanja
	Izvrсна	Dobra	Nezadovoljavajuća	
Crijevni enterokoki (CFU/100 ml)	≤ 200	≤ 400	>400	HRN EN ISO 7899-1 ili HRN EN ISO 7899-2
<i>Escherichia coli</i> (CFU/100 ml)	≤ 500	≤ 1000	>1000	HRN EN ISO 9308-1 ili HRN EN ISO 9308-3

Prilog 2B: Standardi za ocjenu kakvoće mora na kraju sezone kupanja i za prethodne tri sezone kupanja. Preuzeto i prilagođeno iz NN 51/2014

Pokazatelj	Izvrсна	Dobra	Zadovoljavajuća	Nezadovoljavajuća	Metoda ispitivanja
Crijevni enterokoki (CFU/100 ml)	≤ 200*	≤ 400*	≤ 330**	> 330**	HRN EN ISO 7899-1 ili HRN EN ISO 7899-2
<i>Escherichia coli</i> (CFU/100 ml)	≤ 500*	≤ 1000*	≤ 900**	> 900**	HRN EN ISO 9308-1 ili HRN EN ISO 9308-3

(*) Temeljeno na vrijednosti 95-og percentila

(**) Temeljeno na vrijednosti 90-og percentila