

# Akumulacija i postojanost fekalnoga onečišćenja u rovinjskom priobalju

---

**Paliaga, Paolo**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2015**

*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:217:488787>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-18**



*Repository / Repozitorij:*

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





Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
GEOLOŠKI ODSJEK

Paolo Paliaga

AKUMULACIJA I POSTOJANOST  
FEKALNOGA ONEČIŠĆENJA U  
ROVINJSKOM PRIOBALJU

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2015.



University of Zagreb  
FACULTY OF SCIENCE  
DEPARTMENT OF GEOLOGY

Paolo Paliaga

ACCUMULATION AND PERSISTENCE  
OF FECAL POLLUTION IN THE  
COASTAL AREA OF ROVINJ

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2015



Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
GEOLOŠKI ODSJEK

Paolo Paliaga

AKUMULACIJA I POSTOJANOST  
FEKALNOGA ONEČIŠĆENJA U  
ROVINJSKOM PRIOBALJU

DOKTORSKI RAD

Mentori: dr. sc. Mirjana Najdek Dragić  
dr. sc. Dragica Fuks

Zagreb, 2015.



University of Zagreb  
FACULTY OF SCIENCE  
DEPARTMENT OF GEOLOGY

Paolo Paliaga

ACCUMULATION AND PERSISTENCE  
OF FECAL POLLUTION IN THE  
COASTAL AREA OF ROVINJ

DOCTORAL THESIS

Supervisor: dr. sc. Mirjana Najdek Dragić  
dr. sc. Dragica Fuks

Zagreb, 2015

Ovaj doktorski rad je izrađen u Laboratoriju za morsku mikrobnu ekologiju Centra za istraživanje mora Instituta Ruđer Bošković u Rovinju, pod vodstvom dr. sc. Mirjane Najdek Dragić i dr.sc. Dragice Fuks, u sklopu Sveučilišnog poslijediplomskog doktorskog studija Oceanologije pri Geološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

## ZAHVALA

Od srca zahvaljujem

.. mentorici dr.sc. Mirjani Najdek Dragić na uvođenju u znanstveno-istraživački rad, stručnoj pomoći, konstantnoj potpori u svakom segmentu posla i uglednom primjeru profesionalnosti i ljudskosti.

.. mentorici dr.sc. Dragici Fuks koja me je pratila u prvim koracima znanstvenog rada i sa mnogo strpljenja i marljivosti uvela u svijet mikrobne ekologije i epifluorescentne mikroskopije.

.. dr.sc. Ingrid Ivančić za stručni i znanstveni doprinos u interpretaciji i obradi podataka, kvalitetne savjete te veliku pomoć na terenu i u laboratoriju.

..prof. Mladenu Šoliću i prof. Maledenu Juračiću na korisnim kritikama i savjetima.

..dr.sc. Tini Šilović, dr.sc. Marinu Korleviću, dr.sc. Mariji Blažini i dipl. ing. Kseniji Matošović za konstruktivne znanstvene rasprave, stručnu pomoć i lijepu suradnju.

..dipl.ing. Ugu Ušiću, dipl.ing. Paolu Krelji i dipl.ing. Darku Ferenčeviću koji su mi jako pomogli oko izvođenja terenskog dijela istraživanja.

..dipl.ing. Igoru Felji iz laboratorija Geološko-paleontološkog zavoda na PMF-u u Zagrebu za stručnu pomoć i odličnu suradnju.

..Dariju Devescoviju i posadi istraživačkog broda "Vila Velebita" na zajedničkom radu tijekom uzorkovanja.

..svim cijenjenim kolegama iz Centra za istraživanje mora u Rovinju na suradnji i podršci.

..Odvodnji Rovinj-Rovigno d.o.o., Lučkoj upravi grada Rovinja i Tvornici za preradu ribe "Mirna" na ustupljenim podacima i pomoći tijekom uzorkovanja.

..Ministarstvu znanosti, obrazovanja i športa RH i Talijanskoj Uniji za financijsku potporu.

..mojoj obitelji, Ivani B. i svim pravim prijateljima koji su me ohrabрили, podržali i pomogli kada je trebalo.

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Geološki odsjek

Doktorski rad

**AKUMULACIJA I POSTOJANOST FEKALNOGA ONEČIŠĆENJA U  
ROVINJSKOM PRIOBALJU**

Paolo Paliaga

Centar za istraživanje mora, Institut Ruđer Bošković, G. Paliage 5, Rovinj

Fekalno onečišćenje važan je ekološki problem priobalnih područja koji utječe na ekosustav i ugrožava ljudsko zdravlje. Akumulacija i postojanost fekalnoga onečišćenja istraženi su u vodenom stupcu i sedimentu tri rovinjske uvale izložene različitim vrstama i količinama otpadnih voda. Razina fekalnog onečišćenja kvantificirana je pomoću bakterijskih indikatora i fekalnih sterola. Raspodjela otpadnih voda oko glavnog kanalizacijskog ispusta u uvali Cuvi ovisila je o udaljenosti od ispusta, volumenu ispuštenih voda, trenutnom strujanju i prisutnosti termokline. Bakterijski indikatori i fekalni steroli bili su značajno korelirani iako se njihov odnos mijenjao sezonski. Fekalna kontaminacija je registrirana u radiusu od 300 m oko ispusta. Sezonske promjene brojnosti heterotrofnih bakterija i produkcije bile su vrlo slične kao i na neonečišćenom području, uz blago povećanje brojnosti i brzine dijeljenja na ispustu. U uvali Valdibora izloženoj utjecaju ispusta tvornice za preradu ribe, unatoč deset puta manjem volumenu u odnosu na ispust u uvali Cuvi razine onečišćenja bile su usporedive. Brojnost heterotrofnih bakterija je bila najveća oko industrijskog ispusta, dok je brzina dijeljenja bakterijskih stanica bila izrazito niska. Granulometrijski sastav površinskih sedimenata (0-5 cm) bio je izmijenjen u odnosu na dublje sedimente (5-10 cm) u krugu od 300 m oko glavnog kanalizacijskog ispusta. U blizini ispusta koprostanol je najvećim dijelom bio vezan za frakciju vrlo sitnog pijeska. Otpadne vode iz tvornice za preradu ribe stvorile su izražene anoksične uvjete u sedimentu koji su pogodovali dijagenetskom procesu nastanka koprostanola. U sedimentima južne luke, izloženim ispuštanju sa brodova i jahti razina fekalnog onečišćenja je bila niska.

(94 stranica, 44 slike, 3 tablice, 123 literaturnih navoda, 6 priloga, jezik izvornika hrvatski)

**Ključne riječi:** kanalizacijski ispusti, fekalni steroli, fekalne bakterije, vodeni stupac, morski sediment, sjeverni Jadran.

Mentori: Dr.sc. Mirjana Najdek Dragić, znanstvena savjetnica

Dr.sc. Dragica Fuks, viša znanstvena suradnica

Ocjenjivači: Prof. dr. sc. Mladen Šolić, znanstveni savjetnik

Prof. dr. sc. Mladen Juračić, redoviti profesor

Dr. sc. Ingrid Ivančić, viša znanstvena suradnica

## BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Geology

Doctoral thesis

### **ACCUMULATION AND PERSISTENCE OF FECAL POLLUTION IN THE COASTAL AREA OF ROVINJ**

Paolo Paliaga

Centre for Marine Research, Ruđer Bošković Institute, G. Paliaga 5, Rovinj

Fecal contamination represents an important problem for coastal areas that affects the ecosystem and poses a threat to human health. The accumulation and persistence of fecal pollution was analyzed in the sediments and waters along the coast of Rovinj from 3 bays exposed to different types and amounts of sewage effluents. The level of sewage contamination was quantified using fecal indicator bacteria and fecal sterols. The distribution of waste waters around the main sewage outfall in Cuvi bay depended on the distance from the outfall, the volume discharged, the momentary currents and the presence of the thermocline. Fecal indicator bacteria and sterols were strongly correlated but their relation changed from season to season. Fecal contamination was detected in a radius of 300 m from the outfall. Seasonal changes of the abundance and production of heterotrophic bacteria were very similar in the contaminated and uncontaminated areas with a limited increase in the abundance and production close to the outfall. In the bay of Valdibora, influenced by a fish cannery effluent around 10 times smaller than the outfall in Cuvi bay the levels of contamination were comparable. The abundance of heterotrophic bacteria was the largest around the industrial outfall, while the specific rate of replication was very low. The grain-size composition of surface sediment (0-5cm) was altered in comparison to the less contaminated deeper sediment (5-10 cm) in a radius of 300 m around the main sewage outfall. At the sewage disposal site, coprostanol was predominantly associated with very fine sand. The fish cannery effluent, created highly anoxic conditions in the sediment that favored the diagenetic formation of coprostanol. The sediments from the southern harbor, exposed only to boat and yacht effluents displayed very low levels of fecal contamination.

(94 pages, 44 figures, 3 tables, 6 appendices, 123 references, original in Croatian)

Key words: sewage outfalls, fecal sterols, fecal indicator bacteria, water column, marine sediment, northern Adriatic

Supervisors: Dr. sc. Mirjana Najdek Dragić, senior scientist

Dr.sc. Dragica Fuks, senior scientific associate

Reviewers: Prof. dr. sc. Mladen Šolić, senior scientist

Prof. dr. sc. Mladen Juračić, full professor

Dr. sc. Ingrid Ivančić, senior scientific associate

*Mom bratu.*

## Sadržaj

1. Uvod .....	1
2. Ciljevi i hipoteze istraživanja .....	3
3. Literaturni pregled .....	4
3.1. Metode za određivanje sanitarne kvalitete mora .....	4
3.2. Mikrobiološki indikatori fekalnoga onečišćenja .....	5
3.2.1. Kemijski indikatori fekalnoga onečišćenja.....	9
3.2.2. Molekularne metode za praćenje fekalnoga onečišćenja .....	13
3.3. Utjecaj kanalizacije i odlaganje otpada na morske bakterijske zajednice .....	15
4. Područje istraživanja.....	22
4.1. Priobalje Rovinja .....	22
4.2. Uvala Cuvi.....	23
4.3. Uvala Valdibora.....	24
4.4. Južna luka .....	26
5. Materijali i metode.....	27
5.1. Uzorkovanje .....	27
5.2. Abiotički parametri .....	29
5.3. Sanitarna kvaliteta mora.....	29
5.4. Sanitarna kvaliteta sedimenta.....	30
5.5. Granulometrijski sastav sedimenta .....	30
5.6. Redoks potencijal sedimenta .....	31
5.7. CHN analiza sedimenta.....	31
5.8. Analiza sterola u vodenom stupcu i sedimentu .....	32
5.9. Brojnost heterotrofnih bakterija u moru.....	33
5.10. Brzina ugradnje timidina i leucina u heterotrofne bakterije.....	33

6. Rezultati .....	34
6.1. Uvala Cuvi vodeni stupac .....	34
6.1.1. Opći hidrografski uvjeti.....	34
6.1.2. Hranjive soli.....	36
6.1.3. Sanitarna kvaliteta mora .....	39
6.1.4. Brojnost heterotrofnih bakterija.....	41
6.1.5. Bakterijska proizvodnja.....	43
6.1.6. Fekalni steroli .....	45
6.2. Uvala Valdibora vodeni stupac.....	49
6.2.1. Opći hidrografski uvjeti.....	49
6.2.2. Sanitarna kvaliteta mora .....	50
6.2.3. Brojnost heterotrofnih bakterija.....	52
6.2.4. Bakterijska proizvodnja.....	55
6.3. Sediment (Cuvi, Valdibora i Južna luka) .....	56
6.3.1. Elementarni sastav, granulometrija i redox potencijal.....	56
6.3.2. Sanitarna kvaliteta sedimenta .....	59
6.3.3. Fekalni steroli u sedimentu.....	61
6.3.4. Analiza glavnih komponenata (PCA) .....	66
7. Rasprava.....	70
7.1. Vodeni stupac .....	70
7.2. Sediment.....	77
8. Zaključci .....	82
9. Literatura.....	84
10. Prilozi.....	I
11. Životopis .....	XIX
11.1. Popis objavljenih znanstvenih radova u cc časopisima .....	XX
	VII

11.2. Popis objavljenih znanstvenih radova u drugim časopisima.....	XX
11.3. Popis sažetaka u zbornicima skupova.....	XXI
11.4. Popis neobjavljenih sudjelovanja u zbornicima skupova.....	XXI

## 1. Uvod

Priobalna područja su kompleksni ekosustavi koji imaju istovremeno visoku ekološku, gospodarsku, socijalnu i kulturnu vrijednost (Carter, 1989; UNEP, 2008). Ispuštanje kanalizacijskih otpadnih voda jedan je od glavnih problema morskog okoliša na globalnoj skali koji direktno ugrožava priobalne sustave (Adingra i Arfi, 1998; Braga i sur., 2000, Aslan-Yilmaz i sur., 2004; Garrido-Perez i sur., 2008). Neobrađene ili primarno obrađene otpadne vode, kakva je većina na našoj obali, obiluju visokim udjelima patogenih mikroorganizama, organskog materijala i anorganskih soli (UN, 2015). Unosom patogena u morsku okolinu povećava se mogućnost širenja infekcija i bolesti kod ljudi i životinja, direktno kroz morsku vodu i sediment ili indirektno kroz prehrambeni lanac (Krstulović i sur., 2006). Unos organske tvari i anorganskih soli, osim što često narušava estetski izgled prihvatnog mora, može značajno utjecati na funkcioniranje hranidbene mreže i u ekstremnim slučajevima dovesti do cvjetanja mora, hipoksije, anoksije i eutrofikacije (Chisholm i sur., 1997; Soltan i sur., 2001, Savage i sur., 2002; Gücker i sur., 2006; Mozetić i sur., 2008). Prema tome praćenje procesa akumulacije fekalnog onečišćenja u moru i odgovor ekosustava na ovaj antropogeni pritisak predstavljaju važan korak u očuvanju okoliša i gospodarskih aktivnosti vezanih uz more.

U ovom istraživanju analizirani su uzorci sedimenta i morske vode na tri lokacije rovinjskog akvatorija pod utjecajem različitih ispusta otpadnih voda; kanalizacijskih, industrijskih i oborinskih. Koristeći mikrobiološke i kemijske indikatore kvantificirana je razina fekalnog onečišćenja, te je praćeno njegovo širenje i zadržavanje u morskom okolišu. Analizom profila i omjera sterolnih markera identificirani su specifični tragovi različitih izvora onečišćenja u okolišu, stupanj obrade i starost fekalnog materijala te odvijanje procesa oksidacije i redukcije u sedimentu. Uz to, istražena je uloga određenih parametara okoliša poput strujanja, stratifikacije vodenog stupca, kao i granulometrijskog sastava, sadržaja organske tvari i redox potencijala sedimenta na transport, razgradnju i zadržavanje fekalnog materijala u moru. Za procjenu utjecaja otpadnih voda na morski ekosustav analiziran je odgovor bakterijske zajednice putem njihove brojnosti i aktivnosti duž gradijenta onečišćenja u različitim sezonama. Bakterije su odabrane zato što su sveprisutne u moru, brzo odgovaraju na promjene u okolišu i najbrojnija su komponenta mikrobne zajednice (Sanders i sur., 1992)

koja predstavlja jedan od temelja cijele hranidbene mreže i procesa recikliranja organske tvari u moru (Cavari i Colwell, 1988).

## 2. Ciljevi i hipoteze istraživanja

Ciljevi istraživanja:

- 1) Doprinijeti općem razumijevanju učinka širenja otpadnih voda na sanitarnu kvalitetu mora na primjeru rovinjskog priobalnog područja.
- 2) Utvrditi sezonsku dinamiku morskih heterotrofnih bakterija te njihove povezanosti s fizičkim i kemijskim parametrima okoliša pod utjecajem otpadnih voda.
- 3) Istražiti čimbenike koje utječu na postojanost i akumulaciju fekalnog onečišćenja u moru.

Hipoteze:

- 1) Mikrobne zajednice u područjima pod utjecajem različitog onečišćenja (urbanog i industrijskog) pokazati će različite aktivnosti, strukturu i raspodjelu.
- 2) Uvjeti u okolišu poput hidrodinamike vodenog stupca, granulometrijskog sastava sedimenta, te njegovog redoks potencijala značajno utječu na akumulaciju i postojanost fekalnih otpadnih tvari.

### 3. Literaturni pregled

#### 3.1. Metode za određivanje sanitarne kvalitete mora

Patogeni mikroorganizmi kvantitativno su najznačajnija kategorija mikroorganizama koja dopijeva u more putem otpadnih voda (Krstulović i sur., 2006). U ovu skupinu spadaju bakterije, virusi, gljivice i protisti koji su uzročnici širokog spektra bolesti poput kolere, tifusa, dizenterije, gastroenteritisa, hepatitisa te raznih infekcija i mikoza (Krstulović i sur., 2006). Brojnost i raznolikost patogena prisutnih u vodama ovisi o broju ljudi koji gravitira na određenom području, sezonskoj zastupljenosti određenih bolesti i rasprostranjenosti patogena unutar zajednice (Pipes, 1982). Preživljavanje patogena u moru općenito je relativno kratko i kreće se od nekoliko sati do nekoliko dana za bakterije, a za viruse i protiste i do nekoliko tjedana (Mitchell i Morris, 1969; Faust i sur., 1975; Fujioka i sur., 1981). Dio patogenih mikroorganizama može se akumulirati u morskim organizmima, posebno u filtratorima kao što su školjkaši, te na taj način doseći znatno više koncentracije nego u okolnoj vodi. Stoga, pored zaraze direktnim kontaktom kupaca s onečišćenom morskom vodom moguća je i zaraza konzumiranjem hrane iz mora. Prema tome, pri korištenju mora za rekreaciju i proizvodnju hrane potrebno je odrediti sanitarnu kvalitetu mora, odnosno kriterije prema kojima se može procijeniti potencijalni rizik zaraze patogenim mikroorganizmima. Sanitarna se kvaliteta mora prati pomoću indikatora koji mogu biti mikrobiološki, kemijski i molekularni.

Indikatori u onečišćenom mediju moraju biti prisutni u koncentraciji koja je proporcionalna koncentraciji patogena. Brzina detekcije i kvantifikacije kao i izostanak patogenosti za čovjeka su također važne osobine indikatora. Ako se radi o mikrobnim indikatorima, ne smiju se razmnožavati u mediju gdje se mjere, a vrijeme njihovog preživljavanja mora biti slično vremenu preživljavanja patogena kojeg se prati. U teoriji, najbolji indikatori su oni koji pomoću epidemioloških studija pokazuju najveći stupanj korelacije sa stupnjem rizika za ljudsko zdravlje (Ashbolt, 2001). Epidemiološke studije provedene su samo za mali broj mikrobioloških indikatora i često s kontradiktornim rezultatima (Ashbolt, 2001), stoga za većinu indikatora postoje samo pretpostavke dobre korelacije s patogenim mikroorganizmima.

### 3.2. Mikrobiološki indikatori fekalnoga onečišćenja

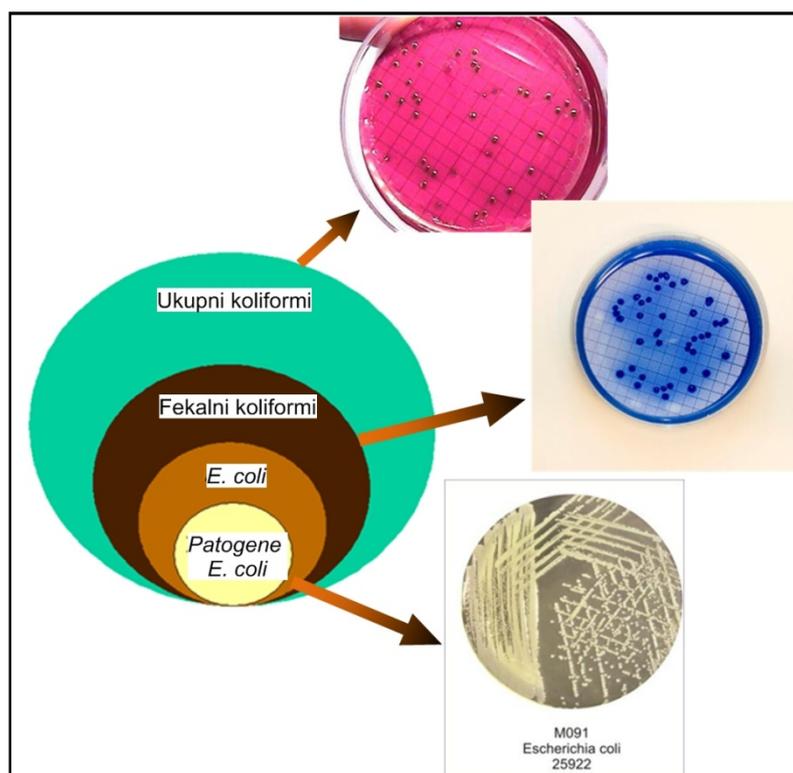
Mikrobiološki indikatori za određivanje sanitarne kvalitete vode koriste se od kraja devetnaestog stoljeća kada je prepoznata sanitarna važnost raznih skupina bakterija poput koliforma i streptokoka koji predstavljaju tzv. klasične indikatore fekalnog onečišćenja (Ashbolt, 2001).

Skupine fekalnih koliforma (**Error! Reference source not found.**) i streptokoka (Slika 2.) su kvantitativno povezane s fekalnim materijalom (Ashbolt, 2001) budući da prosječan čovjek preko fekalija dnevno oslobađa u okoliš oko  $10^{11}$  mikroorganizama, među kojima ima oko  $2 \times 10^9$  koliforma i  $5 \times 10^8$  streptokoka (Ashbolt i sur., 2001). Zbog toga se ove bakterije univerzalno koriste za određivanje sanitarne kvalitete mora, a prema njima se određuju standardi kvalitete vode u cijelom svijetu.

Ukupni koliformi korišteni su dugi niz godina kao glavni pokazatelj sanitarne kvalitete vode za piće, rekreaciju i uzgoj školjaka. Oni predstavljaju skupinu aerobnih i fakultativno anaerobnih Gram-negativnih, nesporogenih štapića koji fermentiraju laktozu na temperaturi od  $35^{\circ}\text{C}$  i pri tome u razdoblju od 24 sata proizvode kiselinu i plin. U ovu skupinu spadaju rodovi *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* i *Enterobacter*. U zadnjem desetljeću ova skupina indikatora se sve rjeđe koristi zato što uključuje i bakterije ne-fekalnog porijekla. Također, visoke koncentracije ukupnih koliforma mogu biti utvrđene u uzorcima mora kao rezultat ispiranja velikih količina tla s kopna nakon obilnih kiša (Krstulović i sur., 2006). Uz to, neki koliformi imaju sposobnost razmnožavanja u prirodnim vodama te mogu pokazati lažno onečišćenje. S obzirom na vrlo kratko preživljavanje ukupnih koliforma u morskom okolišu, prisutnost ovih indikatora ukazuje isključivo na svježeg onečišćenje fekalnim materijalom ili tlom.

Fekalni koliformi su podskupina ukupnih koliforma koja pokazuje direktnu povezanost s fekalnim materijalom toplokrvnih životinja (Figueras i sur., 2000). Uključuju rodove *Klebsiella* i *Escherichia* (Dufour, 1977), a definirani su kao aerobni i fakultativno anaerobni Gram-negativni nesporogeni štapići koji fermentiraju laktozu na temperaturi od  $44,5^{\circ}\text{C}$  i pri tome u razdoblju od 24 sata proizvode kiselinu i plin (Krstulović i sur., 2006). Kao i ukupni koliformi, fekalni koliformi su indikatori svježeg onečišćenja, međutim smatraju se boljim pokazateljima zbog specifičnosti porijekla i minimalne mogućnosti razmnožavanja

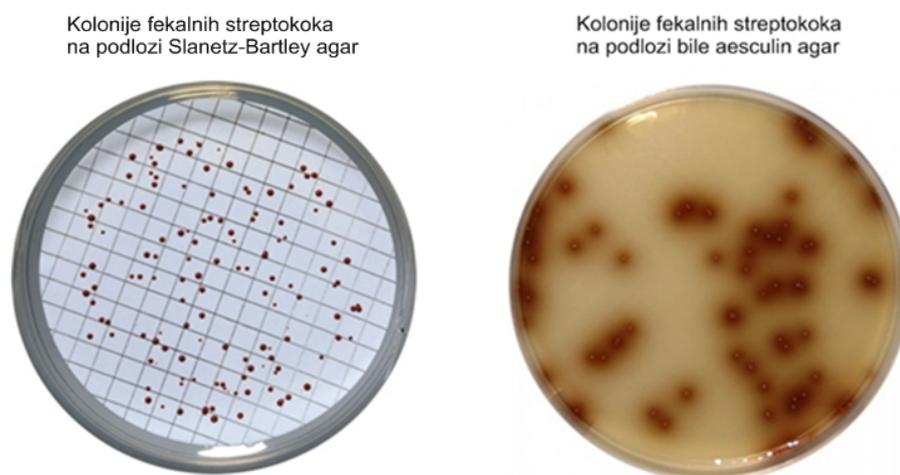
u morskom okolišu. Iz skupine fekalnih koliforma najzastupljenija je bakterija *Escherichia coli*, autohtoni stanovnik ljudskog probavila koji čini između 75% i 95% ukupnog broja fekalnih koliforma (Ashbolt i sur., 2001). Budući da su epidemiološke studije pokazale njenu usku povezanost s gastroenteričnim bolestima (Glassmeyer i sur., 2005) ona se danas sve češće koristi umjesto ukupnih i fekalnih koliforma.



Slika 1. Skupine koliforma.

Fekalni streptokoki ili crijevni enterokoki uključuju rodove *Enterococcus* i *Streptococcus* (Holt i sur., 1993). Ove bakterije su Gram-pozitivne i često dolaze u parovima ili kratkim lancima dok je oblik stanica izduženi ili ovalni. S obzirom da su fekalni streptokoki najčešće porijeklom iz crijeva toplokrvnih organizama, njihova prisutnost u morskom okolišu također ukazuje na onečišćenje fekalnim materijalom. Međutim ove bakterije mogu se naći i u nekim biljkama, u crijevima riba kao i biljnim proizvodima, što znači da bi otpadne vode prehrambene industrije mogle biti nefekalni izvor streptokoka u moru (Krstulović i sur., 2006). Fekalni streptokoki su relativno otporni na morsku vodu i

preživljavaju duže u odnosu na koliforme (Evison i sur., 1980). Zbog te su osobine fekalni streptokoki pokazatelji nešto starijeg onečišćenja u usporedbi s drugim indikatorima. Dodatno, fekalni streptokoki mogu pružiti i neke informacije o izvoru onečišćenja s obzirom da određene vrste unutar ove skupine imaju specifične domaćine. Na taj način je moguće, utvrđivanjem kvalitativnog sastava fekalnih streptokoka, razlikovati da li je određeni izvor fekalnog otpada humanog ili životinjskog porijekla.



Slika 2. Kolonije fekalnih streptokoka na selektivnim podlogama.

Kao pokazatelj porijekla fekalnog onečišćenja koristi se i omjer koncentracija fekalnih koliforma (FK) i fekalnih streptokoka (FS). Omjer FK/FS koji je manji od 0,7 pokazatelj je onečišćenja životinjskog porijekla, dok je omjer FK/FS veći od 4,0 pokazatelj ljudskog porijekla fekalnog materijala. Ovi odnosi vrijede isključivo za svježi fekalni otpad koji nije stariji od 24 sata (Krstulović i sur., 2006). Omjer između broja fekalnih koliforma i fekalnih streptokoka može biti i pokazatelj udaljenosti mjesta uzorkovanja od izvora onečišćenja ili pokazatelj vremena koje je prošlo od dolaska otpadnih voda fekalnog porijekla na mjesto uzorkovanja.

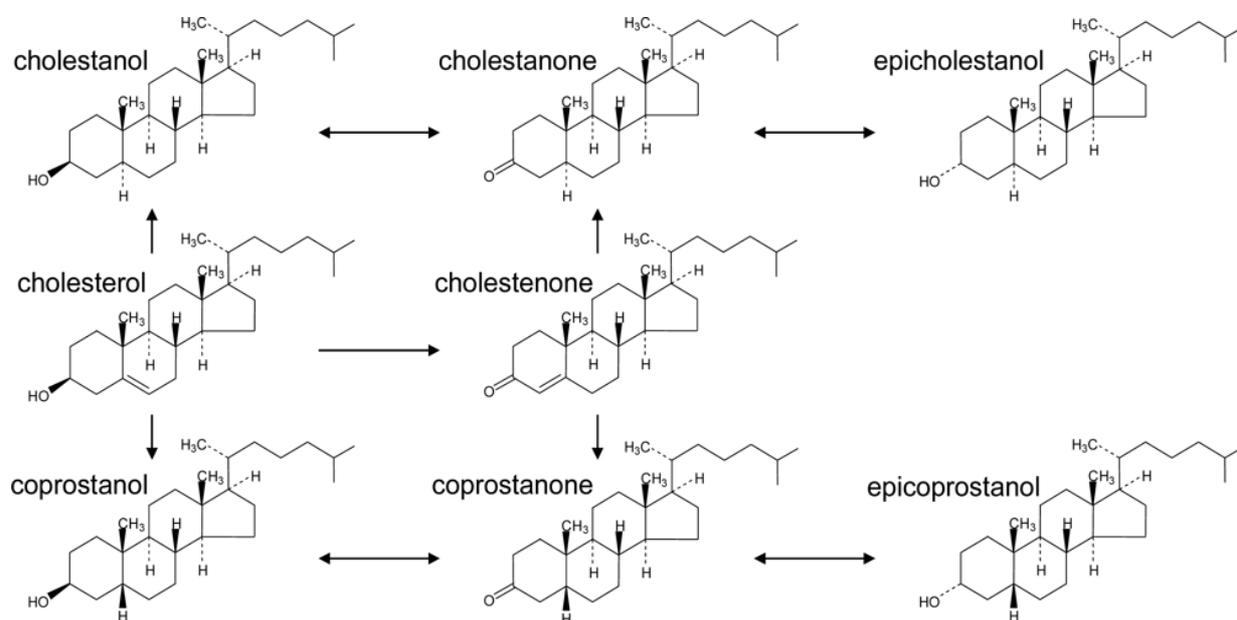
Osim klasičnih indikatora postoje i alternativni mikrobiološki indikatori koji uključuju viruse bakteriofage i određene skupine anaerobnih bakterija poput rodova *Clostridium*, *Bacteroides* i *Bifidobacterium*. Danas se bakteriofagi, osobito kolifagi (virusi koji inficiraju bakteriju *E. coli*), koriste kao indikatori efikasnosti procesa obrade otpadnih voda u kojima se

deaktiviraju patogeni. Među anaerobnim enteričnim bakterijama vrsta *Clostridium perfringens* (Scott i sur., 2002) prisutna je samo u fecesima ljudi, pasa i svinja i tvori spore koje joj omogućavaju znatno duže preživljavanje u moru u usporedbi s koliformima. Stoga je ova bakterija preporučena kao pokazatelj starijeg onečišćenja i kao indikator za prisutnost virusa i protista iz otpadnih voda.

### 3.2.1. Kemijski indikatori fekalnoga onečišćenja

U zadnjih trideset godina razvijene su razne kemijske metode određivanja fekalnog onečišćenja mora koje su neovisne o bakterijskom rastu i preživljavanju, te direktno pokazuju prisutnost fekalnog materijala. Ove metode omogućavaju identifikaciju izvora i kvantifikaciju razine onečišćenja (Seguel i sur., 2001). Kemijski indikatori fekalnog onečišćenja mogu biti proizvedeni u ljudskom tijelu, samo prolaziti kroz ljudsko tijelo ili biti prisutni u sustavu otpadnih voda (Glassmeyer i sur., 2005).

Koprostanol i povezani steroli (Slika 3.) se često primjenjuju kao organski molekularni markeri za procjenu razine onečišćenja i za identifikaciju izvora kontaminacije u vodenom stupcu i u sedimentu. Koprostanol nastaje mikrobiološkom redukcijom kolesterola u tankom crijevu toplokrvnih organizama i predstavlja 60% svih sterola u ljudskom izmetu (Nichols i sur., 1996; Martins i sur., 2007).



Slika 3. Strukture i transformacije glavnih fekalnih sterola (Furey i sur., 2007).

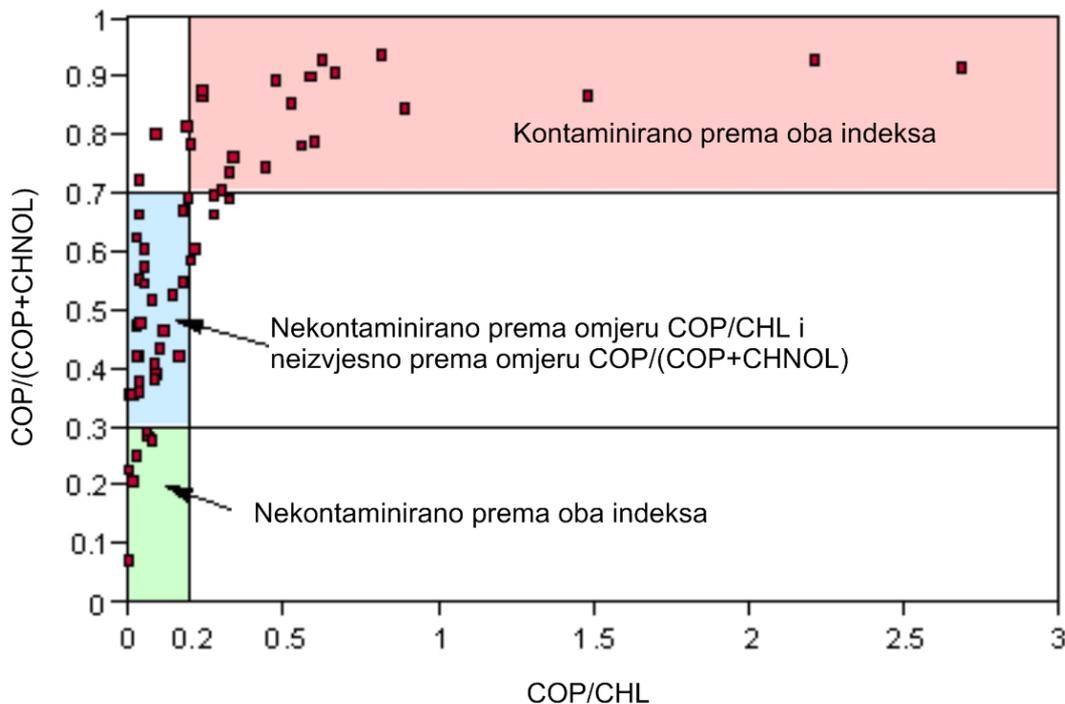
Stopa pretvorbe kolesterola u koprostanol ovisi o vrsti ljudske prehrane te je općenito dosta visoka (Glassmeyer i sur., 2005). Prosječna osoba svakodnevno izluči oko jedan gram koprostanola (Walker i sur., 1982) koji može završiti u moru putem kanalizacijskog sustava. U vodenom okolišu uz prisutnost kisika dolazi do mikrobne razgradnje koprostanola (Isobe i sur., 2002). Prosječno vrijeme zadržavanja ovog indikatora u vodenom stupcu iznosi oko 10 dana na 20°C i njegova prisutnost može ukazati na recentno onečišćenje (Savichtcheva i sur., 2006). Budući da je koprostanol hidrofoban, ima tendenciju povezivanja s partikulatnim materijalom u otpadnim vodama (Takada i sur., 1994). Taloženjem partikulatne tvari dolazi do ugradnje koprostanola u sedimente gdje se u anaerobnim uvjetima može dugoročno očuvati (Isobe i sur., 2002). Na stupanj očuvanja utječu sveukupni sadržaj organske tvari i granulometrijski sastav sedimenta (Hawkins i sur., 1995). U anaerobnim uvjetima može doći i do *in situ* proizvodnje ovog sterola redukcijom iz kolesterola, čak i u neonečišćenim područjima (Grimalt i sur., 1990). Koncentracije koprostanola u sedimentu onečišćenih područja pokazuju široki spektar vrijednosti (od najmanje 0,02 µg/g do najviše 390 µg/g) i ne postoji još pravi konsenzus među znanstvenicima o razini koncentracije koprostanola koju se smatra indikativnom za onečišćenje okoliša (Carreira i sur., 2004). U nekoliko studija (Dutka i sur., 1975; Leeming i sur., 1997; Isobe i sur., 2002) analizirane su korelacije između koncentracija klasičnih bakterijskih indikatora i koncentracija koprostanola u vodama (Tablica 1.). Rezultati su pokazali da se one mijenjaju u različitim klimatskim uvjetima. Razlike koje su uočene mogu se objasniti kao posljedica drugačijeg preživljavanja indikatorskih mikroorganizama u raznim klimama (Isobe i sur., 2002).

Tablica 1. Usporedba koncentracija fekalnih koliforma i koprostanola u onečišćenim vodama.

Hladna klima	500 ng/l	200 CFU (koliforma)/100 ml
Umjerena klima	400 ng/l	1000 CFU (koliforma)/100 ml
Tropska klima	30-100 ng/l	1000 CFU (koliforma)/100 ml

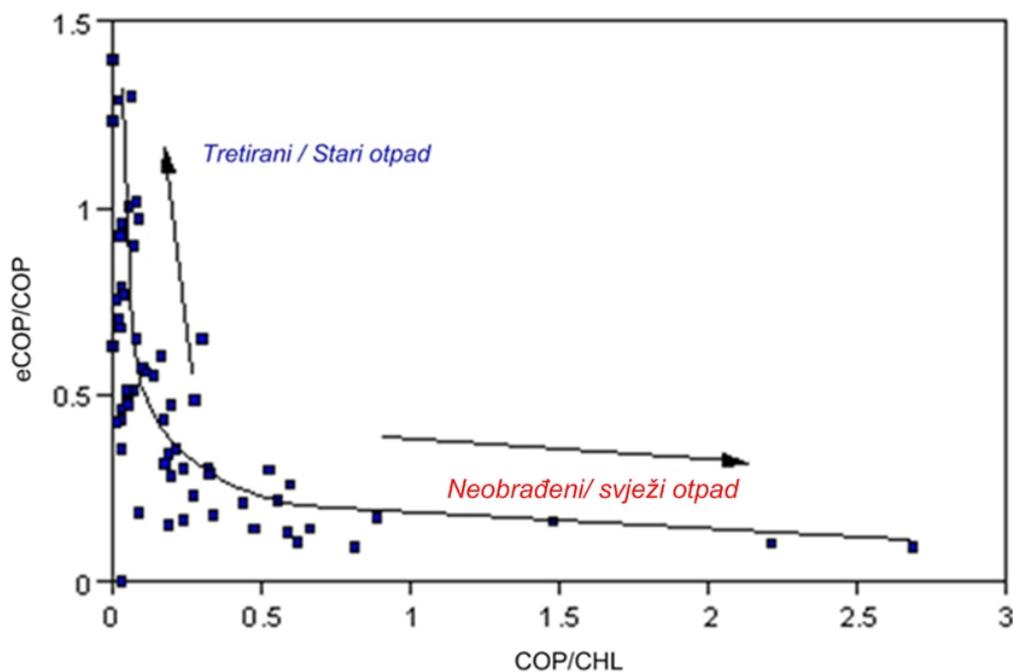
Budući da se koprostanol (COP) stvara iz kolesterola (CHL) u crijevima kralježnjaka, njihov se omjer (COP/CHL) može koristiti za određivanje razine fekalnog materijala u okolišu (Grimalt i sur. (1990)). Za neobrađene kanalizacijske vode vrijednosti omjera COP/CHL kreću se oko 10 i smanjuju se povećavanjem stupnja obrade tih voda do ~2. U okolišu se taj omjer smanjuje zbog raspršivanja otpadnih voda i zbog prisutnosti različitih nefekalnih izvora kolesterola. Grimalt i sur. (1990) predložili su da vrijednosti ovog omjera veće od 0,2 označavaju prisustvo fekalne kontaminacije.

Omjer stanola,  $\alpha$  i  $\beta$  izomera, COP/(COP+CHNOL) u odnosu na omjer koprostanola i kolesterola (COP/CHL) također se pokazao kao dobar dijagnostički indeks fekalnog onečišćenja. Kada su vrijednosti omjera stanola COP/(COP+CHNOL) > 0,7 onečišćenje se smatra ljudskog porijekla, a kad su vrijednosti indeksa < 0,3 radi se o nekontaminiranom uzorku. Vrijednosti koje spadaju između 0,3 i 0,7 ne mogu se kategorizirati bazirajući se samo na ovom omjeru. Korištenjem dijagrama odnosa omjera stanola i omjera koprostanola i kolesterola (Slika 4.) može se dobiti bolja kategorizacija uzoraka (Grimalt i sur. (1990)).



Slika 4. Dijagram odnosa omjera stanola i omjera koprostanola i kolesterola (Grimalt i sur., 1990).

Tijekom obrade otpadnih voda ili nakon odlaganja u okoliš COP se može pretvoriti u svoj epimerni oblik, epikoprostanol (eCOP), proizvod anerobne mikrobne razgradnje. Stoga omjer eCOP/COP može ukazati na stupanj obrade otpadnih voda ili na starost fekalnog materijala u okolišu (Martins i sur., 2007; Mudge i Seguel, 1999) (Slika 5.).



Slika 5. Dijagram odnosa omjera epikoprostanola i koprostanola i omjera koprostanola i kolesterola.

Omjer koprostanola (COP) i ukupnih sterola ( $\Sigma$ sterola) pruža korisne informacije o stupnju onečišćenja u sustavima gdje postoje različiti izvori organske tvari kada se uspoređuju morfološki slični sedimenti (Noblet i sur., 2004). Vrijednosti omjera  $COP/\Sigma$ sterola > 5-6% označavaju fekalnu kontaminaciju.

Broj istraživanja u kojima su korišteni steroli kao pokazatelji fekalnog onečišćenja u Jadranu jako je ograničen. U sjeverozapadnom Jadranu analizirano je fekalno onečišćenje pomoću koprostanola u venecijanskoj laguni (Fattore i sur., 1996, Sherwin i sur., 1993) dok su na istočnoj strani Jadrana steroli upotrebljeni samo u jednoj studiji za praćenje različitih unosa organskog materijala u estuariju rijeke Krke (Laureillard i Saliot, 1993).

Osim sterola postoji još niz kemijskih markera koji se mogu koristiti za praćenje sudbine otpadnih voda u okolišu. Na primjer žučne kiseline se koriste kao kvalitativni pokazatelj fekalnog onečišćenja zbog specifičnog profila u fecesima pojedinih skupina životinja (Bull i sur., 2002). Kofein se također koristi kao indikator fekalnog onečišćenja (Glassmeyer i sur., 2005) iako postoje određeni problemi oko njegove primjene (Wu i sur., 2008). Zbog svoje visoke topivosti u vodi kofein se ne povezuje s partikulatnim materijalom. Budući da je većina patogenih mikroorganizama vezana za suspendirane čestice koje se brzo sedimentiraju, kofein ne prati njihovu dinamiku jer ostaje u vodenom mediju znatno duže. Razni su autori predložili i korištenje lijekova i njihovih metabolita kao indikatore fekalnog onečišćenja. Iako je njihova primjena moguća (Wu i sur., 2008) u većini slučajeva zbog niskih koncentracija u otpadnim vodama nije bilo moguće kvalitetno praćenje onečišćenja u okolišu. U sustave otpadnih voda često ulaze i kućne otpadne vode nefekalnog porijekla koje sadržavaju deterdžente, fluorescentne izbjeljivače te protubakterijske i protugljivične pripravke (Glassmeyer i sur., 2005). Prema tome, sve ove kemikalije mogu poslužiti kao dodatni indikatori za praćenje kanalizacijskog onečišćenja.

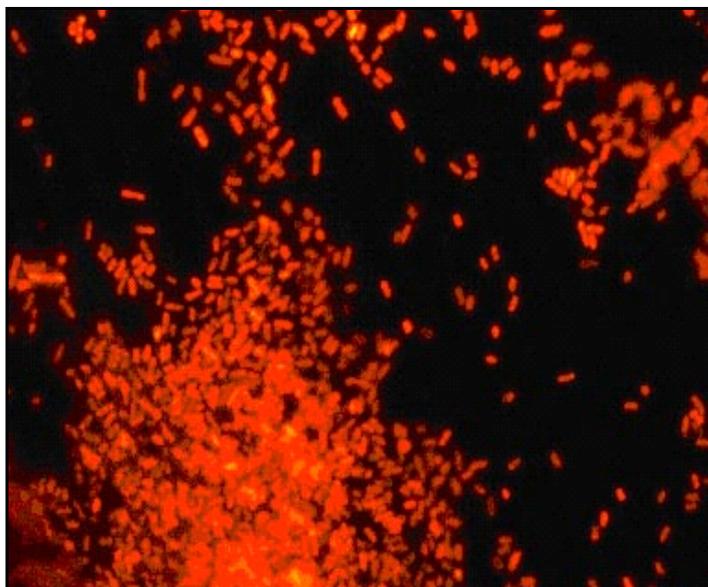
### **3.2.2. Molekularne metode za praćenje fekalnoga onečišćenja**

Napredak molekularne biologije u posljednjih 20 godina rezultirao je razvojem novih metoda detekcije mikroorganizama koje se mogu koristiti za prepoznavanje specifičnih bakterijskih sojeva kao i patogenih mikroorganizama (Ashbolt i sur., 2001). Najveća im je prednost brzina izvođenja i suvišnost uzgoja bakterija (Simpson i sur., 2002).

Među najznačajnije molekularne metode koje su uspješno korištene za praćenje fekalnog onečišćenja i patogenih mikroorganizama valja spomenuti:

- 1) Metoda t-RFLP (engl. *terminal restriction fragment length polymorphism*) omogućuje brzu semikvantitativnu karakterizaciju bakterijske zajednice otpadnih voda (Gilbride i sur., 2006).
- 2) RISA (engl. *ribosomal intergenetic spacer analysis*) često se primjenjuje za analizu bakterijskih zajednica u otpadnim vodama.

- 3) Elektroforeza u gradijentu denaturirajućeg gela (DGGE) uspješno se koristi za karakterizaciju i usporedbu fekalnih i gastrointestinalnih bakterijskih populacija ljudi i životinja (Simpson i sur., 2002).
- 4) Višestruki PCR, koristi se za detekciju virusa, bakterija i drugih mikroorganizama u uzorcima vode (LaGier i sur., 2004).
- 5) PCR u stvarnom vremenu, kvantitativna je metoda korištena za prepoznavanje i kvantifikaciju enterokoka i ljudskog Adenovirusa (He i Jiang, 2005).
- 6) DNA čipovi omogućavaju analizu aktivnosti svih gena u uzorku za koje postoje komplementarne sonde vezane na čip ili detekciju određenih vrsta organizama unutar mikrobne zajednice (Brozović i sur., 2007).
- 7) Fluorescencijska hibridizacija *in situ* (FISH) (Slika 6.) danas je općeprihvaćena metoda istraživanja mikroorganizama zbog mogućnosti određivanja brojnosti pojedinih vrsta bakterija unutar mikrobne zajednice (Gilbride i sur., 2006). Ova tehnika je omogućila praćenje raznih patogena i indikatorskih bakterija poput *E. coli* u gradskim otpadnim vodama (Stender i sur., 2001).



Slika 6. *Escherichia coli* identificirana FISH metodom.

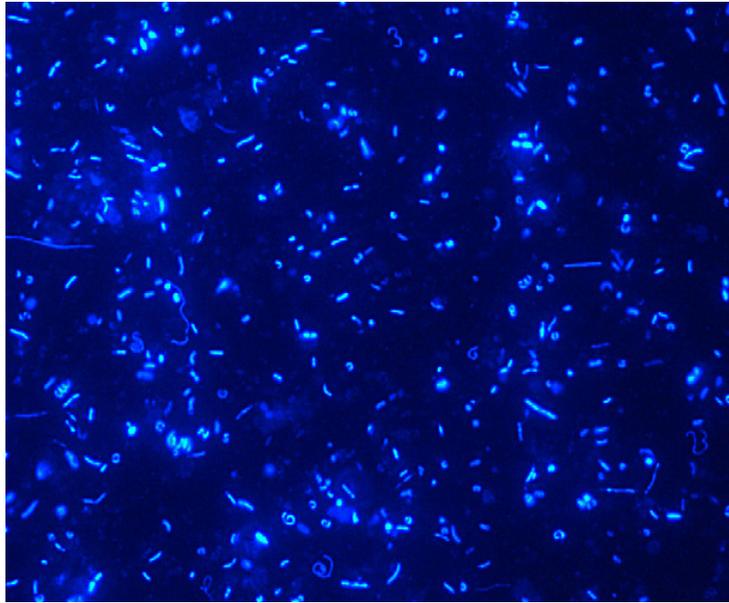
### 3.3. Utjecaj kanalizacije i odlaganje otpada na morske bakterijske zajednice

Ispuštanje urbanih, poljoprivrednih i industrijskih otpadnih voda znatno doprinosi onečišćenju hranjivim i organskim tvarima u priobalnom moru. Samo u Mediteranu procjenjuje se da je godišnja količina ispuštenih otpadnih voda oko  $2 \cdot 10^9$  m<sup>3</sup> (UNEP/ECE/UNIDO/FAO/UNESCO/WHO/IAEA, 1984). Kada otpadne vode završe u moru povećava se koncentracija dušika, fosfora i organske tvari što utječe na aktivnost fitoplanktona, velikih algi i bakterija.

Heterotrofne bakterije su najbrojnija komponenta morskih mikrobnih zajednica (Sanders i sur., 1992). Njihova se brojnost kreće u rasponu od  $10^3$  do  $10^8$  stanica po mililitru (Slika 7.), te ovisi o trofičkom statusu određenog područja (Sanders i sur., 1992; Pace i Cole, 1994.; Krstulović i sur., 1997). Po veličini spadaju u klasu pikoplanktona (od 0,2 do 2µm), imaju vrlo jednostavnu morfologiju i visoku specifičnu stopu rasta (oko 0,4/sat) koja im omogućava udvostručavanje populacije tijekom kratkog vremena (oko 2 dana) (Krstulović i Šolić, 2006). Bakterije su sveprisutne u moru te imaju temeljnu ulogu u kruženju nutrijenata u hranidbenim mrežama (Azam, 1998). Koriste otopljenu organsku tvar kao glavni izvor energije i ugljika te ovisno o količini anorganskih i organskih supstrata, mogu biti neto proizvođači ili neto potrošači anorganskih soli (Azam i Smith, 1991). Bakterije predstavljaju plijen za nanoplanktonske protiste koji mogu ukloniti od 54 do 75% bakterijske populacije na dan (Caron i sur., 1992). Ovim putem se stvara zaseban protok energije kroz koji se dio primarne proizvodnje, izlučen u okoliš kao otopljena organska tvar, vraća u glavnu hranidbenu mrežu putem mikrobnog kruga (Azam i sur., 1983). Na brojnost bakterija znatan utjecaj imaju i virusi budući da mogu ukloniti oko 20% dnevne bakterijske proizvodnje (Šolić i Krstulović, 2000). Od abiotskih čimbenika, koji utječu na morske bakterije, najvažnija je temperatura. Djelovanje temperature očituje se direktnim utjecajem na procese u stanicama poput metabolizma i funkcije stanične membrane te indirektnim utjecajem preko fitoplanktona, glavnog proizvođača otopljene organske tvari (Krstulović i Šolić, 2006). Na bakterije utječu i antropogeni čimbenici budući da čovjek ispušta u okoliš velike količine tvari i energije. Porastom ljudske populacije konstantno se povećava antropogeni pritisak na morski ekosustav, posebice u priobalnim područjima (Seguel i sur., 2001).

Bakterije brzo odgovaraju na promjene u okolišu, stoga mogu poslužiti kao dobar pokazatelj perturbacija u morskom ekosustavu (Cavari i Colwell, 1988). Budući da su one

jedna od temeljnih karika na kojoj se bazira morska hranidbena mreža, važno je razumjeti na koji način različiti oblici onečišćenja utječu na njih, kako bi se mogle što bolje predvidjeti posljedice za cijeli morski ekosustav.



Slika 7. Heterotrofne bakterije vidljive epifluorescentnim mikroskopom.

Cavari i Colwell (1988) su proveli studiju o utjecaju kanalizacijskih i industrijskih ispusta na bakterijske zajednice u priobalnim vodama istočnog Mediterana. Na raznim lokacijama su odredili brojnost bakterija, njihovu heterotrofnu aktivnost, taksonomiju i sadržaj plazmida. Njihovi rezultati su pokazali da je brojnost bakterija bila veća na onečišćenim lokacijama nego na kontrolnim točkama. Područje onečišćeno gradskom kanalizacijom imalo je 10 puta veću brojnost bakterija u odnosu na čisto more. Na lokaciji kemijskih industrijskih ispusta bakterijska brojnost je također bila veća, ali ipak 3 puta manja nego kraj kanalizacijskog ispusta. Također, brojnost bakterija kraj odlagališta ugljena je bila veća (oko 2 puta) od one na kontrolnoj točki. Heterotrofna aktivnost bakterija određena je pomoću ugradnje  $^{14}\text{C}$  označenih aminokiselina. Najviše razine izmjerene su kraj kanalizacijskog i industrijskog ispusta. Povećane aktivnosti zabilježene su u širem području oko kanalizacijskog ispusta, dok su bile manje izražene oko industrijskog ispusta. Razine bakterijske aktivnosti u onečišćenom moru bile su od 4 do 50 puta veće nego u čistoj vodi. Rezultati analize taksonomske strukture uzgojenih bakterija pokazale su da je kraj

kanalizacijskog i industrijskog ispusta broj sojeva bio najmanji. Autohtone morske bakterije bile su prisutne cijelo vrijeme na svim postajama, dok su bakterije iz skupine koliforma pronađene u velikom broju isključivo kraj kanalizacijskog ispusta. Autori su očekivali da će onečišćenje poremetiti prirodnu sezonsku sukcesiju bakterija, međutim nisu pronađene znatne razlike između analiziranih lokacija. Na kraju, uočeno je da su bakterijski sojevi s većim brojem plazmida bili prisutni uglavnom na onečišćenim lokacijama što se i očekivalo budući da je frekvencija njihovog pojavljivanja povećana u onečišćenim vodama (Cavari i Colwell, 1988).

Zhang i sur. (2007) istražili su utjecaj gradskih otpadnih voda na raznolikost bakterijske zajednice u luci Hong Konga pomoću molekularnih metoda (Elektroforeza u gradijentu denaturirajućeg gela-DGGE i „clone library“). Pronašli su jedinstvenu bakterijsku zajednicu koja se razvila u najonečišćenijem dijelu luke. Prema njihovim rezultatima brojnost i raznolikost bakterija bile su najviše u dijelovima luke koji su bili jače onečišćeni. Autori pretpostavljaju da je velika količina dnevno ispuštenog partikulatnog materijala u luci omogućavala razvitak većeg broja ekoloških niša za bakterije u odnosu na neonečišćena područja. Na svim istraženim postajama pronađeni su pripadnici skupina *Proteobacteria*, *Cyanobacteria* i *Bacteroidetes*. Bakterije iz klase *Deltaproteobacteria* su nađene isključivo na neonečišćenim lokacijama, dok su pripadnici klase *Gammaproteobacteria* bile prisutne u najvećem postotku u onečišćenim vodama. Najveći postotak bakterija skupine *Bacteroides* je također zabilježen u onečišćenom dijelu luke. *Bacteroides*, koji se inače smatraju indikatorima fekalnog onečišćenja, su većinom bili prisutni u frakciji vezanoj na suspendirani partikulatni materijal.

Kasnije, u drugoj studiji, Zhang i sur. (2009) pratili su sezonske promjene bakterijskih zajednica pomoću molekularne tehnike DGGE. Uočeno je da su bakterije u područjima niskog onečišćenja slijedile određeni sezonski ciklus koji je uglavnom bio povezan s temperaturom mora te su ustanovili da se u različitim dijelovima godine javljaju različite populacije bakterija. S druge strane, u onečišćenim dijelovima promjene u bakterijskoj populaciji nisu slijedile sezonski ciklus, već su uglavnom bile u korelaciji s promjenama parametara koji mogu ukazati na onečišćenje, poput biološke potrošnje kisika (BOD), totalnog fosfora i otopljenog kisika. Na strukturu bakterijske zajednice u onečišćenom

području, također je utjecala zamućenost vode, koncentracija suspendiranih čestica i koncentracija dušičnih hranjiva.

U morskom pojasu Hong Konga, Thiyagarajan i sur. (2010) analizirali su utjecaj otpadnih voda na bakterijske zajednice koje žive u površinskim slojevima morskih sedimenata. Bakterijsku zajednicu su odredili pomoću molekularne metode T-RFLP (*engl. terminal restriction fragment length polymorphism*) te su uočili značajnu razliku između zajednica u onečišćenom i neonečišćenom sedimentu. Nadalje, usporedbom onečišćene lokacije s onom koja je primala pročišćene otpadne vode, ustanovili su da nema značajne razlike između bakterijskih zajednica ovih područja. Dodatno su istražili lokaciju koja je kroz dugi niz godina bila izložena intenzivnom onečišćenju, ali u kojoj se tijekom 5 godina znatno smanjio unos netretiranih otpadnih voda. Rezultati su pokazali da u tom razdoblju, bez obzira na znatno smanjenje onečišćenja, nije došlo do oporavka zajednice u sedimentu, koja je imala značajno različitu strukturu u odnosu na zajednice kontrolnih točaka.

Šolić i sur. (2010) su istražili utjecaj otpadnih voda na mikrobnu hranidbenu mrežu u Vranjičkom bazenu (Kaštelanski zaljev). Uspoređeno je razdoblje tijekom kojeg su se otpadne vode ispuštale u more i razdoblje nakon prestanka djelovanja ispusta. Prestankom ispuštanja otpadnih voda došlo je do znatnog smanjenja količine otopljenih organskih i anorganskih hranjiva u istraženom području. Prijelazom iz eutrofnih do oligotrofnih uvjeta prosječna brojnost bakterija se smanjila za red veličine, dok se bakterijska proizvodnja smanjila za 2 do 3 puta. S druge strane, došlo je do povećanja specifične stope rasta bakterija za više od dva puta. Također je uočena promjena u sezonskom ciklusu brojnosti bakterija prelazeći sa jednog ljetnog maksimuma na dva maksimuma, krajem proljeća i u jesen. Tijekom eutrofnog razdoblja bakterije su bile kontrolirane resursima (*bottom-up kontrola*), odnosno fitoplanktonskim izlučivanjem otopljene organske tvari i anorganskim hranjivima, dok je u oligotrofnom razdoblju prevladavala kontrola predatorima (*top-down*), odnosno heterotrofnim nanoflagelatima. Iz navedenog je vidljiv značajan utjecaj otpadnih voda ne samo na bakterije nego na cijelu mikrobnu zajednicu i na funkcioniranje mikrobne hranidbene mreže.

Osim ispuštanja gradskih i industrijskih otpadnih voda dodatan problem predstavlja direktno odlaganje otpada u more. Oceani su desetljećima korišteni kao deponije za razne vrste onečišćivača bez ikakvih međunarodnih propisa sve do 1975. godine kada je potpisana Londonska konvencija čime se trebalo regulirati i smanjiti odlaganje otpada u more. Unatoč

tome, procjenjuje se da svake godine u moru završi nekoliko stotina milijuna tona otpada (Choi i sur. 2005).

Peele i sur. (1981) istražili su utjecaj odlaganja farmaceutskog otpada na mikrobne populacije u Atlantskom oceanu kraj Puerto Rico jarka. Otpad je uglavnom bio sastavljen od organskih tvari poput produkata fermentacijskih procesa povezanih s proizvodnjom antibiotika, sterola i organskih otapala. Odlagalište je obuhvaćalo površinu od 500 km<sup>2</sup> i primalo je oko 70.000 litara otpada po km<sup>2</sup> po godini. Na svim točkama mjerenja sveukupna brojnost bakterija se nije značajno razlikovala od one u čistim područjima. Međutim, brojnost uzgojive frakcije bakterija unutar odlagališta bila je znatno veća. Dodatno, taksonomska struktura uzgojive frakcije pokazivala je veći udio sojeva *Vibrio* i *Aeromonas* spp. što je bilo neočekivano budući da je soj *Pseudomonas* spp. inače dominantan u Atlantskom oceanu i Karipskom moru. Analizom uzgojive frakcije bakterija, iz onečišćenog područja, na hranjivim podlogama uočen je veliki udio Gram pozitivnih bakterija što je također bilo neočekivano jer je većina bakterija u oceanima Gram negativna. Među njima su prevladavali *Micrococcus* i *Staphylococcus* koji su najvjerojatnije bili prisutni u samom otpadu. Heterotrofna aktivnost bakterija izmjerena pomoću ugradnje <sup>14</sup>C označenih aminokiselina nije pokazala direktan utjecaj odlagališta. Međutim, izračunata specifična aktivnost je imala najviše vrijednosti upravo u onečišćenom području. Stoga, vidljivo je da odlaganje farmaceutskog otpada može imati značajan utjecaj na taksonomiju i na specifičnu aktivnost bakterijske zajednice.

Takizawa i sur. (1993) su istražili utjecaj odlaganja otpada na bakterijske zajednice dubokomorskog sedimenta u sjeverozapadnom Atlantiku. Odlagalište otpada nalazilo se oko 200 km jugozapadno od New Yorka i primalo je oko 8 milijuna tona otpada godišnje. Pošto je dubina oceana u tom području oko 2.500 m, očekivalo se da će do dna stići samo manji dio odloženog materijala. Međutim, istraživanja su pokazala suprotno. Otkrilo se da je velika površina morskog dna, čak izvan područja odlagališta, bila pod utjecajem otpada. U onečišćenom području brojnost bakterija u površinskom sloju sedimenta bila je za red veličine veća od one u neonečišćenom području. Usporedbom strukture zajednica bakterija iz površinskih voda odlagališta i dubokomorskog sedimenta vidjelo se da je zajednica jako slična, što ukazuje da mnoge vrste bakterija koje su povezane s otpadom dospijevaju do morskog dna. Zaključeno je da velik broj bakterija u otpadu s površine preživi trodnevno tonjenje do dna te da dio njih, barem neko vrijeme, zadržava mogućnost dijeljenja. Tijekom

navedene studije istražen je i utjecaj otpada na dubokomorske bakterijske zajednice iz neonečišćenih područja, te rast alohtonih bakterija u dubokomorskim uvjetima. Vidjelo se da je uslijed dodavanja otpada došlo do inhibicije rasta autohtonih bakterija i do inhibicije rasta alohtonih bakterija u uvjetima niske temperature i visokog tlaka. Iz toga slijedi da će brzina razgradnje otpada u dubokom moru biti jako niska, odnosno da će za oporavak sustava trebati više godina.

U Korejskom moru rađena je studija o utjecaju morskih deponija na pelagičke bakterije i fitoplankton (Choi i sur., 2005). Istraživanjem su obuhvaćene dvije velike deponije koje primaju oko 1,5 do 2 milijuna tona otpada godišnje koji se uglavnom sastoji od materijala ljudskog i životinjskog porijekla s manjim količinama kiselog i anorganskog otpada. Na onečišćenim i kontrolnim točkama nije bilo razlike u brojnosti bakterija, ali uočena je razlika između bakterijske i primarne proizvodnje. Kod kontrolnih lokacija primijetilo se da je odnos bakterijske i primarne proizvodnje u korelaciji s temperaturom mora, dok na odlagalištu nije bilo jasne povezanosti. Budući da su fizikalno-kemijski uvjeti bili na svim postajama jako slični, autori pretpostavljaju da je na proizvodnju bakterija i fitoplanktona djelovala velika količina organskog otpada. U biti, ispostavilo se da je primarna proizvodnja na odlagalištu bila smanjena zbog inhibirajućeg utjecaja otpada, dok je bakterijska proizvodnja na području odlagališta u odnosu na kontrolne točke bila veća, odnosno manja, ovisno o razdoblju. Da bi se to objasnilo napravljeni su eksperimenti sa različitim razrjeđenjima otpada u vodi. Do inhibicije bakterijske aktivnosti i smanjene brojnosti bakterija došlo je u vodi sa više od 5% otopljenog otpada. S druge strane, kod koncentracije otpada oko 0,005% zabilježeno je povećanje bakterijske proizvodnje. Kod većih razrjeđenja nisu uočene značajne promjene. Za fitoplankton je uočen sličan trend iako je pokazao veću osjetljivost na zagađivala, odnosno koncentracija otpada veća od 0,16% uzrokovala je njegovu inhibiciju. Stoga, pretpostavka autora je da odgovor pelagičkih bakterija i fitoplanktona na odlaganje otpada ovisi o sastavu otpada i o njegovom razrjeđenju u vodenom stupcu.

Iz navedenog može se zaključiti da bakterijske zajednice u morskom okolišu mogu imati različiti odgovor na prisutnost otpada i otpadnih voda. Bakterije u vodenom stupcu reagirati će brzo na promjene, dok će bakterijske zajednice u sedimentu odgovoriti sporije ali sa dugoročnim posljedicama. U područjima s visokim razinama onečišćenja očekuje se porast

u brojnosti bakterija, u raznolikosti zajednice i u bakterijskoj aktivnosti. Dodatno, očekuju se promjene u sezonskom ciklusu i u mehanizmima kontrole mikrobne trofičke mreže.

## 4. Područje istraživanja

### 4.1. Priobalje Rovinja

Akvatorij grada Rovinja obuhvaća dio priobalnog pojasa zapadne obale Istre koji pripada plitkom bazenu sjevernog Jadrana (Slika 8.). Zbog svog relativno malog volumena sjeverni Jadran pod jakim je utjecajem vanjskih čimbenika koji utječu na sezonska i višegodišnja kolebanja u tom akvatoriju. U prvom redu to su kolebanja temperature, sezonski raspored padalina, dotok rijeka, vjetrovi, isparavanje, strujanje te raslojavanje vodenog stupca. Bitna karakteristika sjevernog Jadrana je vrlo izražena plimna komponenta strujanja (oko 50% strujnog signala) poglavito u spektru poludnevni, a manje u dijelu dnevnih komponenata (Pollak i sur., 2009). Rezidualna komponenta strujanja ima sezonski karakter koji ovisi o geostrofičkoj ravnoteži. Tijekom ljeta (od travnja do rujna) prevladava ciklonalni tip cirkulacije, dok se tijekom zime (od listopada do ožujka) češće pojavljuje anticiklonalna cirkulacija. Prema tome, u priobalju Rovinja tijekom zime, gibanje struja odvija se uglavnom uzduž obale u jugoistočnom smjeru, dok ljeti prevladava sjeverozapadni smjer (Pollak i sur., 2009). Tijekom ljeta i jeseni vodeni stupac je stabilan s dobro izraženom piknoklinom, koja djeluje poput fizičke barijere između toplih površinskih voda nižeg i hladnih pridnenih voda višeg saliniteta. Tijekom zime površinska voda se postepeno hladi, povećava joj se gustoća i miješa se s donjim slojevima u vodenom stupcu. Tada nastupa zimsko i rano-proljetno razdoblje izotermije kada je vodeni stupac nestabilan, s izrazitim vertikalnim miješanjem. Na raslojavanje vodenog stupca mogu donekle utjecati i jaki vjetrovi, npr. bura tako da se hlađenjem površinskog sloja pospješuje miješanje (Supić i sur., 2004). U Rovinju prevladavaju vjetrovi iz sjeveroistočnog (bura 30% slučajeva) i jugoistočnog kvadranta (jugo 21% slučajeva), a prosječne količine oborina kreću se oko 790 mm u godini s najmanje oborina u srpnju (39,6 mm) te maksimumom u listopadu (98,1 mm) kada su i oborinski dani najčešći (Gajić-Čapka i sur., 2009). Osim prirodnih čimbenika koji utječu na ovaj akvatorij, u zadnjim desetljećima, ljudske aktivnosti kao npr. urbanizacija, razvoj turizma, povećani unos otpadnih tvari, sve intenzivniji pomorski promet i ribolov odražavaju se sve više na kakvoću morske vode, na stupanj eutrofnosti i na cijeli sastav zajednica morskih organizama tog područja.



Slika 8. Sjeverni Jadran i priobalje Rovinja.

#### 4.2. Uvala Cuvi

Uvala Cuvi (Slika 9.) nalazi se oko 3 km južno od centra grada Rovinja pokraj park šume "Zlatni rt-Punta corrente" i gradskih kupališta "Škaraba" i "Villas Rubin". U toj uvali, 1984. sagrađen je uređaj za prihvaćanje i pročišćavanje kanalizacijskih i oborinskih voda, te voda iz septičkih jama iz većeg dijela rovinjskog područja. Otpadne vode prolaze kroz primarni stupanj obrade gdje se odstranjuju krutine, masti i pijesak. Zatim tretirane vode prolaze kroz retencijski bazen gdje dolazi do njihove aeracije prije nego što se ispuste u more putem podmorske cijevi dužine 830 m. Tijekom zimskih mjeseci se u ovu plitku uvalu površine oko 2 km<sup>2</sup> slijeva oko 110.000 m<sup>3</sup> otpadnih urbanih voda, dok u ljetnim mjesecima, zbog turističkih aktivnosti, dotok u prosjeku poraste do 180.000 m<sup>3</sup> (Ivančić i sur., 2014). Razine indikatora fekalnog onečišćenja u ispuštenim otpadnim vodama također se mijenjaju sezonski. Koncentracija fekalnih koliforma je veća od 10<sup>7</sup> CFU/100 ml tijekom zime i povećava se na više od 10<sup>9</sup> CFU/100 ml tijekom ljeta. Fekalni streptokoki pokazuju sličan trend ali su im koncentracije za red veličine niže od koliforma. Uvala Cuvi je otvorena prema jugoistoku i jugozapadu te pokazuje pravilnu morfologiju dna s dubinama koje se oko

difuzora otpadnih voda kreću između 25 m i 29 m. Morsko je dno uvale uglavnom muljevito i pjeskovito.



Slika 9. Uvala Cuvi.

### 4.3. Uvala Valdibora

Uvala Valdibora (Slika 10.) smještena na sjevernoj strani grada Rovinja, proteže se od starogradske jezgre do ortopedske bolnice "Martin Horvat". Površina uvale iznosi oko 1,3 km<sup>2</sup> a dubine se kreću između 10 m i 18 m u većem dijelu uvale. Morsko dno je relativno homogeno, sastavljeno uglavnom od pijeska, s iznimkom istočne strane gdje su prisutne stijene većih dimenzija. Dubina uvale se postepeno povećava prema zapadu do najdublje točke na 23 m. Uvala Valdibora je izložena raznim vjetrovima, pogotovo buri, prema kojoj je dobila i ime, i jugozapadnjaku. Zbog toga se ne koristi za kontinuirano sidrenje brodova. U uvali postoji nekoliko izvora kanalizacijskih voda. Najveća količina otpadnih voda (od 15.000

do 20.000 m<sup>3</sup>/mjesečno) dolazi iz tvornice za preradu ribe koja je smještena u jugoistočnom dijelu uvale. Prosječna koncentracija fekalnih koliforma i streptokoka u industrijskim vodama prije ulaska u more iznosi oko  $3 \cdot 10^5/100$  ml. Na sjevernoj strani uvale, na oko 70 m od obale, nalazi se jedan od gradskih kanalizacijskih ispusta koji prima otpadne vode iz bolnice i bolničkog naselja te unosi oko 1.000 m<sup>3</sup> neobrađenih otpadnih voda mjesečno. Na istočnoj strani uvale nalazi se kanal kroz koji se dio oborinskih voda grada slijeva u more, dok u južnom dijelu uvale kraj gradske tržnice postoje nekoliko manjih ispusta kanalizacije.



Slika 10. Uvala Valdibora.

#### 4.4. Južna luka

Južna luka grada Rovinja (Slika 11.) proteže se na površini od 0,26 km<sup>2</sup> i uključuje luku starogradske jezgre (Andana) i luku ACI marine. Luka je djelomično izložena sjeverozapadnim i jugozapadnim vjetrovima. Prosječna dubina luke iznosi oko 8 m, s time da je plića (oko 6 m) bliže starome gradu, a malo dublja (oko 10 m) kod ACI marine. Morsko dno je uglavnom pjeskovito. Od druge polovice devedesetih godina prošlog stoljeća, u luci se ne ispuštaju više kanalizacione vode. U luci je usidreno 929 plovila, od kojih je 545 smješteno u starogradskoj luci dok je 384 smješteno u ACI marini.



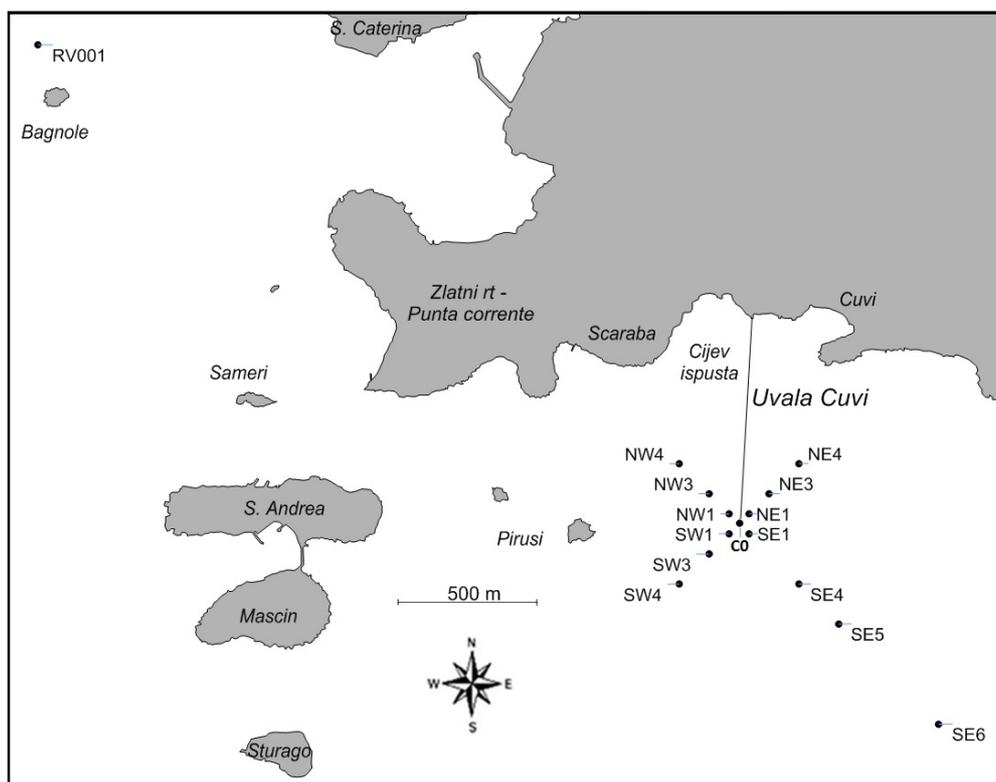
Slika 11. Južna luka.

## 5. Materijali i metode

### 5.1. Uzorkovanje

Uzorkovanje je provedeno tijekom 2010.-2011. i 2014.-2015. godine na tri različita područja Rovinjskog akvatorija: uvala Cuvi, uvala Valdibora i južna luka.

U uvali Cuvi (Slika 12.) sezonski su prikupljeni uzorci morske vode na 3 dubine (5 m, 10 m i 20 m), te uzorci sedimenta jednokratno na mreži od 15 postaja raspoređenih duž 4 pravca (NW, NE, SW, SE) na 50 m, 150 m i 300 m od ispusta (Lat: 45°3'32.4678", Long: 13°38'50.9928"). Dodatne lokacije uzorkovanja su bile postaja C0 kod samog ispusta i dvije postaje u jugoistočnom smjeru na 500 m i na 1000 m od ispusta koje su služile kao kontrolne točke.



Slika 12. Istraživačke postaje u uvali Cuvi i kontrolna postaja RV001.

U uvali Valdibora (Slika 13.) uzorci vode su prikupljeni tijekom ljeta i zime na dvije dubine (0 m i 5 m), dok su uzorci sedimenta prikupljeni jednokratno. Uzorkovanje je

provedeno na 15 lokacija smještenih kod kanalizacijskih (G0 i B0) i industrijskih ispusta (M0), te na udaljenostima od 50 m (G1, B1 i M1) i 300 m (G2, B2, M2) od ispusta u smjeru sredine uvala. Dodatno su prikupljeni uzorci sa postaje K1 koja je služila kao kontrola, sa postaje OB (samo na 0 m) gdje se slijevaju oborinske vode, u uvali Val da liso (F i FP), kraj plaže bolničkog naselja (BP) i u sredini uvala (postaja VB). U južnoj luci (Slika 14) uzorkovan je jednokratno sediment na 3 lokacije (L1, L2 i L3). Kao glavna kontrolna točka odabrana je postaja RV001 koja se nalazi na 1 NM zapadno od grada, gdje je sezonski uzorkovan vodeni stupac a jednokratno sediment.



Slika 13. Istraživačke postaje u uvali Valdibora, u južnoj luci i kontrolna postaja RV001.

Uzorci vode prikupljeni su na svim postajama Niskin-ovim horizontalnim crpcima od 8 l, dok je sediment uzorkovan autonomnim ronjenjem pomoću korera. Uzorci sedimenta koji su korišteni za kemijske i granulometrijske analize su odmah nakon uzorkovanja podijeljeni na površinski (0-5 cm) i dublji sediment (5-10 cm) te liofilizirani. Krstarenja su obavljena istraživačkom brodicom "Burin".

## 5.2. Abiotički parametri

Temperatura i salinitet određeni su kontinuirano kroz cijeli vodeni stupac koristeći CTD (*engl. Conductivity, Temperature, Depth*) sondu (SeaBird Electronic SBE 25). Uzorci morske vode za analizu hranjivih soli (ortofosfat, nitrit i nitrat) filtrirani su na Whatman GF/F filtrima i čuvani na  $-20^{\circ}\text{C}$  u polietilenskim bocama od 500 ml do analize, dok su uzorci za analizu amonijaka ( $\text{NH}_4^+$ ) nakon uzorkovanja fiksirani otopinom fenola/etanola. Koncentracije hranjivih soli određene su spektrofotometrijskim standardnim oceanografskim metodama (Strickland i Parsons, 1972, Ivančić i Degobbis, 1984).

## 5.3. Sanitarna kvaliteta mora

Sanitarna kvaliteta mora određena je pomoću fekalnih koliforma i fekalnih streptokoka metodom membranske filtracije (WHO, 1994). Na svakoj lokaciji prikupljeno je u sterilne staklene boce 500 ml morske vode. Uzorci su čuvani i transportirani do laboratorija prijenosnim frižiderom kako bi ih se zaštitilo od svjetla i promjena u temperaturi. Iz svake boce filtrirano je 100 ml, 10 ml i 1 ml kroz membranske filtre (Millipore,  $0.45\ \mu\text{m}$ , 47 mm).

Za određivanje fekalnih koliforma membranski filtri su postavljeni na površinu hranjive podloge *agar m-FC* u petrijevim zdjelicama, te inkubirani 24 sata na temperaturi od  $44,5^{\circ}\text{C}$ . Kolonije koje su izrasle i pokazale karakterističnu plavu boju izbrojane su. Izračunata je srednja vrijednost svih razrijeđenja i rezultat je izražen kao broj kolonija fekalnih koliforma u 100 ml uzorka.

Fekalni streptokoki određeni su postavljanjem filtra na površinu hranjive podloge Slanetz-Bartley agara u petrijevim zdjelicama te inkubiranjem 48 sati pri temperaturi od  $36^{\circ}\text{C}$ . Filtri na kojima su bile vidljive crvene kolonije premješteni su u petrijevke s hranjivom podlogom *bile aesculin agar* za potvrdno testiranje. Podloge s filtrima inkubirane su 2 sata na temperaturi od  $44,5^{\circ}\text{C}$ . Kolonije koje su poprimile tamnu boju ili koje su oko sebe stvorile tamni krug izbrojane su. Nakon što je izračunata srednja vrijednost svih razrijeđenja rezultati su izraženi kao broj kolonija fekalnih streptokoka u 100 ml uzorka.

#### 5.4. Sanitarna kvaliteta sedimenta

Fekalni koliformi i streptokoki određeni su u površinskom (0-5 cm) i potpovršinskom (5-10 cm) sloju sedimenta metodom najvjerojatnijeg broja (*engl. most probable number MPN*) prema protokolima svjetske zdravstvene organizacije (WHO, 1994). Uzorci sedimenta (5 g) razrijeđeni su 10 puta fosfatnim puferom (44,75 ml) i uljem *Tween 80* (0,25 ml) koji potiče odvajanje bakterija iz čestica sedimenta. Tako razrijeđeni uzorci su homogenizirani u ultrazvučnoj kupelji 3 puta po 3 minuta.

Za procjenu broja fekalnih koliforma iz svakog homogeniziranog uzorka otpipetirano je 10 ml, 1 ml i 0,1 ml, inokulirano u pet replikata na tekućoj hranjivoj podlozi *lactose broth*, te inkubirano 24 sata na 35 °C. Iz hranjivih podloga koje su pokazale formiranje plina, pomoću sterilne petlje kulture su nasađene u epruветama sa potvrdnom selektivnom tekućom podlogom *MacConkey broth*. Nakon inkubacije 24 sata na 44,5° C, pozitivne kulture su pokazale promjenu boje iz ljubičaste (boja medija) u žutu. Broj pozitivnih čitanja iz potvrdne podloge zabilježen je za svako razrijeđenje i zatim uspoređen sa statističkim tablicama MPN indeksa kako bi se dobio najvjerojatniji broj fekalnih koliforma u uzorku.

Za određivanje fekalnih streptokoka, pet replikata za svako razrijeđenje uzorka (10 ml, 1 ml i 0,1 ml) inokulirano je u tekuću podlogu *Azide dextrose broth* te inkubirano 48 sati na 35° C. Nakon inkubacije, sve podloge koje su pokazale zamućenje podvrgnute su potvrdnom testu pomoću tekuće podloge *Ethyl violet azide broth*. Tri petlje bakterijskih kultura iz svake zamućene podloge prenesene su u epruvete s potvrdnom podlogom te inkubirane 24 sata na 35° C. Prisutnost streptokoka označena je formiranjem ljubičaste boje na dnu epruvete, ili snažnim zamućenjem. Pozitivna čitanja iz potvrdnog testa zabilježena su i uspoređena sa tablicama MPN indeksa za dobivanje najvjerojatnijeg broja fekalnih streptokoka.

#### 5.5. Granulometrijski sastav sedimenta

Granulometrijski sastav sedimenta određen je u laboratoriju Geološko-paleontološkog zavoda na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, kombiniranom metodom mokrog sijanja (za čestice veće od 0,063 mm) i sedigrafa (za čestice manje od

0,063mm). Uzorci su prosijani standardnim ASTM sitima s promjerom otvora 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125 i 0.063 mm, odnosno prema granicama definiranim Wentworth-ovom klasifikacijom (1922) od sitnog šljunka do vrlo sitnog pijeska. Frakcije sedimenta koje su zaostale na sitima su osušene i izvagane. Frakcija koja je prošla kroz sito 0.063mm sakupljena je kao suspenzija u staklenim čašama, ostavljena da se istaloži i dalje analizirana na sedigrafu (SediGraph 5100). Korištena je standardna sedigraf procedura (Micromeritics, 2002). Podaci dobiveni jednom i drugom tehnikom su spojeni kako bi se dobio kontinuirani raspon veličine zrna. Sedimenti su klasificirani prema Folku (1954) temeljenom na omjeru udjela šljunkovite, pjeskovite i muljevite frakcije.

### **5.6. Redoks potencijal sedimenta**

Redoks potencijal izmjeren je odmah na brodu. Mjerenje je izvršeno pomoću Pt i Argental<sup>TM</sup> (3 M KCl) referentne elektrode (InLab®RedoxMicroElectrode), spojene na mjerni instrument Jenco 6230N pH/mV/TempMetter. Najprije je izmjeren potencijal vode iznad sedimenta, a nakon toga je upotrebljena tehnika vertikalnog umetanja elektrode i mjerenje redox potencijala za svaki centimetar u stupcu sedimenta do dubine od 10 cm (Hinchey i Schaffner, 2005).

### **5.7. CHN analiza sedimenta**

Sadržaj organskog ugljika i dušika u sedimentima analiziran je u Laboratoriju za sintezu i procese samoorganizacije organskih molekula Zavoda za fizičku kemiju Instituta Ruđer Bošković na CHNS analizatoru (Perkin Elmer 2400 Series II). Liofilizirani uzorci sedimenta zakiseljeni su HCl-om kako bi se uklonili karbonati prije analize (Ujiie i sur., 2001).

## 5.8. Analiza sterola u vodenom stupcu i sedimentu

Za analizu sterola korišteni su slijedeći standardi: koprostanol (COP, 5 $\beta$ -cholestan-3 $\beta$ -ol), epikoprostanol (eCOP, 5 $\beta$ -cholestan-3 $\alpha$ -ol), kolesterol (CHL, Cholest-5-en-3 $\beta$ -ol), kolestanol (DCHL, 3 $\beta$ -hydroxy-5 $\alpha$ -cholestane), stigmasterol (SROL, 3 $\beta$ -hydroxy-24-ethyl-5,22-cholestadiene),  $\beta$ -sitosterol (b-SIT, 24 $\beta$ -Ethylcholesterol), stigmastanol (SNOL, 24 $\alpha$ -ethyl-5 $\alpha$ -cholestan-3 $\beta$ -ol), 5 $\alpha$ -kolestan, perilen (unutarnji standard) i N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamid (BSTFA) sa 1% trimetilklorosilan (TMCS) (Sigma-Aldrich Chemical Company Stenheim, Njemačka). Postupci ekstrakcije i purifikacije izvedeni su prema Isobe i sur. (2002). Precizno izvagani uzorci liofiliziranog sedimenta (6-7 g) ili filtri (GF/F, 0,7  $\mu$ m, 47 mm) koji sadrže suspendirani partikulat, stavljeni su u staklene epruvete od 50 ml s dodatkom kloro-oktadekana i 5 $\alpha$  kolestana. Organska tvar iz filtera i sedimenta ekstrahirana je u ultrazvučnoj kupelji uzastopno, pomoću 30 ml metanola (MeOH), 30 ml metanola/diklorometana (MeOH/DCM, 1:1, v/v) i 30 ml diklorometana (DCM), 1 sat za svako otapalo. Ekstrakti su spojeni i nakon sušenja rotacijskim uparivačem, otopljeni u 1ml heksana/DCM (3:1, v/v). U stupcu silika-gela (100-200 mesh, Sigma-Aldrich) ekstrakti su odvojeni u tri frakcije. Prva frakcija, koja sadrži alifatske ugljikovodike i poliaromatske ugljikovodike, odvojena je dodavanjem 20 ml heksana/DCM (3:1, v/v), druga i treća frakcija dobivene su dodavanjem 40 ml DCM i 30 ml acetona/DCM (3:7 v/v). Druga i treća frakcija spojene su i osušene uparavanjem otapala. Prije postupka derivatizacije perilen je dodan kao interni standard. Derivatizacija je izvedena pomoću BSTFA-TMCS pri temperaturi od 60 $^{\circ}$ C kroz 1 sat (Szűcs i sur., 2006). Nakon derivatizacije uzorci su analizirani metodom plinske kromatografije sa masenom detekcijom (Agilent 6890N GC System - 5973 Network Mass Selective Detector, Zebron ZB-5MSi capillary column (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25  $\mu$ m; 5% Phenyl – 95% Dimethylpolysiloxane). Kao plin nosilac korišten je helij 6.0. Postavke plinskog kromatografa za sterole su bile: početna temperatura - 150  $^{\circ}$ C (1 minuta), brzina zagrijavanja - 20  $^{\circ}$ C/minuti, konačna temperatura - 310  $^{\circ}$ C (5 minuta) i tlak u koloni -2,17 kPa. Vremena zadržavanja, površine pikova i maseni spektri snimljeni su pomoću softvera "Chemstation". Podaci su dobiveni potpunim skeniranjem između iona m/z 50 i 550.

### 5.9. Brojnost heterotrofnih bakterija u moru

Za određivanje ukupnog broja bakterija uzorci volumena 20 ml fiksirani su formaldehidom (konačna konc. 2% v/v) i čuvani u hladnjaku do daljnje obrade. Poduzorci volumena 2 ml obojeni su s 4',6'-diamino-2fenilindolom (DAPI, Sigma) u konačnoj koncentraciji 5 µg/ml, koji se veže za DNA stanica (Porter i Feig, 1980). Nakon bojanja uzorci su filtrirani na crnim polikarbonatnim filtrima (Whatman, Nuclepore, 0.22 µm, 25 mm). Stanice zadržane na filtru brojane su na epifluorescentnom mikroskopu uz povećanje 1000x (Zeiss Axio Imager. Z1).

### 5.10. Brzina ugradnje timidina i leucina u heterotrofne bakterije

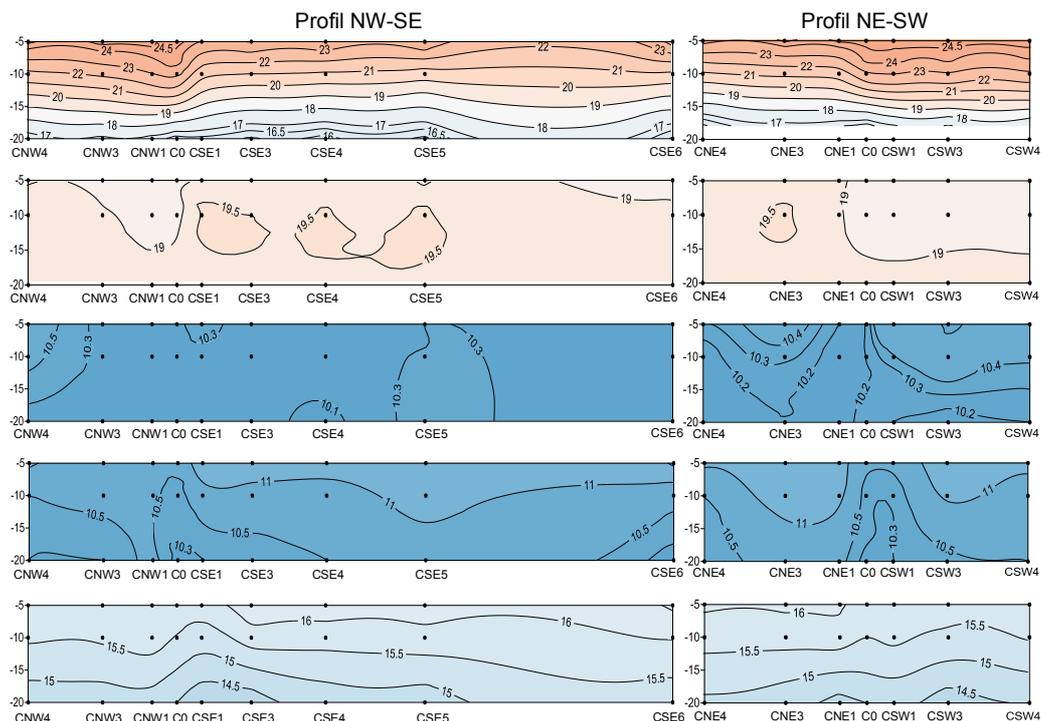
U tubice volumena 2 ml u kojima je <sup>3</sup>H-označeni timidin (specifične aktivnosti ~80 Ci mmol<sup>-1</sup>, konačne koncentracije 10 nM) ili <sup>3</sup>H-označeni leucin (specifične aktivnosti >140 Ci mmol<sup>-1</sup>, konačne koncentracije 20 nM), dodano je 1,7 ml uzorka koji se zatim inkubira 1 sat na *in situ* temperaturi. Nakon što je inkubacija prekinuta dodavanjem 89 µl 100% trikloroetene kiseline (TCA), označeni materijal je ekstrahiran pomoću 5% otopine ledene TCA i centrifugiran 7 minuta na brzini od 14.000 okretaja u minuti (Eppendorf centrifuge 5415 C). Nakon toga slijedi ekstrakcija pomoću 80% otopine etanola i ponovno centrifugiranje 7 minuta na brzini od 14.000 okretaja u minuti. Nakon dodatka scintilacijske tekućine (Ultima gold, Packard) radioaktivnost je izmjerena scintilacijskim brojačem (Canberra Packard Tricarb 2900 TR) (Furham i Azam, 1982, Kirchman i sur., 1985, Smith i Azam, 1992). Svaki uzorak mjeran je u replikatu uz jednu slijepu probu u koju je dodana TCA prije inkubacije. Proizvodnja bakterija izražena je kao ukupna u pmol l<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> i specifična po bakterijskoj stanici zmol cell<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.

## 6. Rezultati

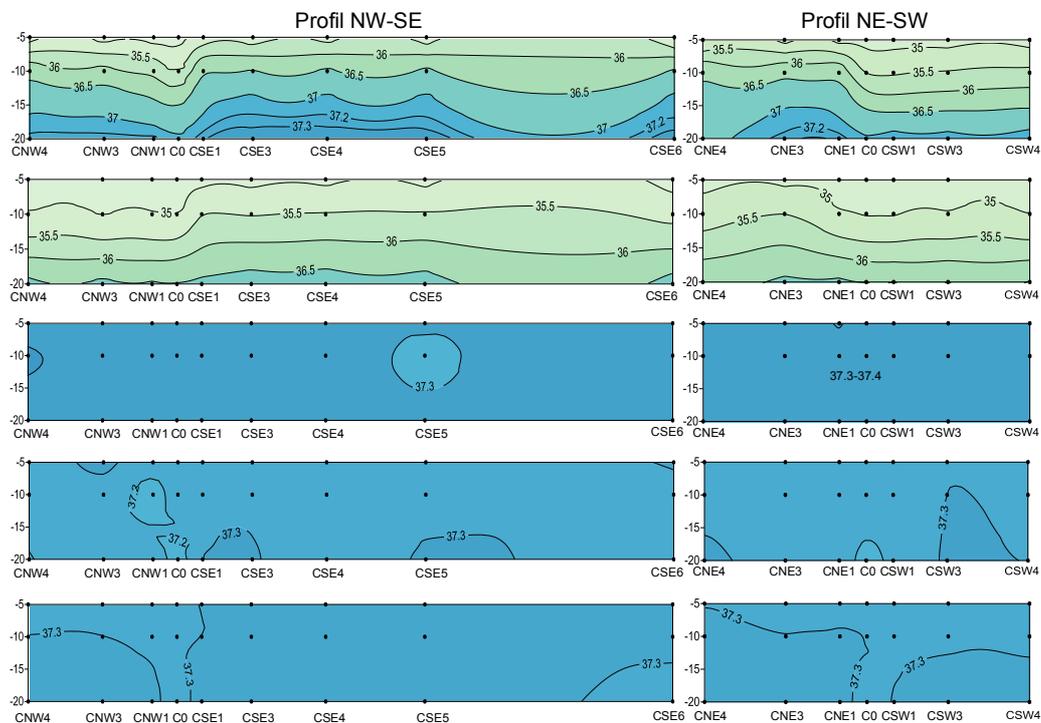
### 6.1. Uvala Cuvi vodeni stupac

#### 6.1.1. Opći hidrografski uvjeti

Hidrografski uvjeti u uvali Cuvi (Slike 14. i 15.) (Pomoćna tablica 1.) bili su uobičajeni za rovinjski akvatorij. U kolovozu je vodeni stupac bio potpuno stratificiran s površinskom temperaturom od 23,89-24,82 °C i pridnenom temperaturom od 15,75-17,13 °C. U površinskom sloju zabilježene su snižene vrijednosti saliniteta (34,85-35,32) uz porast prema dnu (36,77-37,38). Vrijednosti temperature i saliniteta, kao i njihova raspodjela, bile su slične kao i na kontrolnoj postaji RV001. U listopadu je hlađenjem površine mora započelo miješanje u vodenom stupcu te je došlo do temperature inverzije. Zbog toga su površinske temperature (18,91-19,07 °C) bile malo niže od pridnenih temperatura (19,07-19,74 °C). Suprotno tome vrijednosti saliniteta su rasle od površinskog sloja (34,83-34,92) prema dnu (36,39-36,75), što ukazuje na nepotpuno miješanje u vodenom stupcu. Vrijednosti temperature i saliniteta nisu se značajnije razlikovale među postajama u uvali Cuvi. Tijekom zime, vodeni stupac je bio potpuno izmiješan s uniformnim vrijednostima temperature (10,10-10,70 °C) i saliniteta (37,29-37,43) na cijelom području uvale Cuvi. U ožujku je započelo zagrijavanje mora te je temperatura površinskog sloja (10,30-11,60 °C) bila za oko 1°C viša nego u donjim slojevima. Na području ispusta temperature su bile niže (do 1°C) nego u ostalom dijelu uvale. Zbog miješanja vodenog stupca vrijednosti saliniteta bile su dosta ujednačene u cijeloj uvali Cuvi (37,23-37,31), uz blago sniženje na području difuzora otpadnih voda (37,14). U svibnju je došlo do daljnjeg zagrijavanja vodenog stupca te se površinska temperatura kretala između 15,70-16,60 °C, a pridnena od 14,10 do 15,20 °C. Kao i u prethodnom mjesecu salinitet je bio ujednačen duž vodenog stupca u cijeloj uvali (37,20-37,30).



Slika 14. Raspodjela temperature na istraživanim postajama: a) 23. kolovoza 2010., b) 12. listopada 2010., c) 07. veljače 2011., d) 24. ožujka 2011., e) 06. svibnja 2011.

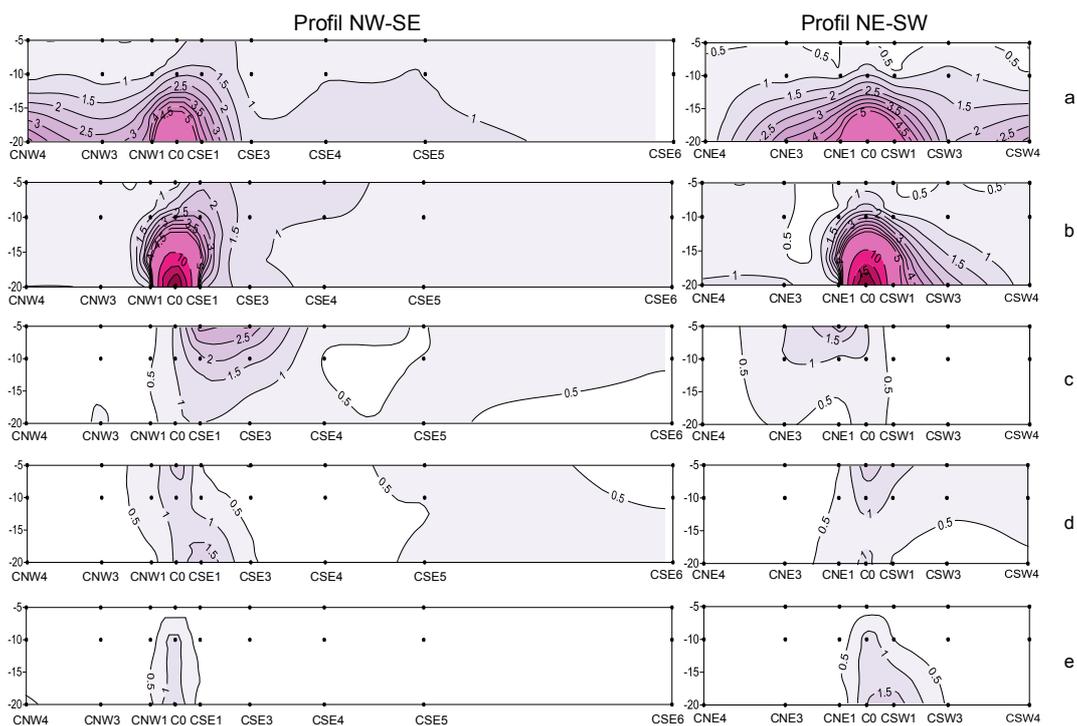


Slika 15. Raspodjela saliniteta na istraživanim postajama: a) 23. kolovoza 2010., b) 12. listopada 2010., c) 07. veljače 2011., d) 24. ožujka 2011., e) 06. svibnja 2011.

### 6.1.2. Hranjive soli

Ljeti i u jesen na području ispusta u pridnenom sloju zabilježene su visoke vrijednosti  $\text{NH}_4^+$  ( $27,72 \mu\text{mol l}^{-1}$ ) (Slika 16.) (Pomoćna tablica 1.), za oko red veličine više od tipičnih za rovinjski akvatorij. Tako visoke koncentracije mogu biti toksične za morske organizme. U izvještaju EPAe (1989) navodi se da je kontinuirano izlaganje koncentracijama  $\text{NH}_4^+$  od oko  $33 \mu\text{mol l}^{-1}$  kod saliniteta 30 i temperature od  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  toksično za morske organizme. Za  $\text{NH}_4^+$ , povišenje vrijednosti je zabilježeno u svim smjerovima oko difuzora otpadnih voda do udaljenosti od 150 m. U jeseni su vrijednosti bile višestruke nego ljeti, ali je ljeti povišenje zabilježeno na širem području. U sjeverozapadnom smjeru tijekom ljeta povišena koncentracija  $\text{NH}_4^+$  zabilježena je do udaljenosti od 300 m ( $4,14 \mu\text{mol l}^{-1}$ ), ali su te vrijednosti bile znatno niže od granice toksičnosti za morske organizme. Suprotno tome, za  $\text{PO}_4^{3-}$  (Slika 17.) visoke vrijednosti su zabilježene samo ljeti na području ispusta ( $0,36 \mu\text{mol l}^{-1}$ ), dok su već na 50 m od ispusta, a u jesen i kod samog ispusta, bile uobičajene za rovinjski akvatorij ( $0,01\text{-}0,08 \mu\text{mol l}^{-1}$ ) (Tablica 2.). Budući da je taj element limitirajući za rast mikrobne zajednice, uneseni je  $\text{PO}_4^{3-}$  bio je najvjerojatnije brzo asimiliran spriječavajući njegovu akumulaciju na području ispusta. Ljeti, otpadne vode se nisu znatno uzdizale prema površini, pa su koncentracije hranjivih soli u gornjim dijelovima vodenog stupca bile niske ( $\text{NH}_4^+$   $0,45\text{-}1,22 \mu\text{mol l}^{-1}$ ;  $\text{PO}_4^{3-}$   $0,00\text{-}0,09 \mu\text{mol l}^{-1}$ ) i tipične za rovinjski akvatorij.

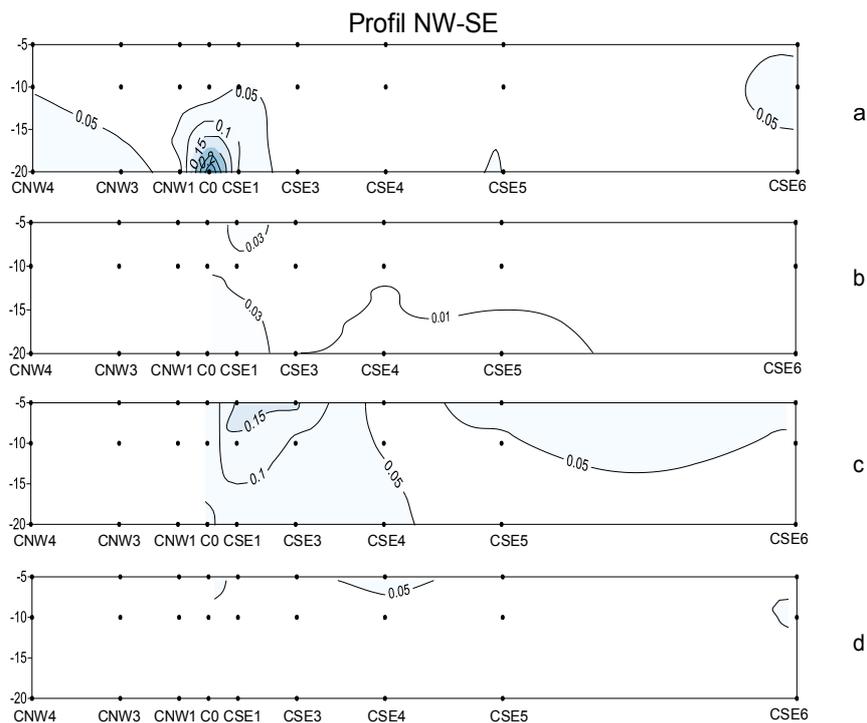
Tijekom zime su izmjerene povišene vrijednosti  $\text{NH}_4^+$  (do  $3,19 \mu\text{mol l}^{-1}$ ) i  $\text{PO}_4^{3-}$  (do  $0,17 \mu\text{mol l}^{-1}$ ) na području ispusta i na 150 m u jugoistočnom i sjeveroistočnom smjeru. U ožujku, utjecaj ispusta na koncentracije  $\text{NH}_4^+$  (do  $2,05 \mu\text{mol l}^{-1}$ ) zabilježen je na užem području do 50 m od ispusta. U tom razdoblju zbog povećanja intenziteta svjetla dolazi do povišene fitoplanktonske aktivnosti i korištenja raspoloživih hranjivih soli. Najvjerojatnije zbog toga su u ožujku koncentracije  $\text{PO}_4^{3-}$  ( $0,00\text{-}0,07 \mu\text{mol l}^{-1}$ ), koji je limitirajući za rast fitoplanktona i bakterija, na području ispusta bile niske.



Slika 16. Raspodjela amonijaka ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) na istraživanim postajama: a) 23. kolovoza 2010., b) 12. listopada 2010., c) 07. veljače 2011., d) 24. ožujka 2011., e) 06. svibnja 2011.

Zimi su zabilježene povišene koncentracije  $\text{NH}_4^+$  u cijelom vodenom stupcu oko ispusta. Iako su navedene vrijednosti bile veće od onih karakterističnih za rovinjski akvatorij u tom razdoblju, bile su znatno niže u odnosu na ljetne koncentracije. U ostatku uvale nije zabilježeno povišenje hranjivih soli ( $\text{NH}_4^+$  0,15-0,88  $\mu\text{mol l}^{-1}$ ;  $\text{PO}_4^{3-}$  0,03-0,07  $\mu\text{mol l}^{-1}$ ).

U proljeće su povišene vrijednosti  $\text{NH}_4^+$  (1,46-1,74  $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) registrirane samo na području ispusta (do 10 m od površine) i na 50 m u smjeru jugozapada. Na ostalim postajama vrijednosti su bile niske (0,07-0,57  $\mu\text{mol l}^{-1}$ ).



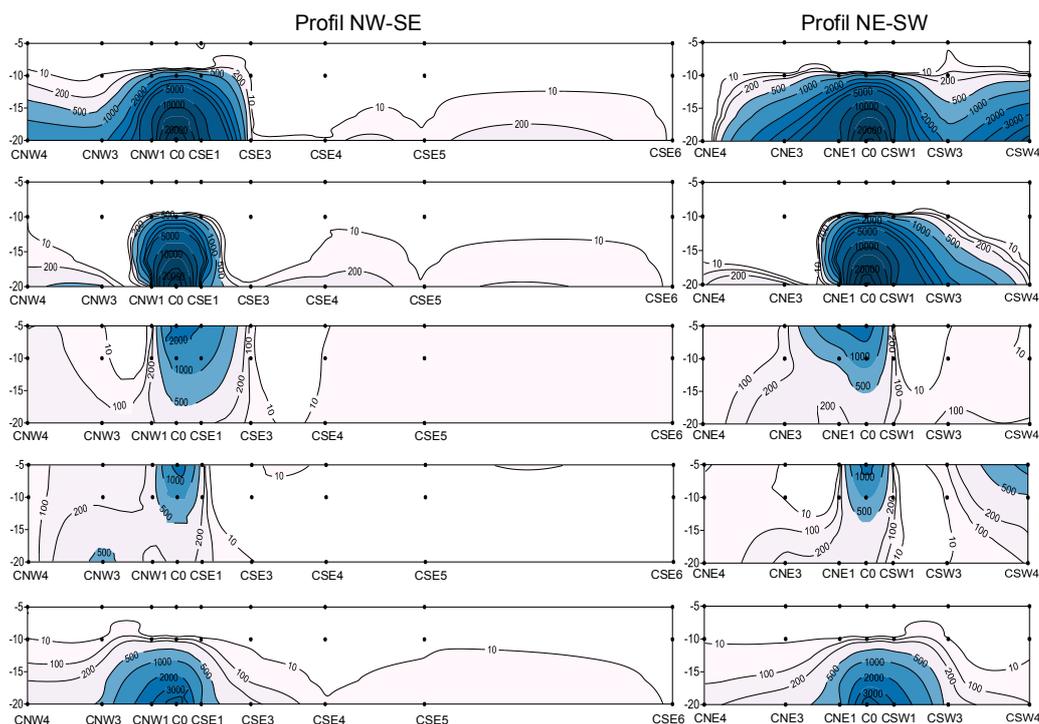
Slika 17. Raspodjela ortofosfata ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) na istraživanim postajama: a) 23. kolovoza 2010., b) 12. listopada 2010., c) 07. veljače 2011., d) 24. ožujka 2011.

Tablica 2. Raspon (R) i prosječne vrijednosti ( $\bar{x}$ ) za hranjive soli ( $\text{PO}_4^{3-}$  ortofosfat;  $\text{NO}_3^-$  nitrat;  $\text{NO}_2^-$  nitrit;  $\text{NH}_4^+$  amonijak) na referentnoj postaji RV001 za razdoblje 1970.-2010. (Ivančić i sur., 2014).

	srpanj-kolovoz				veljača	
	iznad termokline		ispod termokline		vodeni stupac	
	R	$\bar{x}$	R	$\bar{x}$	R	$\bar{x}$
$\text{PO}_4$ ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ )	0,00-0,10	0,02	0,00-0,10	0,04	0,00-0,04	0,02
$\text{NO}_3$ ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ )	0,00-3,73	0,49	0,01-2,42	0,36	0,35-3,92	1,02
$\text{NO}_2$ ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ )	0,00-0,21	0,04	0,00-0,59	0,06	0,08-0,28	0,31
$\text{NH}_4$ ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ )	0,00-1,48	0,22	0,00-1,68	0,52	0,40-1,31	0,40

### 6.1.3. Sanitarna kvaliteta mora

Procjena sanitarne kvalitete mora napravljena je prema Pravilniku o graničnim vrijednostima (NN 94/08) mikrobioloških pokazatelja za otpadne vode koje se ispuštaju u priobalne vode, a koriste se za kupanje i rekreaciju. U Tablici 3. Pravilnika granične vrijednosti su: za koliforme fekalnog porijekla (FK) 500 CFU 100 ml<sup>-1</sup>, a za streptokoke fekalnog porijekla (FS) 200 CFU 100 ml<sup>-1</sup>. Distribucija fekalnih koliforma i streptokoka (Slike 18. i 19.) (Pomoćna tablica 1.) u vodenom stupcu uvale Cuvi ovisila je o dubini i pokazala je smanjenje u koncentraciji oba indikatora u svim pravcima povećavanjem udaljenosti od ispusta. (za koliforme, ANOVA; faktor: udaljenost,  $F=17,807$ ,  $p<0,001$ ; faktor: dubina,  $F=33,842$ ,  $p<0,001$  i za streptokoke ANOVA; faktor: udaljenost,  $F=21,357$ ,  $p<0,001$ ; faktor: dubina,  $F=44,755$ ,  $p<0,001$ ). S druge strane sezonske promjene u distribuciji onečišćenja nisu bile statistički značajne (za koliforme, ANOVA;  $F=1,230$ ,  $p>0,05$  i streptokoke ANOVA;  $F=0,151$ ,  $p>0,05$ ).

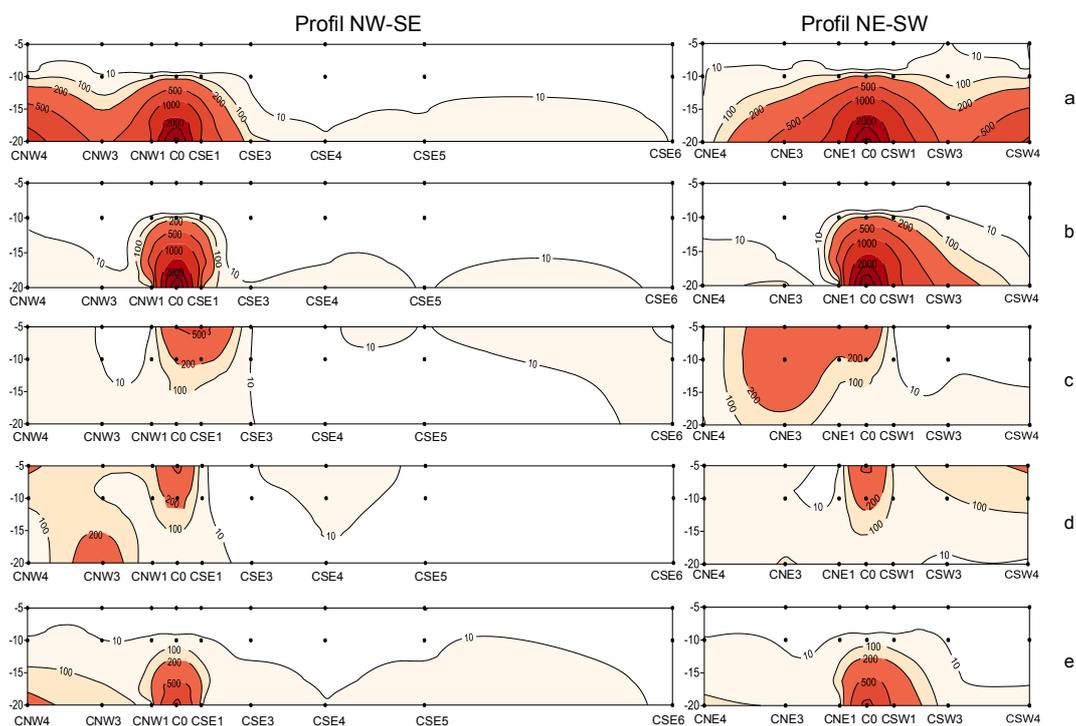


Slika 18. Raspodjela fekalnih koliforma na istraživanim postajama: a) 23. kolovoza 2010., b) 12. listopada 2010., c) 07. veljače 2011., d) 24. ožujka 2011., e) 06. svibnja 2011.

Postaja kod samog ispusta (C0) je imala najviše brojnosti indikatora tijekom svih uzorkovanja s vrijednostima značajno iznad propisanih granica (5 - 110 puta za fekalne

koliforme i 3 - 27 puta za fekalne streptokoke). Iako je maksimalna koncentracija fekalnih indikatora izmjerena kod ispusta u listopadu (55.000 CFU koliforma  $100 \text{ ml}^{-1}$  i 5.400 CFU streptokoka  $100 \text{ ml}^{-1}$ ) najveće širenje otpadnih voda zabilježeno je u kolovozu, kad je broj ljudi koji gravitira na gradsku kanalizaciju najveći. Pretpostavlja se da je visoki broj fekalnih indikatora u listopadu posljedica doprinosa oborinskih voda koje se slijevaju u gradski kanalizacijski sustav i koje mogu sadržavati veliki broj bakterija iz skupine koliforma i streptokoka porijeklom iz tla.

Minimum onečišćenja je registriran tijekom zime (2.700 CFU  $100 \text{ ml}^{-1}$  koliforma i 600 CFU  $100 \text{ ml}^{-1}$  streptokoka), dok su u proljeće maksimalne razine onečišćenja bile dvostruko veće (4.920 CFU koliforma  $100 \text{ ml}^{-1}$  i 1.200 CFU streptokoka  $100 \text{ ml}^{-1}$ ) u odnosu na zimu. Dok je trajala vertikalna raslojenost vodenog stupca fekalne bakterije nisu detektirane iznad 10 m dubine. U zimskom razdoblju kad nije bilo stratifikacije fekalni materijal je bio prisutan uglavnom u površinskom sloju. Dinamika vertikalne distribucije otpadnih voda bila je ista na svim lokacijama u uvali Cuvi.



Slika 19. Raspodjela fekalnih streptokoka na istraživanim postajama: a) 23. kolovoza 2010., b) 12. listopada 2010., c) 07. veljače 2011., d) 24. ožujka 2011., e) 06. svibnja 2011.

Na postajama koje su bile udaljene 50 m od ispusta (postaje C1) razina onečišćenja je i dalje prelazila granične vrijednosti, iako je bila manja za 2 do 20 puta u odnosu na sam ispust. Tijekom kolovoza i listopada zabilježene su najviše razine koje su bile oko 20 puta iznad graničnih vrijednosti. Jedino su tijekom ožujka izmjerene vrijednosti bile ispod propisanih granica.

Koncentracije indikatora na postajama koje su bile udaljene 150 m od ispusta (postaje C3) pokazale su veliku prostornu i vremensku varijabilnost. Generalno, razina onečišćenja na ovim postajama je bila umjerena a morske su struje imale važnu ulogu u distribuciji otpadnih voda. Tijekom svake sezone su zabilježene vrijednosti iznad graničnih u barem jednom smjeru, pogotovo tijekom ljeta i jeseni (do 8 puta više od graničnih za fekalne koliforme i do 2 puta za fekalne streptokoke). U veljači i ožujku vrijednosti su bile uglavnom ispod granice onečišćenja.

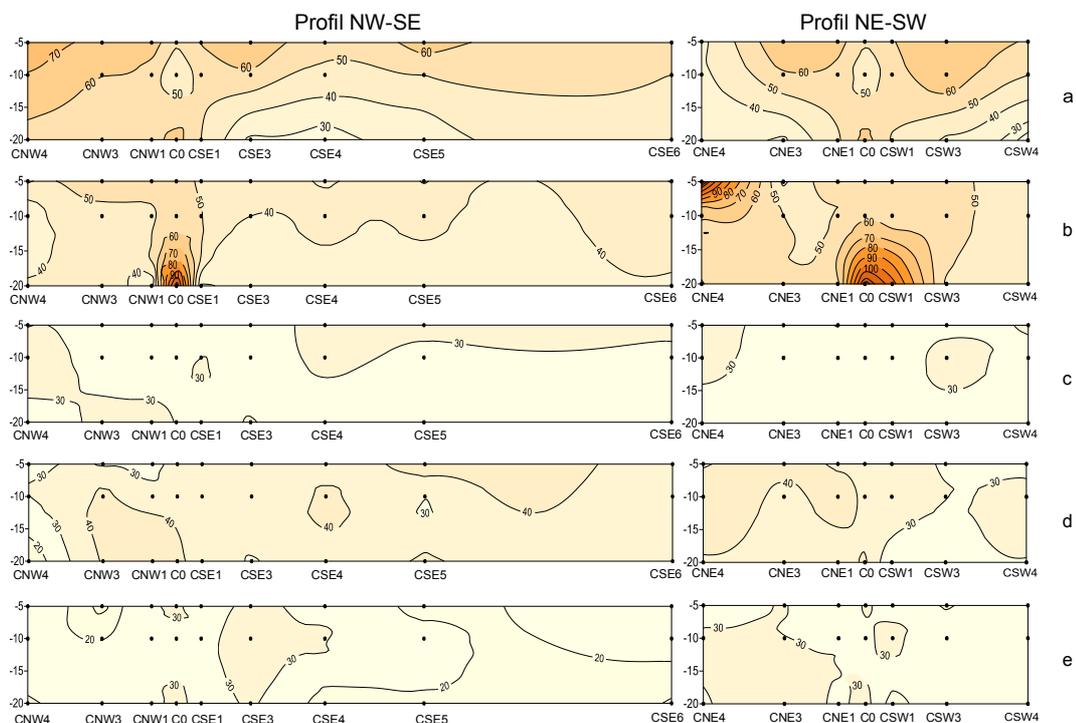
Postaje locirane 300 m od ispusta (postaje C4) pokazale su još veću varijabilnost. U većini slučajeva su vode bile umjereno onečišćene. U kolovozu, ožujku i svibnju su vrijednosti bile više od graničnih u barem jednom smjeru, dok su u ostalim mjesecima bile ispod granice. Značajne razine onečišćenja zabilježene su samo u kolovozu kada je razina bila 11 puta veća od dozvoljene za fekalne koliforme.

Na kontrolnoj postaji lociranoj 500 m jugoistočno od ispusta (C5SE) su tijekom cijele godine razine indikatora bile znatno niže od graničnih vrijednosti. U prosjeku je na ovoj postaji izmjereno 15 CFU 100 ml<sup>-1</sup> za koliforme i 8 CFU 100 ml<sup>-1</sup> za streptokoke. Na najudaljenijoj kontrolnoj postaji 1.000 m jugoistočno od ispusta (C6SE) more je bilo visoke kakvoće sa prosječnim vrijednostima nižim nego na 500 m (10 CFU 100 ml<sup>-1</sup> za koliforme i 5 CFU 100 ml<sup>-1</sup> za streptokoke).

#### **6.1.4. Brojnost heterotrofnih bakterija**

Tijekom 2010. i 2011. na svim postajama brojnost heterotrofnih bakterija ( $11,20-137,25 \cdot 10^7$  stanica l<sup>-1</sup>) (Slika 20.) je bila unutar uobičajenih vrijednosti za rovinjski akvatorij (Tablica 3.) (Pomoćna tablica 1.). U kolovozu i listopadu brojnosti bakterija su bile slične i značajno više nego u veljači i svibnju (ANOVA,  $p < 0,001$ ). Iako je brojnost bakterija bila najviša na dubini od 20 m na postaji C0, razlike između brojnosti bakterija izmjerenih na drugim postajama nisu bile statistički značajne. U listopadu 2010. u pridnenom sloju,

zabilježene su najveće brojnosti bakterija u krugu od 50 m oko ispusta, kad je izmjerena i najviša razina onečišćenja. U istom mjesecu, na postaji koja se nalazi na 300 m sjeveroistočno od ispusta registrirano je povećanje u brojnost bakterija istog reda veličine kao kod ispusta. U tom slučaju povišena brojnost bakterija nije bila posljedica utjecaja otpadnih voda. Vjerojatno je na to povišenje utjecalo izlivanje oborinskih voda s kopna budući da se ova postaja nalazi relativno blizu (350 m) obale. U kolovozu je povećanje brojnosti bakterija kod samog ispusta bilo minimalno u odnosu na druge postaje. U veljači, svibnju i ožujku nije zabilježena značajnija promjena u distribuciji bakterija između područja oko ispusta i onih najudaljenijih. Iz navedenog proizlazi da je utjecaj otpadnih voda na brojnost bakterija u uvali Cuvi limitiran i vidljiv samo pri najvišim razinama onečišćenja. Međutim i tada brojnost bakterija ostaje unutar raspona prirodne varijabilnosti rovinjskog akvatorija.



Slika 20. Raspodjela heterotrofnih bakterija na istraživanim postajama: a) 23. kolovoza 2010., b) 12. listopada 2010., c) 07. veljače 2011., d) 24. ožujka 2011., e) 06. svibnja 2011.

Tablica 3. Raspon (R) i prosječne vrijednosti ( $\bar{x}$ ) za brojnost heterotrofnih bakterija (HB) i specifičnu ugradnju timidina (sTdR) na referentnoj postaji RV001 (Ivančić i sur., 2014)

	srpanj-kolovoz				veljača	
	iznad termokline		ispod termokline		vodeni stupac	
	R	$\bar{x}$	R	$\bar{x}$	R	$\bar{x}$
HB ( $*10^7$ cell $\Gamma^{-1}$ ) <sup>b</sup>	37,5-242,8	115,9	30,4-186,6	91,5	30,6-162,2	87,8
sTdR (zmol cell <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ) <sup>c</sup>	11-125	87	14-129	87	32-563	221

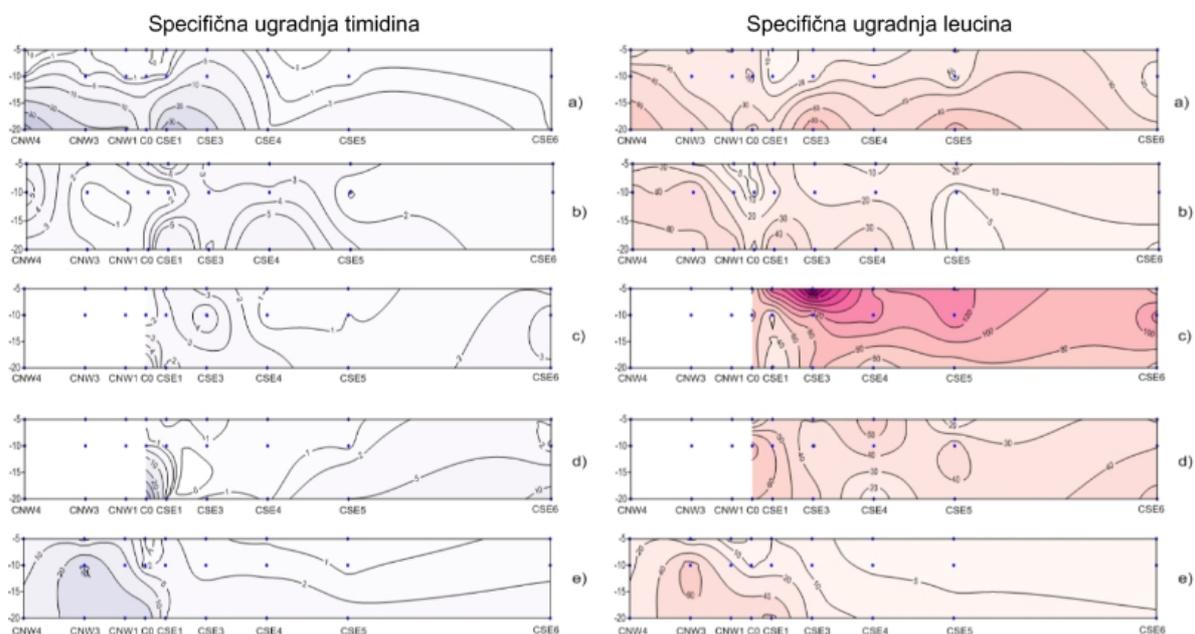
<sup>b</sup>-razdoblje mjerenja 1990.-2013.

<sup>c</sup>-razdoblje mjerenja 1990.-2007.

### 6.1.5. Bakterijska proizvodnja

Prostorna raspodjela specifične bakterijske proizvodnje mjerene brzinom ugradnje timidina (TdR) i leucina (LEU) u različitim sezonama prikazana je na Slici 21. (Pomoćna tablica 2.). Ugradnja leucina povezana je s proizvodnjom proteina, tj. povećanjem biomase bakterijske stanice. Ugradnja timidina uključuje sintezu DNA, što ukazuje na diobu stanica, tj. povećanje broja bakterija (Shiah i Ducklow, 1997). Sezonske promjene specifične ugradnje LEU i TdR u onečišćenom dijelu uvale Cuvi bile su slične kontrolnim postajama. Stope proizvodnje bakterijske biomase bile su značajno veće (Leu-ANOVA,  $F=27,251$ ,  $p<0,001$ ) tijekom zime ( $98,65\pm 60,13$  zmol/cell/h) u odnosu na proljeće ( $15,73\pm 17,41$  zmol/cell/h), ljeto ( $36,75\pm 29,68$  zmol/cell/h) i jesen ( $22,89\pm 16,36$  zmol/cell/h). Iako su na kontrolnim postajama u svakoj sezoni srednje vrijednosti ugradnje leucina bile niže u odnosu na područje pod utjecajem onečišćenja, ove srednje vrijednosti se nisu značajno razlikovale (t-test,  $p>0,05$ ). Stope bakterijskih staničnih replikacija (TdR-ANOVA,  $F=3,462$ ,  $p=0,018$ ) bile su značajno više tijekom ljeta ( $12,47\pm 24,64$  zmol/cell/h) nego tijekom jeseni ( $3,09\pm 2,15$  zmol/cell/h), zime ( $2,25\pm 1,84$  zmol/cell/h) ili proljeća ( $5,35\pm 7,51$  zmol/cell/h). Srednje vrijednosti ugradnje timidina po stanici registrirane na kontrolnim postajama tijekom ljeta ( $0,73\pm 0,35$  zmol/cell/h), jeseni ( $1,51\pm 0,47$  zmol/cell/h), i proljeća ( $1,42\pm 0,85$  zmol/cell/h) bile su značajno niže (t-test,  $p<0,05$ ) u odnosu na onečišćeno područje. Sezonska raspodjela L/T omjera (leucin/timidin)

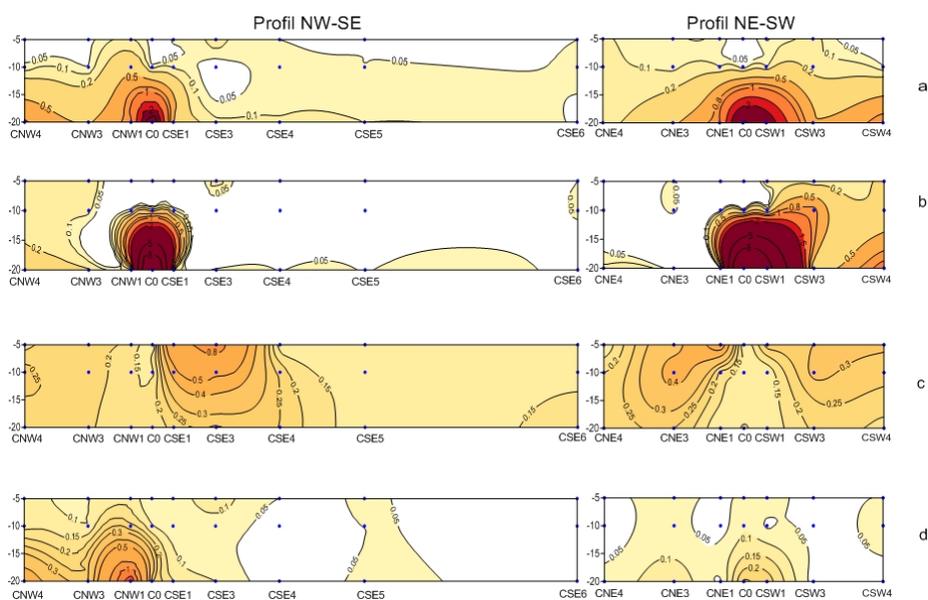
pratila je raspodjelu ugrađenog leucina, te je imala najveće vrijednosti tijekom zime ( $80,7 \pm 93,5$ ) u odnosu na druge sezone (proljeće:  $10,2 \pm 9,9$ , ljeto:  $16,1 \pm 20,2$  i jesen:  $11,4 \pm 17,5$ ; ANOVA  $F=14,668$ ,  $p < 0,001$ ). Stope bakterijske proizvodnje (Leu, TdR) na 20 m dubine pokazale su povećanje na većim udaljenostima od kanalizacijskog ispusta dok su u gornjim slojevima vodenog stupca (5 m i 10 m) bile ravnomjerno raspoređene. Iako se specifična ugradnja leucina nije prostorno bitno razlikovala među postajama, sveukupna produkcija biomase na 20 m bila je značajno viša nego na 5 m i 10 m (dvosmjerna ANOVA; faktor udaljenost:  $F=0,919$ ,  $p > 0,05$ , faktor dubina:  $F=6,687$ ,  $p=0,002$ ). Sličan trend je uočen za timidin, u odnosu na povećanje udaljenosti od izvora onečišćenja i dubinu (dvosmjerna ANOVA; faktor udaljenost:  $F=1,108$ ,  $p > 0,05$ , faktor dubina:  $F=31,920$ ,  $p < 0,001$ ). Međutim omjeri L/T bili su slični na svim udaljenostima ali svi značajno niži od omjera L/T izmjerenog na postaji C0, sa višim vrijednostima na 5 m i 10 m u odnosu na 20 m (dvosmjerna ANOVA; faktor udaljenost:  $F=3,158$ ,  $p=0,016$ , faktor dubina:  $F=4,713$ ,  $p=0,010$ ).



Slika 21. Raspodjela bakterijske proizvodnje (zmol/cell/h) na istraživanim postajama: a) 23. kolovoza 2010., b) 12. listopada 2010., c) 07. veljače 2011., d) 24. ožujka 2011., e) 06. svibnja 2011.

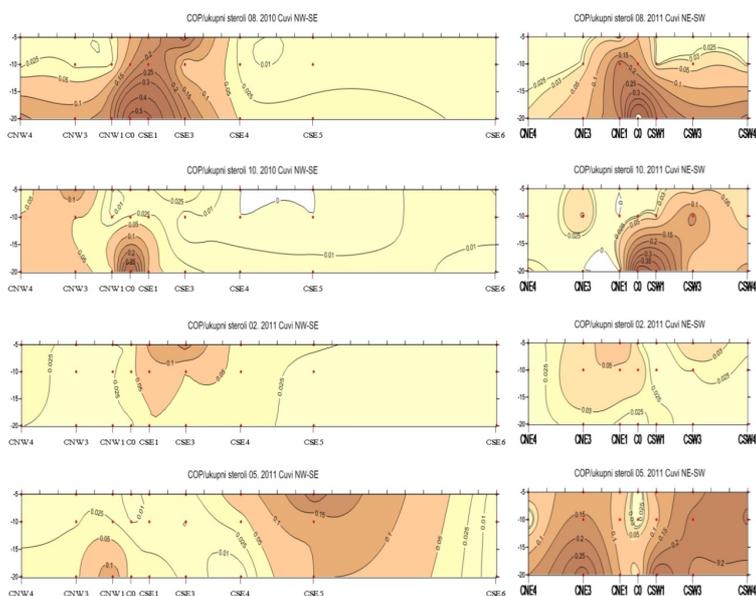
### 6.1.6. Fekalni steroli

Koncentracije koprostanola (COP) u uvali Cuvi (Slika 22) (Pomoćna tablica 3.) ovisile su o dubini, o udaljenosti od ispusta i o sezoni. Sezonski, razine COP-a varirale su u širokim rasponima (ljetno:  $0,01-3,13 \mu\text{g l}^{-1}$ ,  $0,26 \pm 0,44 \mu\text{g l}^{-1}$ ; jesen:  $0,00-15,10 \mu\text{g l}^{-1}$ ,  $0,56 \pm 1,43 \mu\text{g l}^{-1}$ ; zima:  $0,10-0,94 \mu\text{g l}^{-1}$ ,  $0,26 \pm 0,17 \mu\text{g l}^{-1}$ ; proljeće:  $0,00-1,37 \mu\text{g l}^{-1}$ ,  $0,12 \pm 0,22 \mu\text{g l}^{-1}$ ) ali između sezonskih prosjeka nije pronađena statistički značajna razlika (ANOVA;  $F=1,465$ ,  $p>0,05$ ). S druge strane koncentracije COP-a na 20 m dubine su bile značajno veće nego na 10 m i na 5 m. Kod samog ispusta kanalizacije razine COP-a su bile najviše (C0:  $1,6 \pm 4,35 \mu\text{g l}^{-1}$ ,  $0,03-15,14 \mu\text{g l}^{-1}$ ) i postepeno su se smanjivale u svim pravcima (SW:  $0,54 \pm 1,54 \mu\text{g l}^{-1}$ ,  $0,02-9,11 \mu\text{g l}^{-1}$ , NW:  $0,25 \pm 0,28 \mu\text{g l}^{-1}$ ,  $0,02-1,37 \mu\text{g l}^{-1}$ , NE:  $0,15 \pm 0,20 \mu\text{g l}^{-1}$ ,  $0,00-0,98 \mu\text{g l}^{-1}$  i SE:  $0,13 \pm 0,17 \mu\text{g l}^{-1}$ ,  $0,00-0,94 \mu\text{g l}^{-1}$ ). Razine COP-a na 20 m dubine značajno su se smanjivale udaljavanjem od ispusta prelazeći sa  $4,67 \pm 7,11 \mu\text{g l}^{-1}$  na postaji C0, na  $1,04 \pm 2,25 \mu\text{g l}^{-1}$  na 50 m udaljenosti,  $0,22 \pm 0,15 \mu\text{g l}^{-1}$  na 150 m,  $0,32 \pm 0,36 \mu\text{g l}^{-1}$  na 300 m sve do  $0,04 \pm 0,04 \mu\text{g l}^{-1}$  na kontrolnim točkama. Koncentracije COP-a na 5 m i na 10 m bile su vrlo slične i značajno niže nego na 20 m (dvosmjerna ANOVA; faktor udaljenost:  $F=3,717$ ,  $p=0,006$ ; faktor dubina:  $F=10,214$ ,  $p<0,001$ ). I u ovom slučaju vidljivo je kako vertikalno raslojavanje vodenog stupca u toplijem dijelu godine imalo je važnu ulogu u difuziji COP-a u vodi.



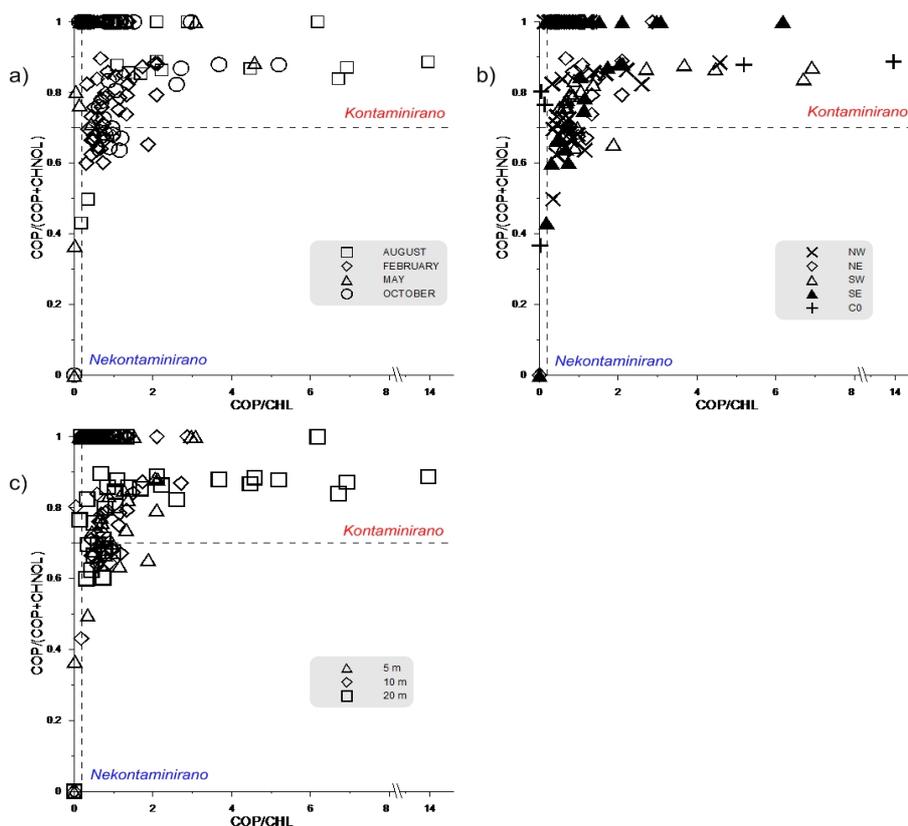
Slika 22. Raspodjela koprostanola ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ) na istraživanim postajama: a) 23. kolovoza 2010., b) 12. listopada 2010., c) 07. veljače 2011., d) 06. svibnja 2011.

Vrijednosti omjera koprostanola i ukupnih sterola (Pomoćna tablica 3.) se mogu koristiti za određivanje porijekla organskog materijala u sustavima gdje postoje različiti izvori organske tvari. Uzorci u kojima je udio koprostanola u ukupnim sterolima veći od 5% se mogu smatrati fekalnog porijekla. U vodama uvale Cuvi srednje vrijednosti omjera su bile najveće u kolovozu (10,25%) i najniže u veljači (3,54%), dok su u svibnju (8,73%) bile više nego u listopadu (4,95%). Iz sezonske i prostorne raspodjele omjera COP/ukupni steroli (Slika 23.), vidi se da je u kolovozu i listopadu materijal fekalnog porijekla rasprostranjen u krugu od 50 m do 300 m, uglavnom na 20 m dubine oko kanalizacijskog ispusta. Međutim, u kolovozu indeks ukazuje na značajnu prisutnost fekalnog materijala iznad termokline (na 5 m dubine), što nije u skladu sa vrijednostima bakterijskih indikatora. Treba uzeti u obzir da je taj indeks baziran na omjer koncentracija sterola i da je njihovo zadržavanje u vodenom stupcu duže u odnosu na fekalne bakterije. Izmjerene vrijednosti omjera sterola najvjerojatnije označavaju trag kratkoročnog prisutstva otpadnih voda blizu površine mora kao posljedica turbulentnog gibanja ispuštenih voda koje se oslobađaju iz difuzora svakih 15-60 minuta. Tijekom veljače omjer je ukazao na prisutnost onečišćenja u površinskom sloju. U svibnju omjera je bio visoke na svim dubinama u sjeveroistočnom i jugozapadnom smjeru. Također registrirano je povećanje i u površinskim vodama jugoistočnog smjera, dok su razine oko ispusta bile neočekivano niske. Budući da je vodeni stupac dinamičan sustav, rezultate mjerenja treba sagledati kao prikaz jednog stanja koji ovisi o trenutnoj aktivnosti ispusta, o strujama i procesima difuzije u vodenom stupcu.



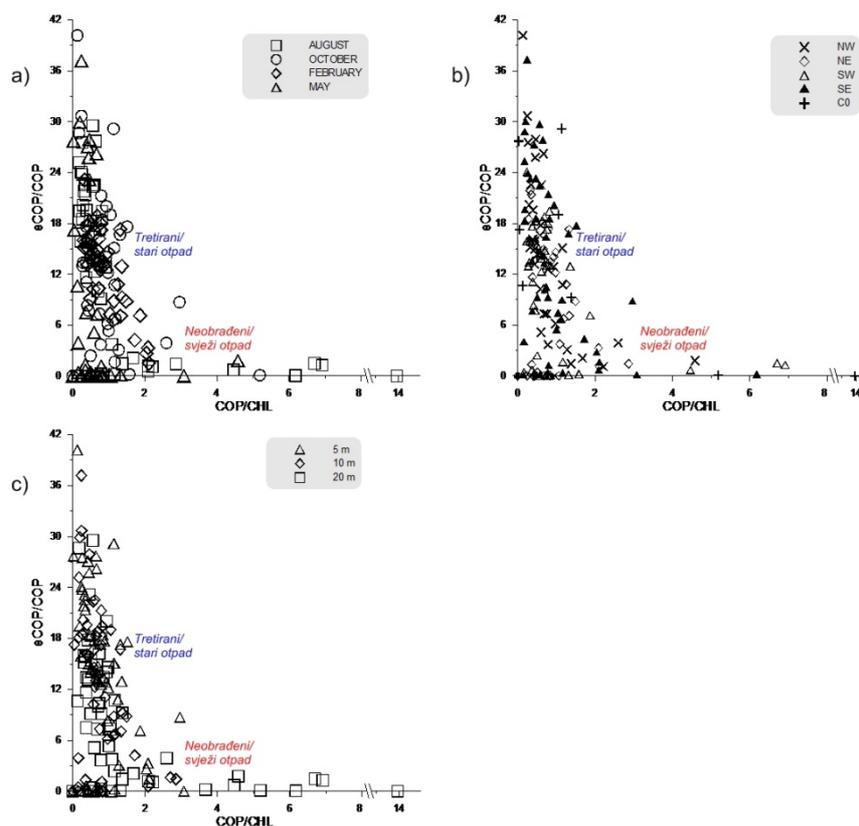
Slika 23. Raspodjela omjera koprostanola i ukupnih sterola na istraživanim postajama.

Prema dijagnostičkim indeksima za sterole (Grimalt i sur., 1990) vrijednosti omjera epimera koprostanola  $COP/(COP+CHNOL)$  koje su veće od 0,7 i omjera  $(COP/CHL)$  koje su veće od 0,2 ukazuju na prisutnost fekalnog onečišćenja. U vodama uvale Cuvi vrijednosti omjera (Slika 24.) su značajno varirale tijekom godine ali su bile uniformno distribuirane u svakoj sezoni (dvosmjerna ANOVA; faktor sezona:  $F=9,076$ ,  $p<0,001$ ; faktor: dubina:  $F=0,363$ ,  $p>0,05$ ). Srednja vrijednost omjera  $COP/(COP+CHNOL)$  u ljetnom periodu ( $0,95\pm 0,12$ ) bila je značajno veća u odnosu na srednje vrijednosti omjera u drugim sezonama koje su međusobno bile jako slične: proljeće ( $0,75\pm 0,32$ ), zima ( $0,77\pm 0,11$ ) i jesen ( $0,65\pm 0,41$ ). Vrijednosti omjera  $COP/(COP+CHNOL)$  postepeno su opadale udaljavanjem od ispusta ali statistički značajne razlike su bile vidljive samo pri usporedbi postaja pod utjecajem onečišćenja i kontrolnih postaja (ANOVA,  $F=2,500$ ,  $p=0,045$ ). Generalno, vrijednosti ovog dijagnostičkog indeksa označavaju prisutnost fekalnog onečišćenja u većem području u odnosu na mikrobiološke indikatore u skladu sa rezultatima dobivenim omjerom koprostanola i ukupnih sterola.



Slika 24. Dijagnostički indeks - odnos koprostanol/(koprostanol+kolestanol) i koprostanol/kolesterol te raspodjela uzoraka prema a) mjesecima, b) smjerovima i c) dubinama.

Prikaz omjera  $eCOP/COP$  i  $COP/CHL$  (Slika 25.) može ukazati na stupanj tretmana otpadnih voda ili na dob fekalnog materijala u sustavu. Većina uzoraka je imala visoke koncentracije epikoprostanola pa su vrijednosti omjera  $eCOP/COP$  ( $0,0 - 40,2$ ,  $10,4 \pm 9,4$ ) također bile visoke. Zbog toga je većina uzoraka spadala u područje tretiranih otpadnih voda ili starijeg fekalnog materijala. Niže vrijednosti omjera ( $eCOP/COP < 1$ ) registrirane su u kolovozu na dubini od 20 m na postaji C0 kao i u pravcima sjeverozapada (NW) i jugozapada (SW). Omjeri su se značajno mijenjali tijekom godine i bili su veći tijekom ljeta ( $11,97 \pm 10,08$ ) i zime ( $12,54 \pm 4,65$ ) u odnosu na proljeće ( $9,50 \pm 9,97$ ) i jesen ( $7,80 \pm 11,12$ ) (ANOVA; faktor sezona:  $F=2,688$ ,  $p=0,048$ ). Također isti omjeri su bili veći na 5 m i 10 m u odnosu na 20 m (ANOVA; faktor: dubina:  $F=5,217$ ,  $p=0,006$ ). Omjer je imao uniformnu distribuciju povećavanjem udaljenosti od ispusta bez obzira na smjer (ANOVA,  $F=0,713$ ,  $p>0,05$ ).



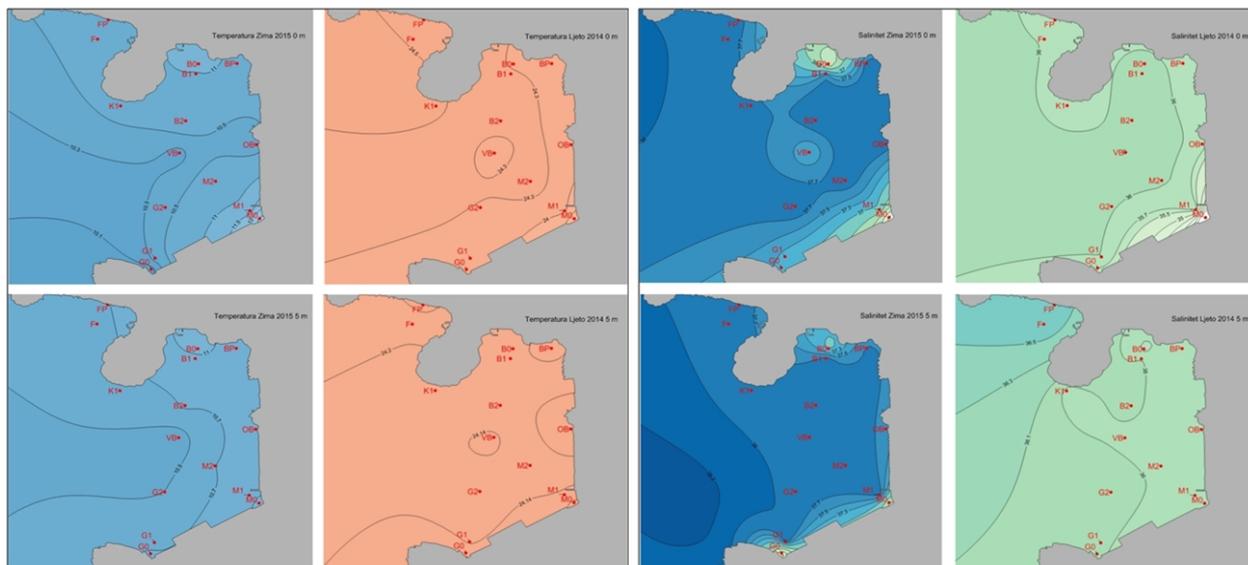
Slika 25. Dijagnostički indeks - odnos epikoprostanol/koprostanol i koprostanol/kolesterol te raspodjela uzoraka prema a) mjesecima, b) smjerovima i c) dubinama.

## 6.2. Uvala Valdibora vodeni stupac

### 6.2.1. Opći hidrografski uvjeti

Tijekom ljeta 2014. temperature (Slika 26.) (Pomoćna tablica 4.) su se kretale oko  $24,2^{\circ}\text{C}$  u cijelom vodenom stupcu do 15 m dubine. Prema tome, dio vodenog stupca zahvaćen onečišćenjem bio je karakteriziran vertikalnom izotermijom. Salinitet (Slika 26.) (Pomoćna tablica 4.) je također bio dosta homogen sa blagim povećanjem od površine (36,00) do 15 m dubine (36,94). Horizontalna distribucija saliniteta je pokazala blago smanjenje saliniteta u unutarnjem dijelu uvale. Na području industrijskog ispusta na postaji M0, temperatura u površinskom sloju je bila niža za  $1^{\circ}\text{C}$  u odnosu na prosjek, dok je salinitet bio značajno manji na 0 m (31,18). Blago sniženje saliniteta registrirano je i na 5 m dubine ispred kanalizacijskog ispusta kod bolničkog naselja (B0). U zimskom razdoblju 2015. godine vladala je vertikalna izotermija vodenog stupca s prosječnom temperaturom od  $10,7^{\circ}\text{C}$ .

Vrijednosti saliniteta su također bile uniformne u cijelom vodenom stupcu i kretale se oko 37,40. Međutim kraj svih ispusta, razine saliniteta su bile snižene, pogotovo kod ispusta tvornice (34,69), a temperature više za 1<sup>0</sup>C do 2<sup>0</sup>C.

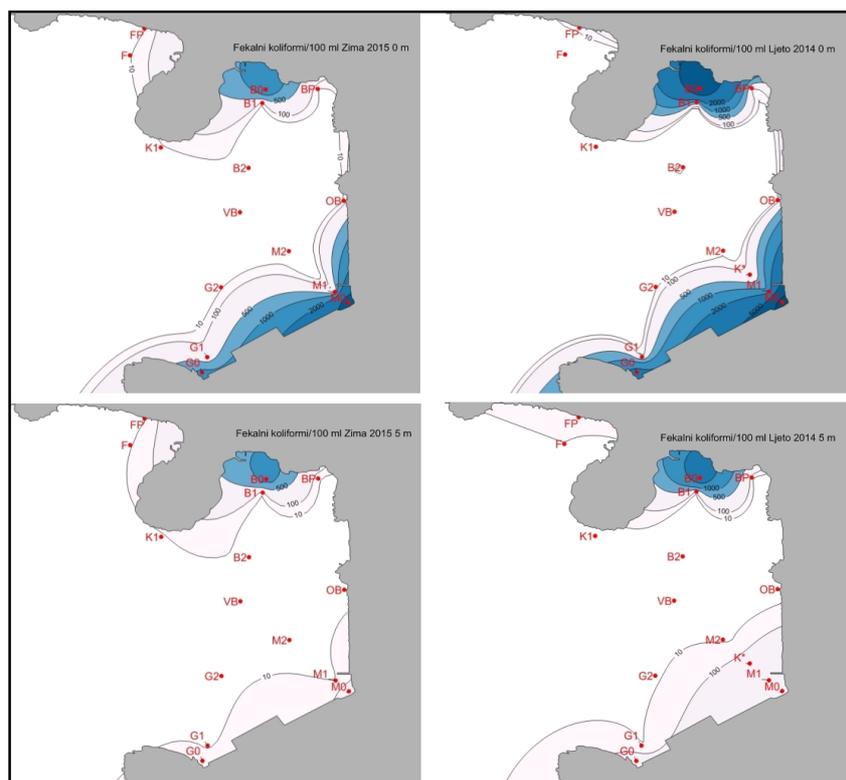


Slika 26. Raspodjela temperature (lijevo) i saliniteta (desno) u uvali Valdibora tijekom ljeta i zime na 0 m i na 5 m.

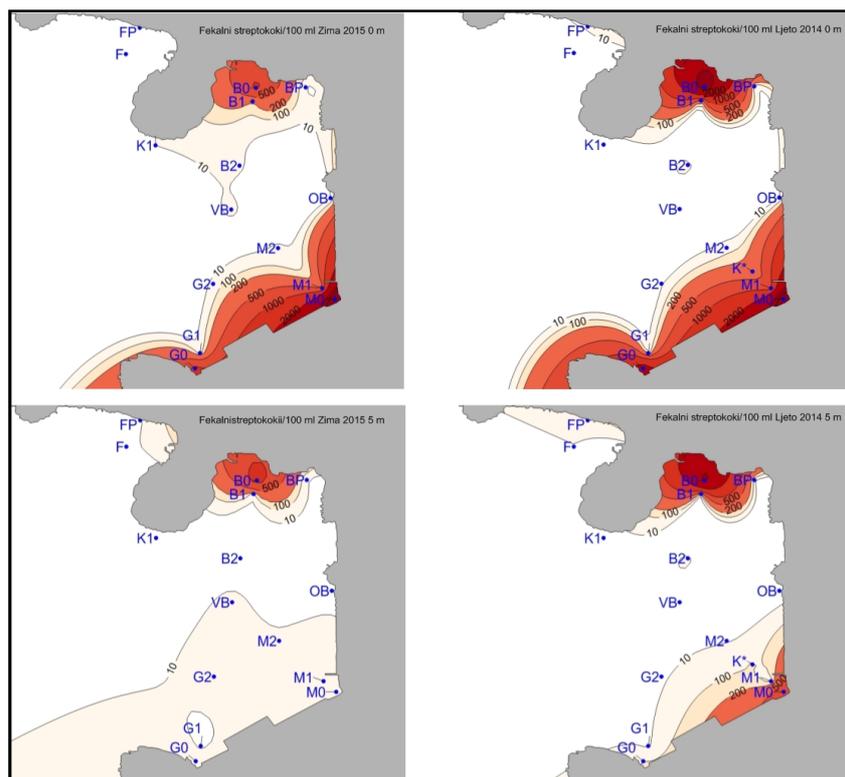
### 6.2.2. Sanitarna kvaliteta mora

Najveće koncentracije fekalnih indikatora (Slike 27. i 28.) (Pomoćna tablica 4.) zabilježene su kraj samih ispusta na postajama M0, B0 i G0. Na ovim su lokacijama tijekom svih uzorkovanja razine onečišćenja prelazile propisane granice sa maksimalnim vrijednostima od 12.800 FK/100 ml i 6.500 FS/100 ml tijekom ljeta na površini kod ispusta tvornice za preradu ribe (M0). Kod ispusta kanalizacije bolničkog naselja (B0), najviše koncentracije fekalnih koliforma i streptokoka registrirane su također u ljetnom razdoblju (9.300 FK/100 ml i 5.200 FS/100 ml) na površini mora. Visoke razine onečišćenja (2.700 FK/100 ml i 2.700 FS/100 ml) su bile prisutne i na postaji G0 gdje se kanalizacija dijela starog grada direktno slijeva u more. Na postajama M0 i G0 razine onečišćenja na 5 m bile su znatno niže nego na površini jer se otpadne vode ispuštaju na pola metra dubine i šire se u površinskom sloju mora. S druge strane na postaji B0 gdje se otpadne vode ispuštaju na 9 m

dubine onečišćenje je bilo slično u cijelom vodenom stupcu. Na 50 m udaljenosti od gradskih ispusta (G1 i B1) razina onečišćenja je bila reda veličine manja i u većini slučajeva ispod propisanih granica. Samo su na postaji M1 na 50 m od industrijskog ispusta zabilježene visoke razine onečišćenja u ljetnom razdoblju na površini. Tijekom ljetnog uzorkovanja primijećena je velika količina suspendiranog masnog materijala koji se širio do 120 m od industrijskog ispusta. Na rubu masne mrlje (postaja K\*) koncentracija fekalnih streptokoka (380 FS/100 ml) prelazila je granične vrijednosti i bila je viša od fekalnih koliforma (190 FK/100 ml), koji su također bili povišeni ali ipak ispod granice. Na svim ostalim postajama razine onečišćenja su bile jako niske. Mjerenja kod postaje OB na kraju kanala oborinskih voda nisu pokazala prisutnost fekalnog onečišćenja.



Slika 27. Raspodjela fekalnih koliforma (FK/100 ml) u Valdibori tijekom ljeta i zime na 0 m i 5 m.

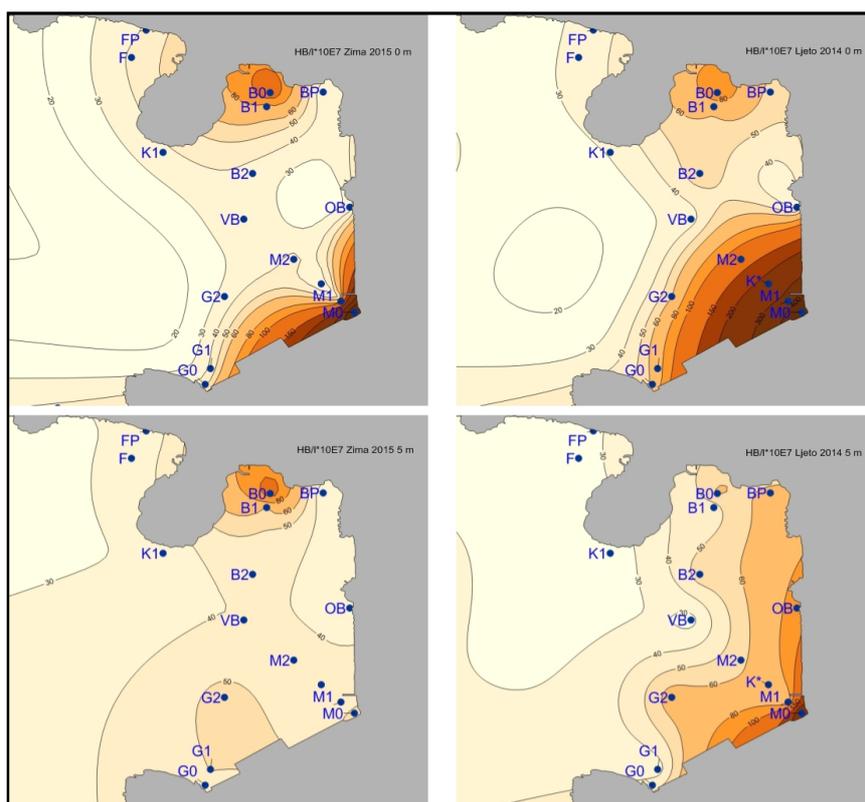


Slika 28. Raspodjela fekalnih streptokoka (FS/100 ml) u Valdibori tijekom ljeta i zime na 0 m i na 5m.

### 6.2.3. Brojnost heterotrofnih bakterija

U onečišćenom obalnom pojasu uvala Valdibora (postaje M0, M1, G0, G1, B0, B1) broj bakterija je bio statistički značajno viši u odnosu na udaljene postaje (M2, VB, K1, G2, B2, F) (ANOVA,  $F=5,283$ ,  $p=0,026$ ). Najveće brojnosti heterotrofnih bakterija (Slika 29.) (Pomoćna tablica 4.) registrirane su tijekom ljeta u površinskim vodama kraj industrijskog ispusta na postajama M0 ( $5,31 \cdot 10^9$  bakterija/l), M1 ( $3,88 \cdot 10^9$  bakterija/l) i K\* ( $2,48 \cdot 10^9$  bakterija/l). Ovakve abundancije su izrazito visoke i prelaze granice prirodnih varijacija brojnosti bakterija u rovinjskom priobalju (Tablica 3.). Na postaji M2 na 300 m od industrijskog ispusta abundancija bakterija ( $1,25 \cdot 10^9$  bakterija/l) je također bila povišena u odnosu na druge postaje, ali ipak unutar prirodnih granica. Povišene brojnosti bakterija pronađene su i kraj kanalizacijskog ispusta kod bolničkog naselja B0 ( $1,37 \cdot 10^9$  bakterija/l). Kraj ispusta staroga grada i kanala oborinskih voda nije izmjereno povećanje broja bakterija u odnosu na postaje koje su bile izvan onečišćenog područja. U zimskom razdoblju brojnosti bakterija su bile snižene u odnosu na ljeto u cijeloj uvali, ali statistička razlika između sezona nije bila značajna (ANOVA,  $F=0,905$ ,  $p=0,346$ ). Na postaji B0 brojnost bakterija je bila

povećana na površini i na 5 m dubine. S druge strane u skladu sa preferencijalnim širenjem industrijskih otpadnih voda na samoj površini mora, postaje M0, M1, K\* i M2 pokazale su velike razlike između abundancija bakterija na 0 m i na 5 m dubine tijekom svih uzorkovanja. Općenito je u uvali Valdibora brojnost bakterija bila dobro korelirana sa indikatorima fekalnog onečišćenja.

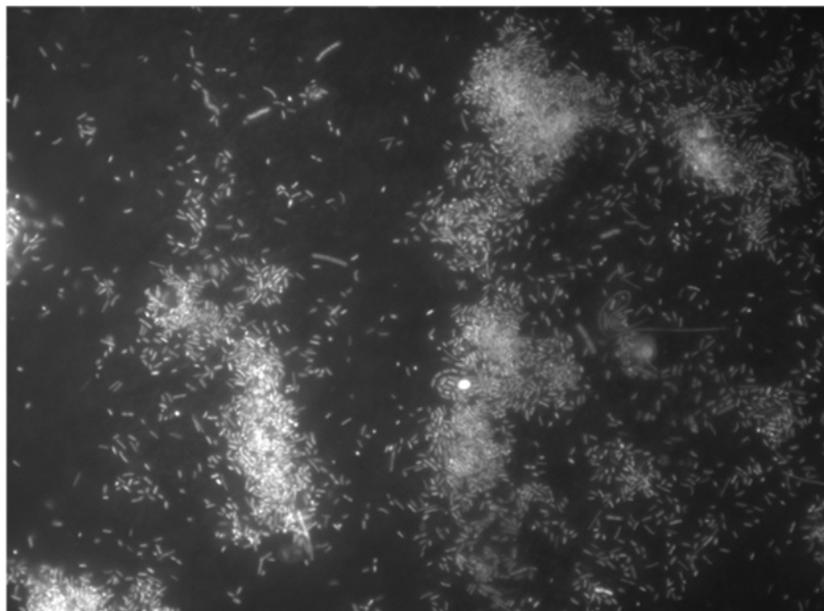


Slika 29. Raspodjela heterotrofnih bakterija ( $HB/I \cdot 10^{-7}$ ) u uvali Valdibora tijekom ljeta i zime na 0 m i 5 m.

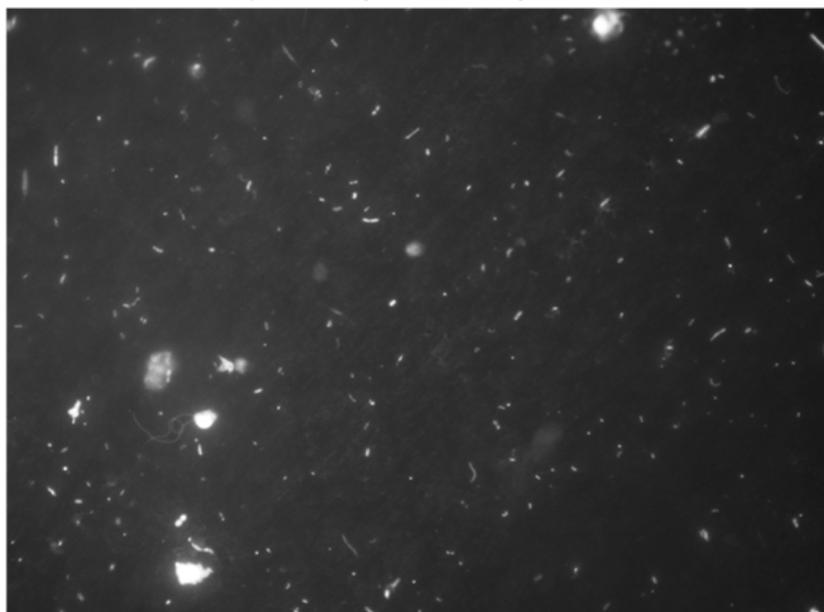
Osim što su heterotrofne bakterije imale veću brojnost, pogotovo u području pod utjecajem ispusta industrijskih voda, njihove dimenzije su bile također veće u odnosu na neonečišćena područja u svim sezonama (Slika 30.). Kao što se može vidjeti na slici, na postaji M0 bakterije su bile uglavnom prilijepljene za masni partikulat porijeklom iz tvornice za preradu ribe. Slična distribucija je bila uočljiva na postaji M1 na 50 m i na postaji K\* na

120 m od ispusta. Na svim drugim lokacijama bakterije su imale manje dimenzije i bile su uglavnom slobodne u vodenom stupcu.

a) Bakterije na postaji M0 0m



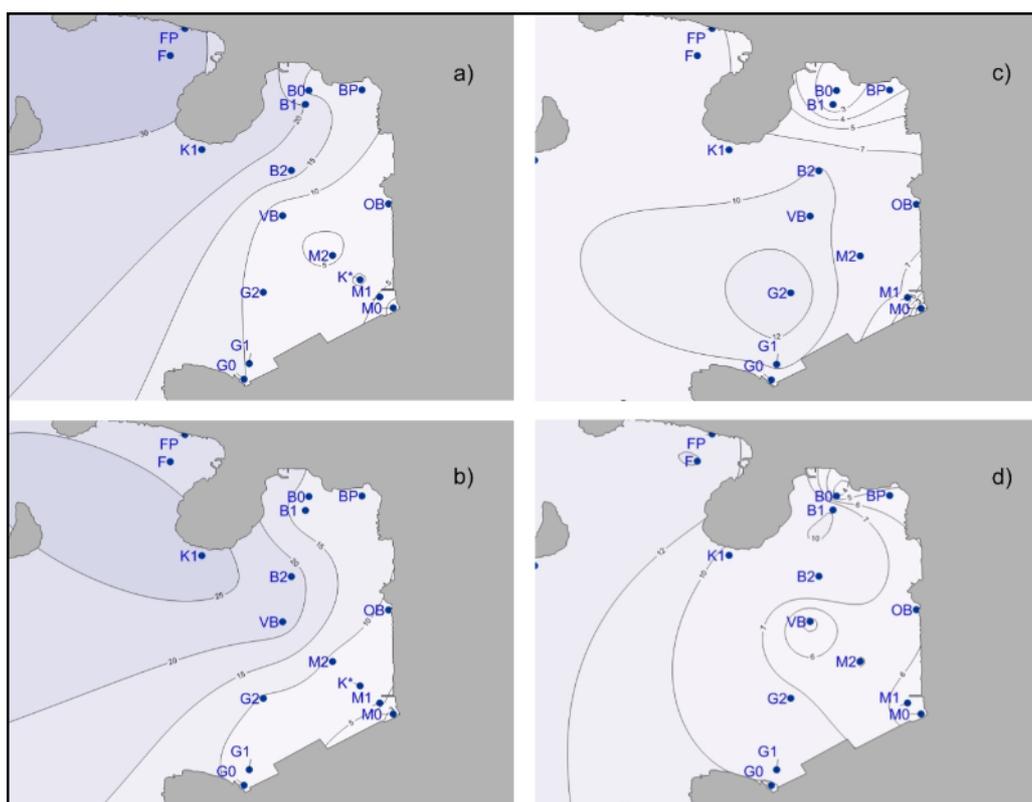
b) Bakterije na postaji VB 0m



Slika 30. Slike heterotrofnih bakterija na epifluorescentnom mikroskopu a) na postaji M0 kod industrijskog ispusta i b) na postaji VB u sredini Valdibore na 600 m od postaje M0.

#### 6.2.4. Bakterijska proizvodnja

Bakterijska proizvodnja, procijenjena pomoću specifične stope ugradnje timidina (Slika 31.) (Pomoćna tablica 4.), bila je statistički značajno niža na postajama (M0, M1, G0, G1 B0, B1) u blizini kanalizacijskih i industrijskih ispusta (ANOVA,  $F=7,257$ ,  $p=0,010$ ). Korelacija između koncentracija fekalnih indikatora i specifične ugradnje timidina nije bila statistički značajna (ANOVA,  $F=2,247$ ,  $p=0,140$ ). Uočena je blaga negativna korelacija između abundancije bakterija i specifične stope ugradnje timidina ( $R=-0,37$ ,  $p=0,007$ ). U zimskom razdoblju bakterijska proizvodnja je bila niža u odnosu na ljetno u cijeloj uvali. Najniže razine izmjerene su na postaji M0 (1  $\text{zmol/cell/h}$  tijekom zime i 2  $\text{zmol/cell/h}$  tijekom ljeta). Vrijednosti specifične proizvodnje u onečišćenim područjima su bile od 2 do 11 puta manje u odnosu na vrijednosti kod kontrolne točke K1. Usporedbom s dugoročnim podacima o specifičnoj proizvodnji u sjevernom Jadranu (Tablica 3.) vrijednosti izmjerene u uvali Valdibori su bile uobičajene u ljetnom razdoblju i relativno niske zimi u cijelom akvatoriju.

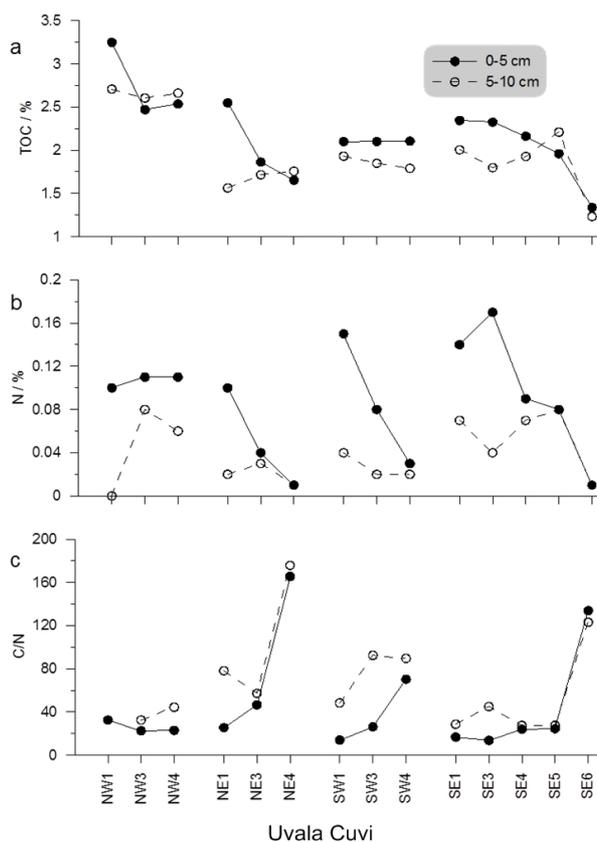


Slika 31. Raspodjela specifične ugradnje timidina ( $\text{zmol/cell/h}$ ) u Valdibori tijekom ljeta na 0 m (a) i na 5 m (b) te tijekom zime na 0 m (c) i na 5 m (d).

### 6.3. Sediment (Cuvi, Valdibora i Južna luka)

#### 6.3.1. Elementarni sastav, granulometrija i redox potencijal

U površinskim sedimentima uvale Cuvi ukupni organski ugljik (TOC) (Slika 32. a) varirao je od 1,34% do 3,25%, a ukupni dušik (N) (Slika 32.b) između 0,01% i 0,17%. Udaljavanjem od kanalizacijskog ispusta, sadržaj oba elementa je opadao ili ostajao konstantan u određenim smjerovima SW (TOC) ili NW (N). Općenito u dubljem sloju sedimenta (5-10 cm), vrijednosti TOC-a bile su niže i manje varijabilne nego u površinskom sloju sedimenta (0-5 cm) u svim smjerovima, za razliku od vrijednosti dušika koje su imale nepravilnu distribuciju (Slika 32. b). Na postajama bliže ispustu razlika između površinskih i dubljih sedimenta bila je najveća, dok s povećavanjem udaljenosti koncentracije su bile sličnije. U skladu s time, omjer TOC/N (Slika 32. c) mijenjao se je slično kao N. U površinskom sloju vrijednosti omjera TOC/N pokazale su tendenciju rasta od ispusta prema neonečišćenim postajama (Slika 32. c).

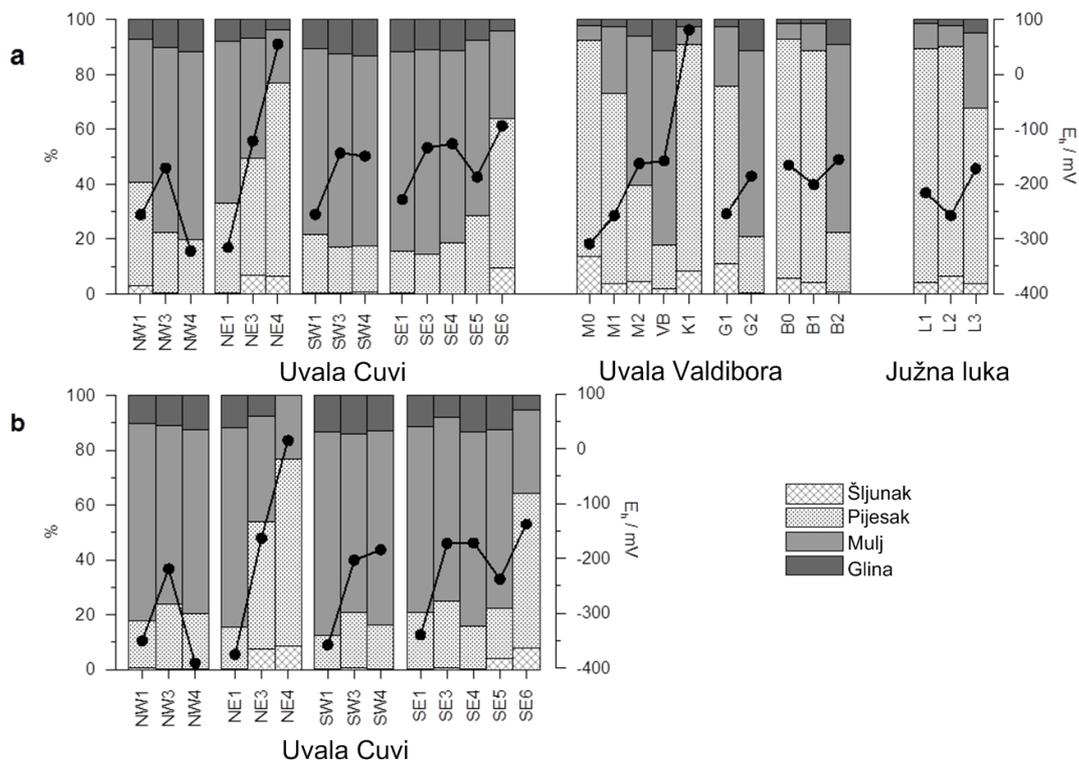


Slika 32. Prostorne promjene a) ukupnog organskog ugljika (TOC), b) dušika (N) i c) njihovog omjera (C/N) u površinskim i dubljim sedimentima uvale Cuvi.

Tipovi sedimenta određeni su pomoću klasifikacije prema Folku (1954) na temelju udjela šljunka, pijeska i mulja. Analiza veličine zrna sedimenta je pokazala da je struktura sedimenta u uvali Cuvi bila sastavljena većinom od mulja. S druge strane sedimenti u uvali Valdibora i u južnoj luci bili su uglavnom sastavljeni od pijeska (Pomoćna tablica 1.).

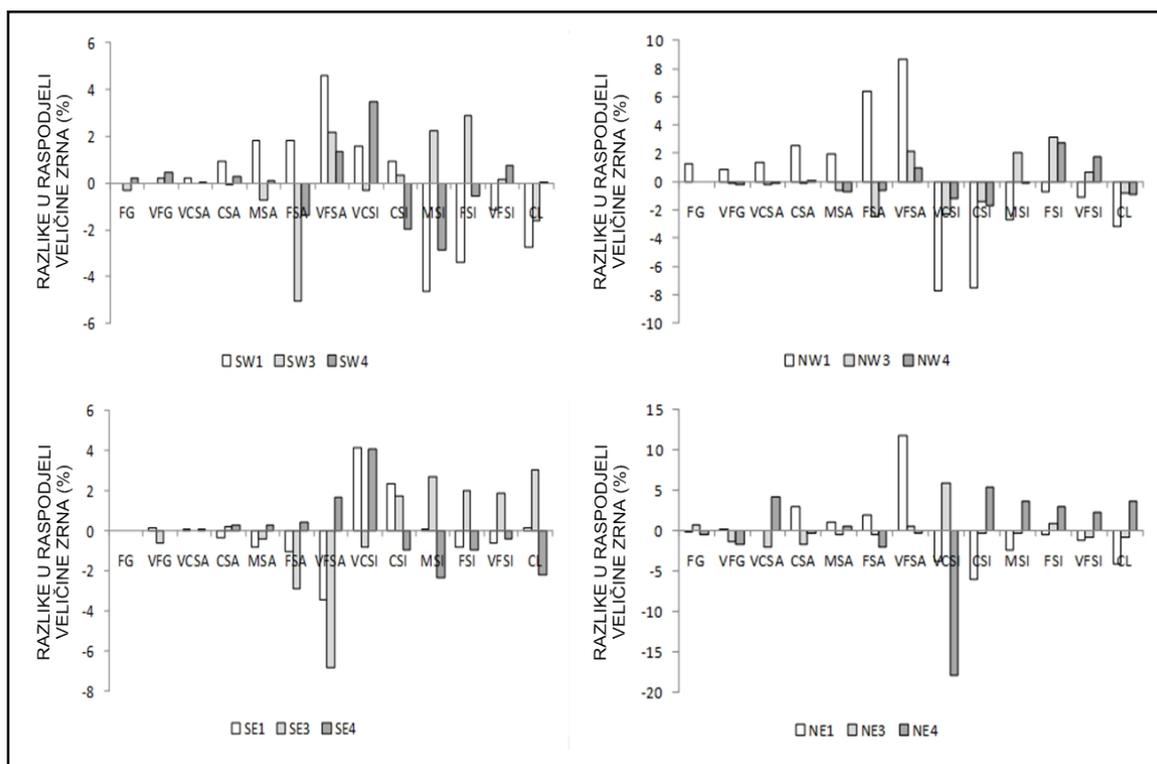
Prosječne vrijednosti redox potencijala ( $E_h$ ) u površinskim slojevima sedimenta uvale Cuvi su bile manje negativne povećanjem udaljenosti od ispusta, osim u sjeverozapadnom smjeru gdje je najudaljenija postaja imala najnegativniji prosjek  $E_h$ . (Slika 33a). Isti trend je uočen u dubljim slojevima sedimenta (Slika 33b).

U uvali Valdibora, prosječne vrijednosti redox potencijala ( $E_h$ ) bile su negativnije blizu ispusta industrijskih voda bez obzira na smanjenje udjela mulja i povećanje udjela šljunka i pijeska na tim lokacijama. Sličan trend je uočen za sedimente prikupljene kraj starogradske jezgre Rovinja (G), dok su uzorci na profilu B0-B2 pokazali minimalne razlike. U južnoj luci, sedimenti na postajama L1 i L2 u starijem dijelu luke, koja je bila povijesno izložena fekalnom onečišćenju, imali su negativniji prosječni  $E_h$  u odnosu na postaju L3 u marini u kojoj nije bilo izvora fekalnog onečišćenja.



Slika 33. Granulometrijski sastav i prosječan redox potencijal  $E_H$  u a) površinskim sedimentima (0-5 cm) uvala Cuvi, Valdibora i južna luka i b) dubljim sedimentima (5-10cm) uvale Cuvi.

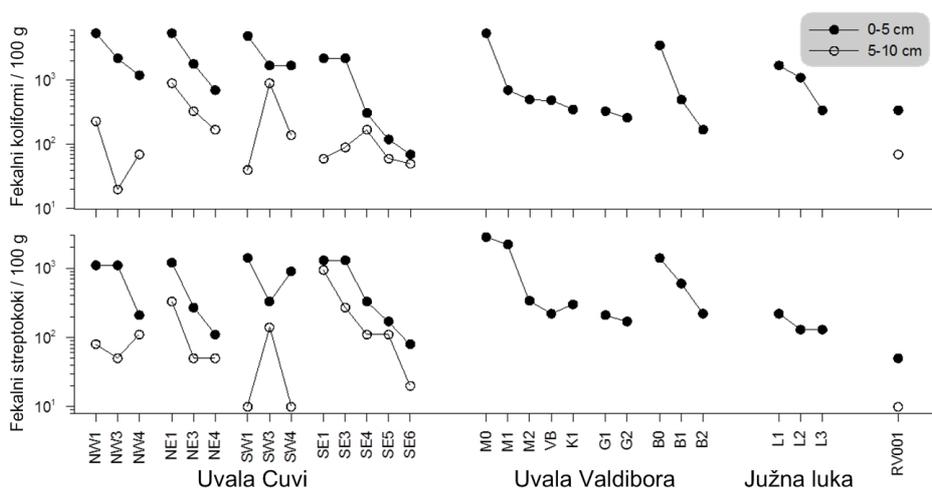
Usporedbom površinskih i dubljih slojeva sedimenta u uvali Cuvi (Slika 34) (Pomoćna tablica 6.) uočena je razlika u distribuciji veličine zrna. Površinski sedimenti na postajama NW1, NE1 i SW1 bili su obogaćeni grubljim česticama, u prvom redu sa vrlo sitnim (VFSA engl. *very fine sand* 0,063 do 0,125 mm) i sitnim pijeskom (FSA engl. *fine sand*, 0,125 - 0,25 mm). S druge strane na postaji SE1 zabilježeno je obogaćenje sitnijim česticama, odnosno vrlo grubim (VCSI engl. *very coarse silt* 0,032-0,063 mm) i grubim prahom (CSI engl. *coarse silt*. 0,016-0,032 mm). Na postajama NW3, NW4 i SW3 površinski sedimenti su sadržavali mješavinu srednjeg (MSI engl. *medium silt* 0,008 – 0,016 mm) i sitnog (FSI, engl. *fine silt* 0.004 – 0.008 mm) praha kombiniranog sa vrlo sitnim pijeskom, dok je na postajama NE3, SE4 i SW4 prevladavao vrlo grubi prah. Površinski sedimenti na postajama NE4 i SE3 imali su veći udio sitnozrnatih čestica (0,063 - <0,001 mm) u odnosu na dublji sloj.



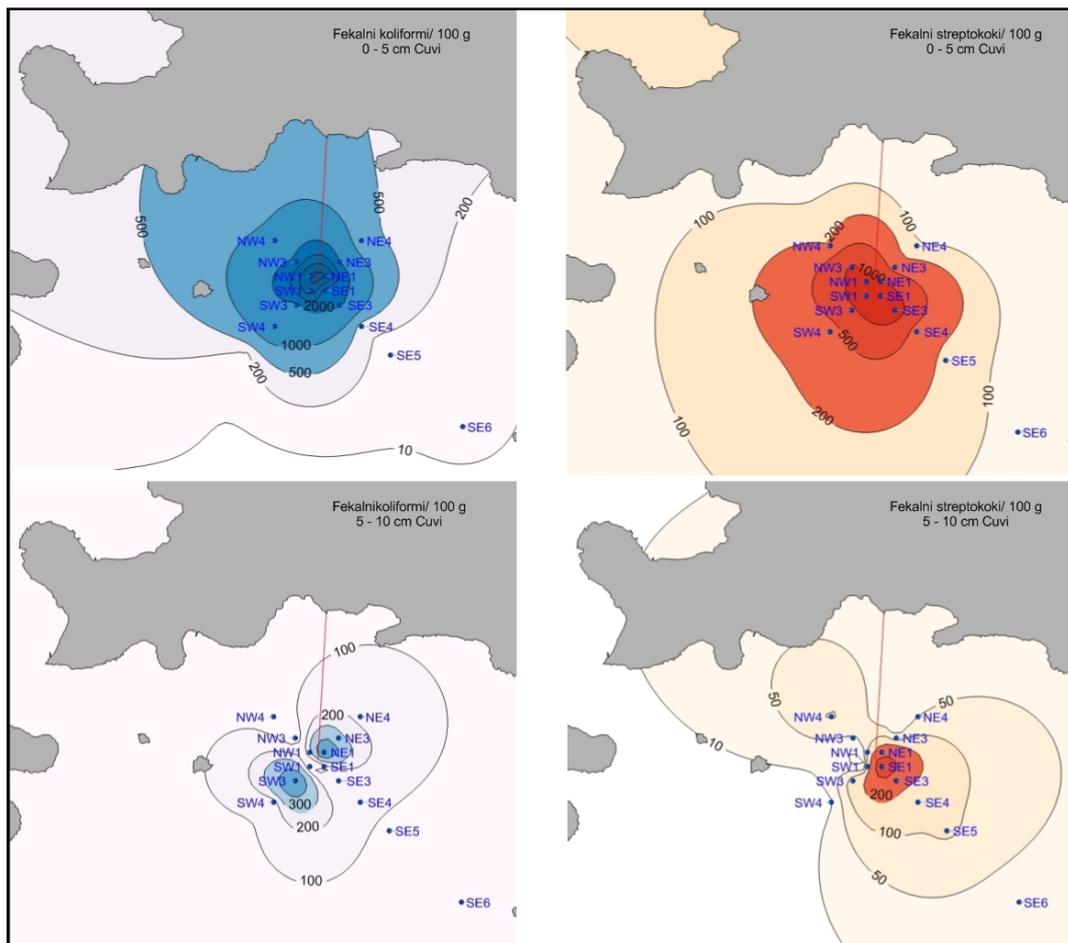
Slika 34. Razlike u distribuciji veličine zrna između površinskih (0-5 cm) i dubljih (5-10 cm) sedimenta u uvali Cuvi: FG - sitni šljunak (4 – 8 mm), VFG - vrlo sitni šljunak (2 – 4 mm), VCSA - vrlo grubi pijesak (1 – 2 mm), CSA - grubi pijesak (0.5 – 1 mm), MSA - srednji pijesak (0.25 – 0.5 mm), FSA - sitni pijesak (0.125 – 0.25 mm), VFSA - vrlo sitni pijesak (0.063 – 0.125 mm), VCSI - vrlo grubi prah (0.032 – 0.063 mm), CSI - grubi prah (0.016 – 0.032 mm), MSI - srednji prah (0.008 – 0.016 mm), FSI - sitni prah (0.004 – 0.008 mm), VFSI - vrlo sitni prah (0.001 – 0.004 mm), CL - glina (< 0.001 mm).

### 6.3.2. Sanitarna kvaliteta sedimenta

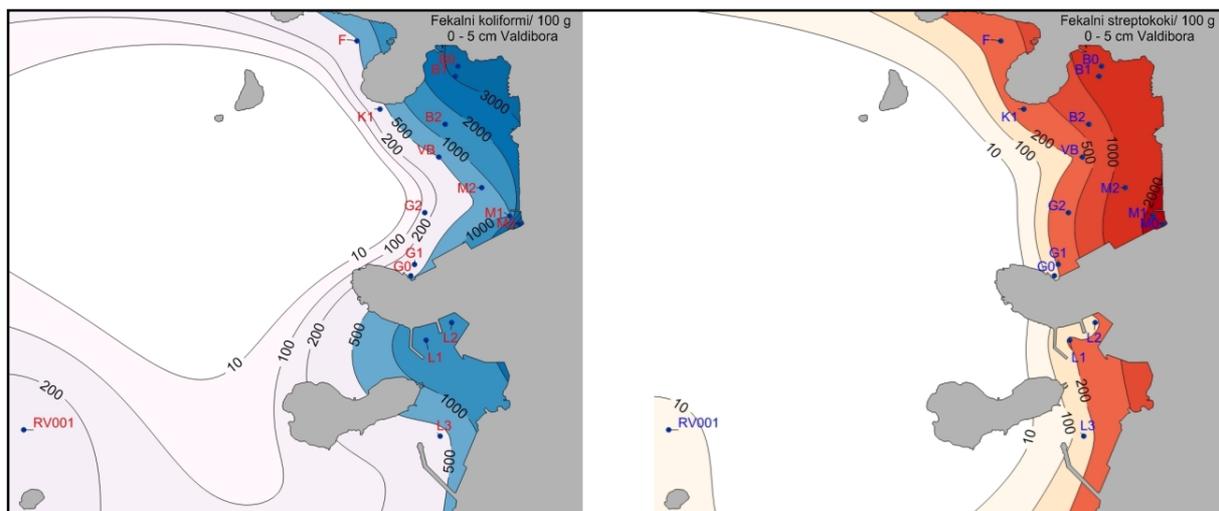
Koncentracija fekalnih koliforma u površinskim sedimentima uvale Cuvi (Slike 35. i 36.) pokazala je značajan pad povećanjem udaljenosti od kanalizacijskog ispusta. Zabilježene vrijednosti varirale su u rasponu od 70 MPN/100 g na kontrolnoj postaji SE6 (na 1.000 m) do 5.400 MPN/100 g na postajama NW1 i NE1 (na 50 m od ispusta). Trend smanjenja brojnosti povećanjem udaljenosti od ispusta uočen je i za broj fekalnih streptokoka (FS, 80 – 1.400/100 g). U površinskom sloju sedimenta, fekalni koliformi uglavnom su bili rasprostranjeni u sjeverozapadnom smjeru, dok je za fekalne streptokoke preferencijalni smjer širenja bio jugozapadni. U donjem sloju sedimenta, također je primijećen trend smanjenja fekalnih koliforma i streptokoka s povećanjem udaljenosti. Međutim u sjeverozapadnom i jugozapadnom smjeru distribucija fekalnih bakterija slijedila je slučajnu raspodjelu. U uvali Valdibora (Slike 35. i 37.), visoke koncentracije fekalnih bakterija zabilježene su na postajama M0 (FC, 5.400/100 g; FS, 2.800/100g), M1 (FC, 700/100 g; FS, 2.200/100g) i B0 (FC, 3.500/100 g; FS, 1.400/100 g). Jasan trend smanjenja koncentracije fekalnih bakterija zabilježen je na svim profilima s povećanjem udaljenosti od izvora onečišćenja. U sedimentima južne luke, na postajama L1 i L2, brojevi fekalnih bakterija bili su veći u odnosu na postaju L3 i usporedivi sa područjima u kojima je prisutna mala ili umjerena količina fekalnog onečišćenja. Na kontrolnoj postaji RV001 (1 NM zapadno od Rovinja), zabilježene su vrijednosti fekalnih koliforma koje su bile veće od očekivanih, dok je razina fekalnih streptokoka bila najniža izmjerena.



Slika 35. Fekalni koliformi i fekalni streptokoki (MPN/100g) u površinskim (0-5 cm) sedimentima uvale Cuvi, Valdibore i južne luke i u dubokim (5-10 cm) sedimentima uvale Cuvi.



Slika 36. Prostorna raspodjela fekalnih koliforma (FC MPN/100g) i fekalnih streptokoka (FS MPN/100g) u površinskim (0-5 cm) i dubokim (5-10 cm) sedimentima uvale Cuvi.

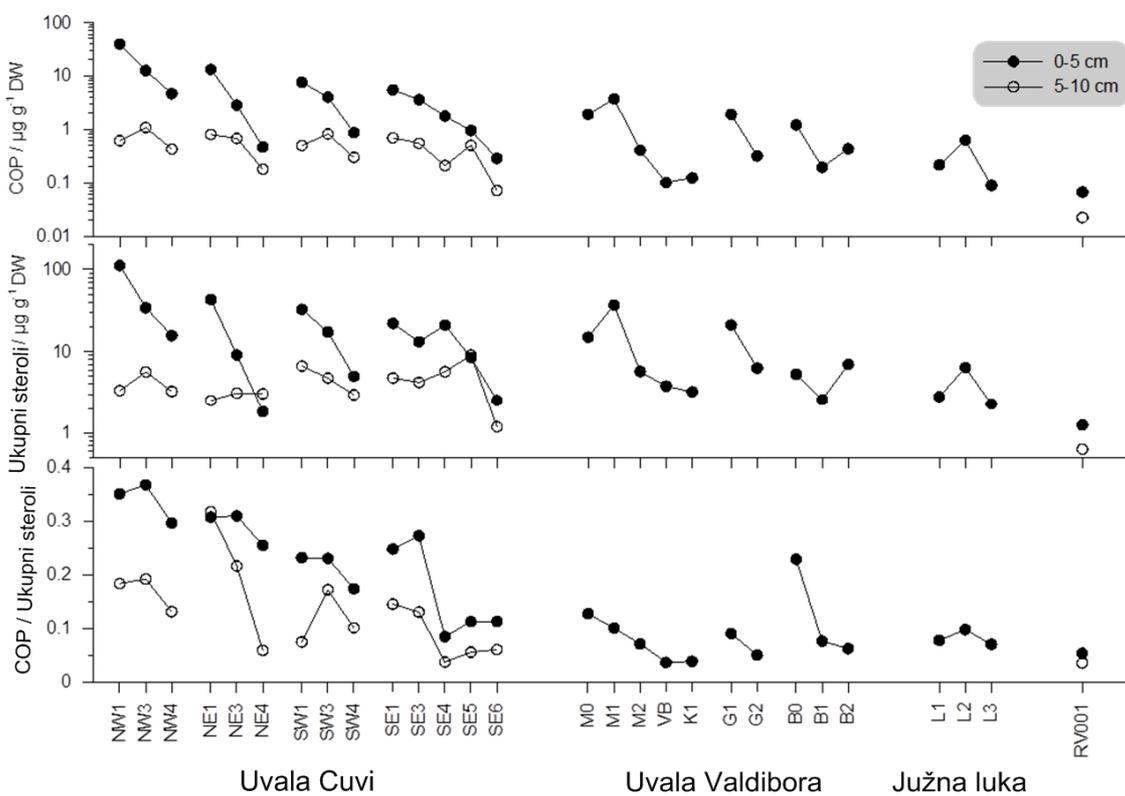


Slika 37. Prostorna raspodjela fekalnih koliforma (FC MPN/100g) i fekalnih streptokoka (FS MPN/100g) u površinskim sedimentima Valdibore i južne luke.

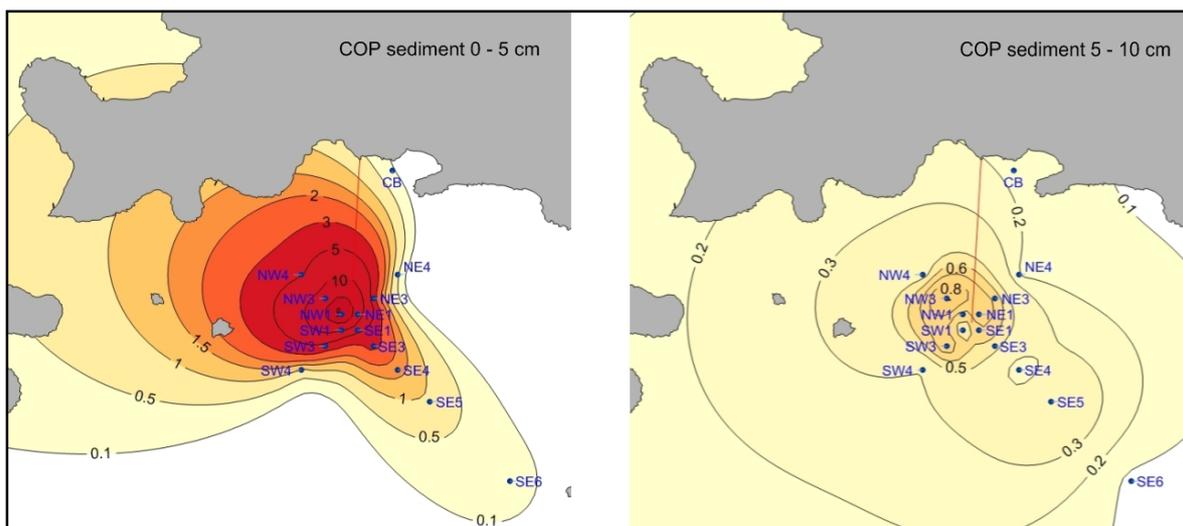
### 6.3.3. Fekalni steroli u sedimentu

U površinskim sedimentima uvala Cuvri koncentracije ukupnih sterola ( $\Sigma$  steroli) varirale su u rasponu od 1,83 do 111,95  $\mu\text{g/g}$  suhe tvari, a koprostanola (COP) od 0,29 do 39,28  $\mu\text{g/g}$  suhe tvari. Koncentracije COP-a smanjivale su se povećavanjem udaljenosti od ispusta u svim smjerovima. Najveće razine COP zabilježene su u sjeverozapadnom smjeru, a najniže u jugoistočnom (Slika 38. i Slika 39.) (Pomoćna tablica 5.) Svi steroli su pokazali isti trend kao COP suglasno visokom stupnju korelacije između COP-a i ostalih sterola (Pomoćna tablica 2.). U dubljem sloju sedimenta (5 - 10 cm) koncentracije ukupnih sterola (1,19 – 9,08  $\mu\text{g/g}$  suhe tvari) i COP-a (0,07 – 1,08  $\mu\text{g/g}$  suhe tvari) bile su niže u odnosu na površinu, ali su slijedile sličnu distribuciju. Omjer koprostanola i ukupnih sterola (COP/  $\Sigma$  steroli) varirao je između 0,1 i 0,37, s najvišim vrijednostima u sjeverozapadnom i najnižim u jugoistočnom smjeru. U dubljim sedimentima vrijednosti omjera COP/  $\Sigma$  steroli bile su uglavnom niže (0,04 – 0,32), ali na su postaji NE1 ostale poprilično visoke. U profilu sterola dubljih sedimenta COP, kolestanol (CHNOL) ili  $\beta$ -sitosterol (b-SIT) su bili dominantni. COP je bio značajno povezan sa fekalnim koliformima u površinskim sedimentima ( $r=0,748$ ,  $p<0,001$ ). S druge strane korelacija sa FC u dubljim sedimentima i sa FS u oba sloja nije bila značajna.

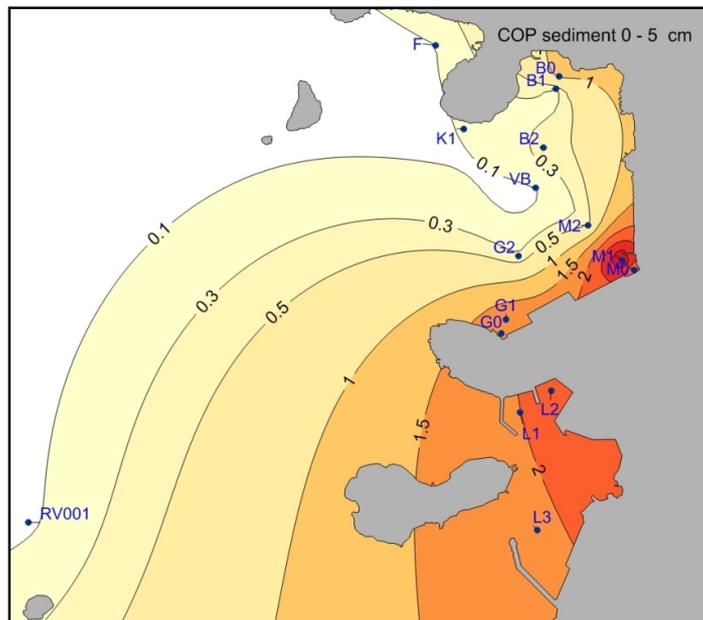
U površinskim sedimentima uvala Valdibora ukupni steroli i COP (Slika 38. i Slika 40.) varirali su između 2,33 - 36,90  $\mu\text{g/g}$  suhe tvari i 0,09-3,70  $\mu\text{g/g}$  suhe tvari. Omjer COP/  $\Sigma$  steroli bio je visok (0,23) samo na postaji B0, koja je bila usporediva s onečišćenim postajama u uvali Cuvri. Na svim drugim postajama u Valdibori i u južnoj luci omjeri COP/  $\Sigma$  steroli bili su niski i relativno slični (0,04 – 0,10) (Slika 38.). COP je dominirao među sterolima samo na postaji B0 dok je kolesterol (CHL) bio glavni sterol na ostalim postajama (VB, B2, K1, M0, M1 i M2) ili je imao slične koncentracije kao b-SIT (B1, G1 i G2). b-SIT bio je glavni sterol u uzorcima sedimenta iz južne luke (L1, L2, L3). U sedimentima uvala Valdibora i južne luke nisu zabilježene korelacije između koncentracije COP-a i bakterijskih indikatora fekalnog onečišćenja.



Slika 38. Koncentracije a) koprostanola, b) ukupnih sterola i c) njihov omjer COP/ukupni steroli u površinskim (0-5 cm) sedimentima uvale Cuvi, uvale Valdibora, južne luke, postaje RV001 i u dubokim (5-10 cm) sedimentima uvale Cuvi i postaje RV001.



Slika 39. Prostorna raspodjela koprostanola ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) u površinskom (0-5 cm) i dubokom sloju (5-10 cm) sedimenta u uvali Cuvi



Slika 40. Prostorna raspodjela koprostanola ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) u površinskom (0-5 cm) sloju sedimenta u Valdibori, u južnoj luci i na postaji RV001.

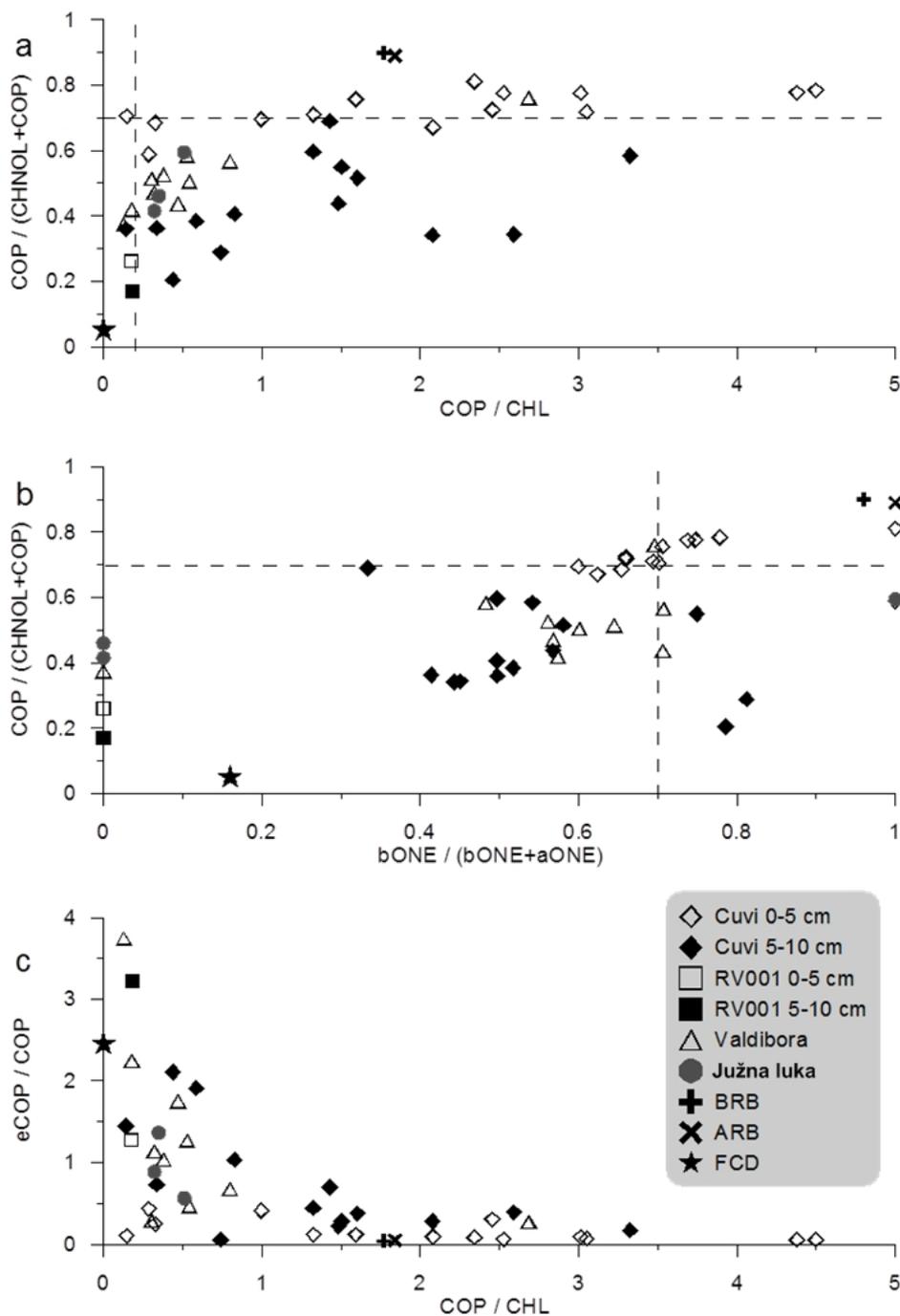
Prema dijagnostičkim indeksima (Grimalt i sur., 1990) vrijednosti omjera stanola  $\text{COP}/(\text{COP}+\text{CHNOL}) > 0,7$  i vrijednosti omjera  $\text{COP}/\text{CHL} > 0,2$  ukazale su na prisutnost fekalnog otpada u svim uzorcima površinskog sedimenta u uvali Cui, s izuzetkom postaja SE5 i SE6. U dubljem sloju sedimenta vrijednosti omjera  $\text{COP}/(\text{COP}+\text{CHNOL})$  bile su niže od 0,7 u skladu sa relativnim povećanjem koncentracije kolestanola (CHNOL), dok su omjeri  $\text{COP}/\text{CHL}$  bili slični onima u površinskom sedimentu. U Valdibori i u južnoj luci dijagnostički indeksi su ukazali na prisutnost fekalnog onečišćenja samo na postaji B0. Kontrolna postaja RV001 prema istim indeksima ( $\text{COP}/(\text{COP}+\text{CHNOL}) < 0,3$  i  $\text{COP}/\text{CHL} < 0,2$ ) kategorizirana je kao nekontaminirana. Dodatno, na toj postaji koncentracija COP je bila niža od  $0,1 \mu\text{g/g}$  suhe tvari što se smatra kao tipična vrijednost za urbana priobalna područja (Kelly 1995, Carreira i sur., 2004) (Slika 41. a).

Prema odnosu omjera stanola  $\text{COP}/(\text{COP}+\text{CHNOL})$  i omjera stanona ( $\text{bONE}/(\text{aONE}+\text{bONE})$ ) (Slika 41. b) (Pomoćna tablica 5.), može se razlikovati fekalna i nefekalna kontaminacija u kompleksnim okolišima (Grimalt i sur., 1990). Za površinske sedimente na 50 m (NW, NE, SW), 150 m (NW NE) i 300 m (NE, SE) od ispusta u uvali

Cuvi, oba su omjera bila veća od 0,7, što implicira *in vivo* proizvodnju COP-a. Omjeri sterola i stanola za sve uzorke dubljeg sloja sedimenta bili su niži od 0,7. Prema ovom indeksu u većini uvale Valdibora (osim na B0) i u svim sedimentima iz južne luke nije pronađena direktna veza sa fekalnim onečišćenjem. Omjeri stanona ( $bONE/(aONE+bONE)$ ) bili su značajno korelirani sa vrijednostima redox potencijala u površinskom ( $r = 0,533$ ,  $p < 0,05$ ) i u dubokom sloju ( $r=0,662$ ,  $p<0,01$ ) sedimenta u uvali Cuvi. Iako su vrijednosti ( $bONE/(aONE+bONE)$ ) u uvali Valdibora i u južnoj luci bile slične kao one izmjerene u dubokom sloju sedimenta uvale Cuvi, za ta područja nije pronađena korelacija između vrijednosti omjera i redox potencijala.

Grafički prikaz omjera epikoprostanola i koprostanola (eCOP/COP) sa omjerom koprostanola i kolesterola, COP/CHL (Slika 41. c) može ukazati na stupanj obrade i na starost fekalne kontaminacije u sustavu. Niske koncentracije eCOP-a i posljedično niske vrijednosti omjera eCOP/COP (0,06 – 0,43,  $0,16\pm 0,13$ ) ukazale su da većina površinskih sedimenta u Cuvima sadrži neobrađeni ili svježi otpadni materijal. U dubljim sedimentima vrijednosti omjera eCOP/COP (0,06 – 2,11,  $0,73\pm 0,66$ ) bile su veće u odnosu na površinu. U Valdibori na postajama koje su bile bliže ispustima (M0, M1, G1 i B0), omjeri eCOP/COP su bili niži ( $0,43\pm 0,19$ ) u odnosu na udaljene postaje ( $2,04\pm 1,11$ ) (Slika 41. c, Pomoćna tablica 5.).

U svim uzorcima sedimenta eCOP i CHNOL bili su značajno korelirani sa  $E_h$  ( $r = -0,522$ ,  $p=0,007$  i  $r=-0,404$ ,  $p=0,045$ ) i imali veće koncentracije pri negativnijim vrijednostima redox potencijala. Dijagnostički indeksi za uzorke partikulatnog materijala iz retencijskih bazena kod kolektora otpadnih voda (STP), prije (BRB) i poslije aeracije (ARB), nisu pokazali značajne razlike ukazujući na visoke razine fekalne kontaminacije i na neefikasnost procesa obrade otpadnih voda. Naprotiv za uzorke neobrađenih otpadnih voda tvornice za preradu ribe (FCD), nije pronađena značajna fekalna kontaminacija (Slika 41. c).

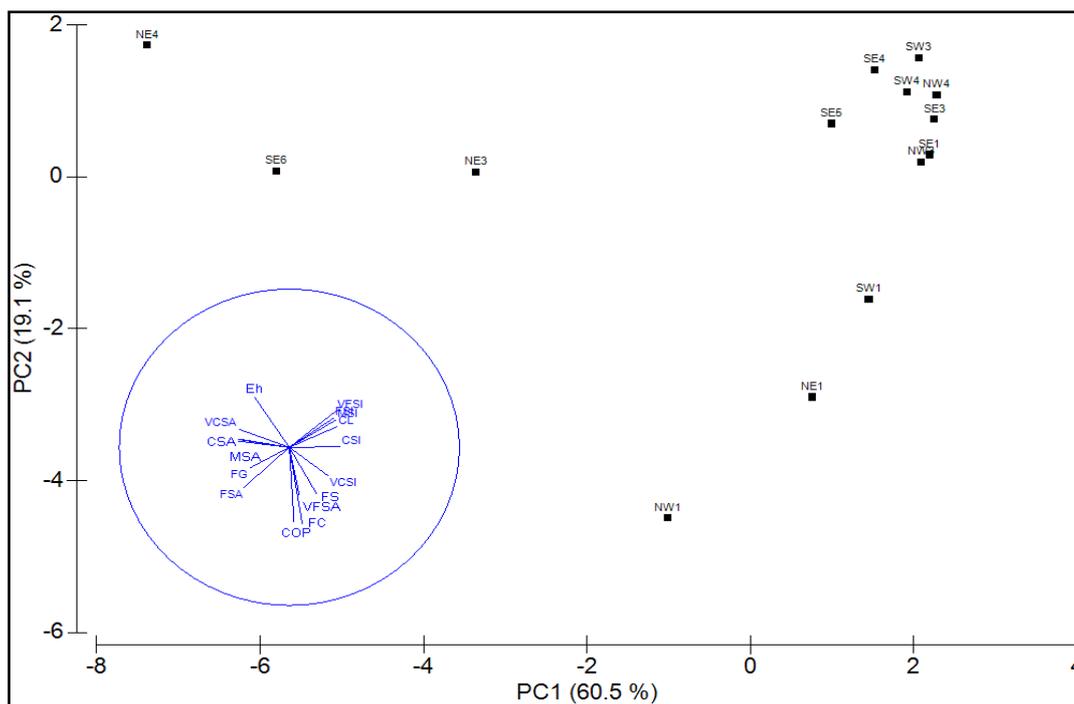


Slika 41. Dijagnostički indeksi - a) odnos omjera koprostanol/(koprostanol+kolestanol) i omjera koprostanol/kolesterol, b) odnos omjera koprostanol/(koprostanol+kolestanol) i omjera  $\alpha$ - i  $\beta$ - kolestanona, c) odnos omjera epikoprostanol/koprostanol i omjer koprostanol/kolesterol u površinskim sedimentima (0-5 cm) uvale Cuvi, Valdibore, južne luke i RV001, te u dubokim sedimentima (5 -10 cm) uvale Cuvi i postaje RV001, te uzorci prije (BRB) i nakon (ARB) obrade otpadnih voda u gradskom kolektoru Cuvi i otpadne vode tvornice za preradu ribe (FCD) u Valdibori

#### 6.3.4. Analiza glavnih komponentata (PCA)

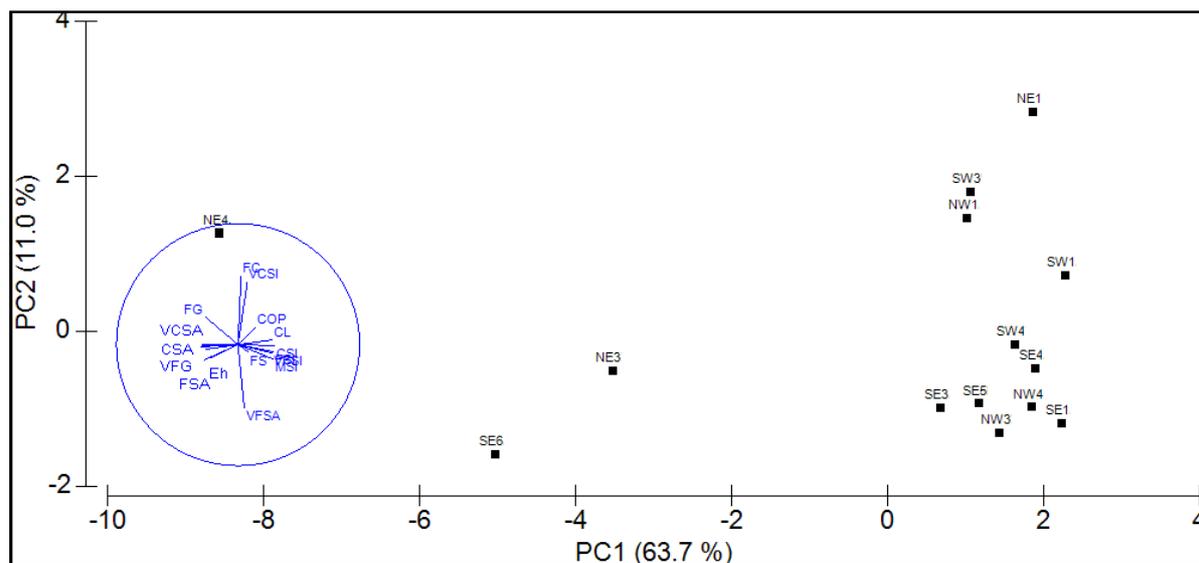
Odnosi među pokazateljima fekalnog onečišćenja i karakteristike sedimenta određeni su PCA analizom (Primer 6). Za uzorke iz uvale Cuvi površinski i dublji sloj sedimenta analizirani su odvojeno. Koncentracije COP-a, MPN fekalnih koliforma (FC) i fekalnih streptokoka (FS),  $E_H$  i granulometrijski sastav sedimenta (sitni šljunak, FG; vrlo sitni šljunak, VFG; vrlo grubo pijesak, VCSA; grubo pijesak, CSA; srednji pijesak, MSA; sitni pijesak, FSA; vrlo sitni pijesak, VFSA; vrlo grubo praš, VCSI; grubo praš, CSI; srednji praš, MSI; sitni praš, FSI; vrlo sitni praš, VFSI; i glina, CL) korišteni su kao varijable i normalizirani prije analize.

Prema PCA analizi površinskih i dubljih sedimenta u uvali Cuvi prve tri komponente (PC1+PC2+PC3) objasnile su 87,3% i 83,0% ukupne varijance. Za površinske sedimente, u pozitivnom smjeru PC1 osi izdvojili su se sedimenti u čijem sastavu prevladavaju finije čestice (<0,063 mm), dok su u negativnom smjeru PC1 osi izdvojeni oni sa pretežno grubljim česticama (>0,125 mm) odvajajući na taj način postaje NE1, SW1-4, NW3-4 i SE1-5 od postaja NW1, NE3-4 i SE6. PC2 bila je pozitivno asocirana sa  $E_H$  i negativno sa COP, FC, vrlo sitnim pijeskom (VFSA, 0,063 – 0,125 mm) i FS, pokazujući da su COP i FC bili izravnije povezani sa frakcijom vrlo finog pijeska (VFSA), dok su FS bili povezani sa  $E_H$ . Stoga su postaje dodatno razdvojene prema ukupnoj akumulaciji COP, FIB, VFSA i rastućim negativnim vrijednostima  $E_H$  u negativnom smjeru PC2 (NW1, NE1 i SW1) od postaja s vrlo sličnim sadržajem sitnozrnatih čestica (< 0,016 mm),  $E_H$  i razinom onečišćenja (NW3, NW4, SW3, SW4 i SE1-SE5). Na razdvajanje postaja NE3, NE4 i SE6 glavni utjecaj su imali prevladavanje grubljih čestica u sastavu sedimenta i najmanje negativni  $E_H$  (Slika 42.).



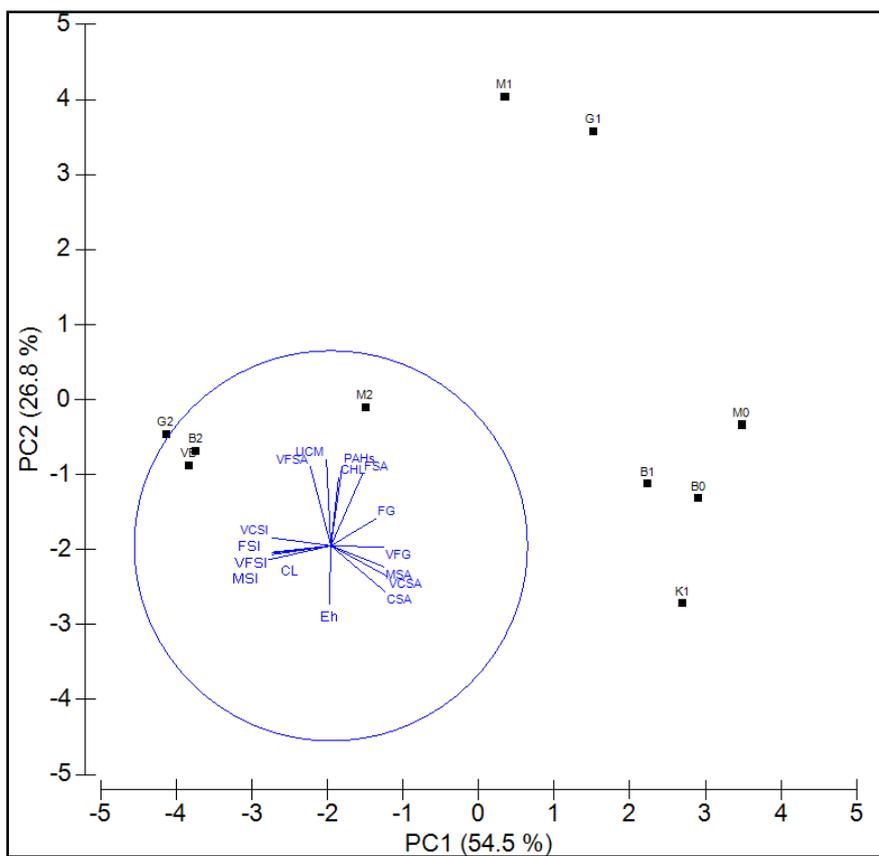
Slika 42. Grafički prikaz PCA analize granulometrijskog sastava, redoks potencijala  $E_h$ , broj fekalnih koliforma FC i streptokoka FS i koncentracija koprostanola COP u površinskim sedimentima (0 - 5 cm) uvale Cuvi. Projekcije na PC1-PC2 polju su prikazane u krugu

Za sedimente dubljeg sloja najvažnija komponenta PC1 razdvojila je postaje na sličan način kao za površinski sloj, pokazujući pozitivnu asocijaciju sa sitnozrnatim česticama (<0.032 mm) i negativnu sa grubljim česticama (>0.125 mm). Jedina razlika među grupiranim uzorcima bila je postaja NW1 koja je u dubljem sedimentu spadala u skupinu sa sitnijim česticama. Jaki suprotni utjecaji VCSI i FC na pozitivnu PC2, te VFSA na negativnu PC2 odvojili su postaje NE1, NW1, SW1 i SW3 od NW3, NW4, SW4 i SE1-5. COP je izravnije bio povezan sa  $E_h$ , budući da je imao veće koncentracije u dubljem sedimentu na postajama NE1, NW1, SW1 i SW3 (Slika 43.).



Slika 43. Grafički prikaz PCA analize granulometrijskog sastava, redoks potencijala  $E_H$ , broj fekalnih koliforma FC i streptokoka FS i koncentracija koprostanola COP u dubokom sloju sedimenta uvale Cuvi. Projekcije na PC1-PC2 polju su prikazane u krugu.

Za Valdiboru 88,5% ukupne varijance je objašnjeno pomoću PC1, PC2 i PC3. Na PC1 granulometrijski sastav odvojio je uzorke prema prevladavanju grubljeg ( $> 0.25$  mm, G1, B1, B0, M0 i K1, pozitivna PC1) i sitnijeg sastava ( $< 0.063$  mm, G2, B2, VB M2, negativna PC1) (Slika 44.). Na PC2 postaje M1 i G1 su se izdvojile najviše u pozitivnom smjeru zbog povećanja koncentracije organske tvari i većeg udjela sitnih čestica pijeska (0,25 – 0,063 mm) u kombinaciji sa smanjenjem  $E_H$ . Postaje M0, VB, G2, B2 i M2 pozicionirane su bliže ishodištu PC2 u skladu s nižim koncentracijama kolesterola (CHL). Sedimenti na postajama B1, B0 i K1 odvojeni su u negativnom smjeru zbog niske koncentracije CHL u kombinaciji sa manje negativnim vrijednostima  $E_H$ . Dodatno iz grafičkog prikaza može se uočiti značajna korelacija između koncentracije kolesterola, policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH) i nerazdijeljene smjese ugljikovodika (UCM), koja sugerira da masne industrijske otpadne vode zbog svog lipofilnog karaktera pospješuju akumulaciju ugljikovodika u sedimentima uvale Valdibore.



Slika 44. Grafički prikaz PCA analize granulometrijskog sastava, redoks potencijala  $E_H$ , koncentracije kolesterola CHL, koncentracije policikličkih aromatskih ugljikovodika PAH i koncentracije nerazdijeljene smjese ugljikovodika UCM u dubokom sloju sedimenta uvale Cuvi. Projekcije na PC1-PC2 polju su prikazane u krugu.

## 7. Rasprava

### 7.1. Vodeni stupac

Uvala Cuvi prima oko 80% svih kanalizacijskih i značajan udio oborinskih voda grada Rovinja. Protok ispuštenih otpadnih voda pokazuje izraženu sezonalnost koja prati promjenu broja stanovništva zbog turističkih aktivnosti i količine oborina. Takva sezonalnost reflektira se i na opću razinu onečišćenja mora. U ljetnom i rano jesenskom razdoblju zabilježene su najveće razine fekalne kontaminacije, dok su zimi bile najniže. Kao što je bilo očekivano, koncentracije indikatora u vodama uvala Cuvi su se smanjivale povećavanjem udaljenosti od ispusta i ovisile su o trenutnom strujanju mora. Najveće koncentracije fekalnih indikatora izmjerene su u sloju pridonjenih voda na 20 m dubine. Jedan od razloga je bio ispuštanje kanalizacije na dubini od 27 m, a drugi, vertikalno raslojavanje vodenog stupca u toplijem dijelu godine zbog kojeg je došlo do smanjenja vertikalne difuzije otpadnih voda (Malačić i sur., 2000). Takvi uvjeti omogućili su zadržavanje većine onečišćenja u sloju ispod 15 m dubine. Iako su razine onečišćenja sezonski varirale, te razlike nisu bile statistički značajne. U krugu od 50 m oko ispusta, onečišćenje je bilo stalno prisutno u svim smjerovima. Na 150 m utjecaj strujanja je postajao važan, pa je samo u određenim smjerovima razina onečišćenja bila visoka. Brzina strujanja u uvali Cuvi se je kretala između 300 m/h i 1500 m/h (Pollak i Janeković, 2009). Na 300 m udaljenosti umjerene razine onečišćenja su izmjerene samo u glavnim smjerovima strujanja. Postaje na 500 m i na 1000 m nisu pokazale prisutnost onečišćenja. Obzirom na izmjerene vrijednosti fekalnih indikatora i na brzinu strujanja u uvali Cuvi može se pretpostaviti da u roku od sat vremena od ulaska u more razina fekalnih mikroorganizama, zbog procesa taloženja, razrijeđenja i ugibanja, postane zanemariva. Distribucija fekalnog onečišćenja u uvali Cuvi bila je slična onoj predviđenoj u modelima koje su Malačić i sur. (2000) izradili za projekt kanalizacijskog ispusta grada Kopra u Sloveniji, gdje su hidrografski uvjeti i dubina ispusta slični kao u Rovinju. S druge strane istraživanje o širenju otpadnih voda oko ispusta grada Izole kraj Kopra, koji je blizak Rovinju po broju stanovnika pokazalo je drugačiju dinamiku. U tom slučaju otpadne vode su se preferencijalno širile i zadržavale u površinskom sloju mora tijekom cijele godine. Budući da je ispust bio lociran na 12 m dubine prisutnost izražene piknokline početkom ljeta nije bila dovoljna za zaustaviti vertikalno širenje otpadnih voda. U Rovinju slična situacija je

zabilježena kod kanalizacijskog ispusta bolničkog naselja koji se nalazi na 9 m dubine. Iz toga se može zaključiti da doseg vertikalne difuzije otpadnih voda ovisi i o dubini i o vertikalnoj stratifikaciji vodenog stupca.

Koncentracije fekalnih koliforma i streptokoka u retencijskim bazenima sustava za pročišćavanje prije ispuštanja su bile u skladu sa tipičnim koncentracijama u neobrađenim otpadnim vodama koje inače sadrže od  $10^7$  do  $10^9$  CFU 100 ml<sup>-1</sup> koliforma i od  $10^6$  do  $10^8$  CFU 100 ml<sup>-1</sup> streptokoka (George i sur. 2002). U vodenom stupcu oko ispusta izmjerene su maksimalne vrijednosti od 55.000 CFU koliforma 100 ml<sup>-1</sup> i 5.400 CFU streptokoka 100 ml<sup>-1</sup> koje su bile veće u odnosu na maksimalne vrijednosti izmjerene kod kanalizacijskih ispusta u zaljevu Terranova, Antarktika (10.000 CFU koliforma 100 ml<sup>-1</sup> i 2.700 CFU streptokoka 100 ml<sup>-1</sup>) (Bruni i sur., 1997) i usporedive s onima izmjerenim kraj kanalizacijskih ispusta u zaljevu Valencije (srednja razina FK= 789 CFU 100 ml<sup>-1</sup> a FS =233 CFU 100 ml<sup>-1</sup>, maksimalna razina FK=70.000 CFU 100 ml<sup>-1</sup> i FS= 24.000 CFU 100 ml<sup>-1</sup>) (Morales i sur., 1999), a niže u odnosu na one izmjerene kraj kanalizacijskog ispusta grada Pirana u Sloveniji (maksimalne vrijednosti  $2,6 \cdot 10^5$  FK100 ml<sup>-1</sup>) (Mozetić i sur., 2008) i u luci Hong Konga, gdje se prosječne vrijednosti kreću oko 10.000 CFU100 ml<sup>-1</sup> koliforma i streptokoka s maksimalnim razinama od  $10^6$  CFU 100 ml<sup>-1</sup> (Yung, 1999).

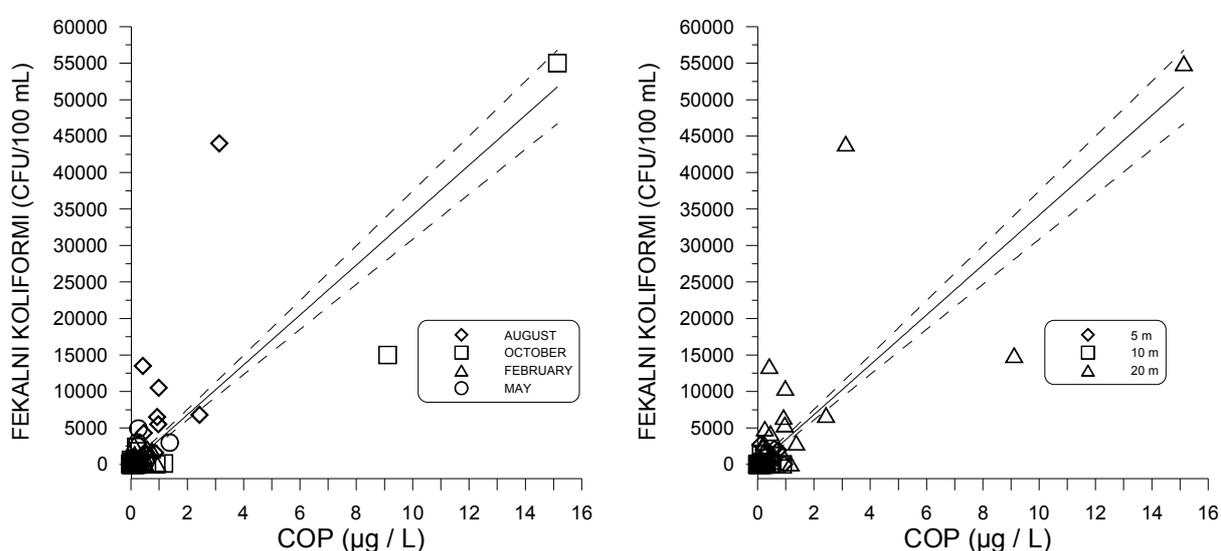
Maksimalna koncentracija koprostanola u otpadnim vodama iznosila je 15.1 µg/L, dok su se prosječne vrijednosti izmjerene u vodenom stupcu oko ispusta kretale oko  $0.33 \pm 1.34$  µg/L. Ove koncentracije su niže u odnosu na prosječne vrijednosti dobivene u sličnim uvjetima u drugim istraživanjima (7,7 µg / L kod južne obale Jeddah (El-Sayed i Niaz, 2000), 30-180 µg / L u neposrednoj blizini postrojenja za obradu kanalizacijskih voda grada Bayreuth (Beck i Radke, 2006), 12,3 µg / L u estuariju rijeke Iguacu na jugoistočnoj obali Brazila (Livia i sur., 2008). Maksimalne vrijednosti COP u uvali Cuvi bile su slične maksimalnim vrijednostima COP izmjerene u Južnom Kineskom moru (26 µg / L; Peng i sur, 2005) ili u urbanim područjima Malezije i Vijetnama (13,5 g / L; Isobe i sur., 2002). Koprostanol je bio dobro koreliran s koncentracijama fekalnih koliforma i streptokoka (Slika 45.). U nekoliko slučajeva izmjerene su relativno niske koncentracije koprostanola koje su bile asocirane sa visokim koncentracijama bakterijskih indikatora i suprotno. Iako su se oba slučaja pojavljivala tijekom cijele godine, u ljetnom razdoblju je prevladavala situacija sa visokim vrijednostima FIB-a i nižim koncentracijama koprostanola. Razlog tome bi mogao

biti u koncentraciji bakterijskih indikatora u izvornim otpadnim vodama koja je tijekom ljeta bila za dva reda veličine veća u odnosu na zimu. Uz to treba dodati i vrlo kratko zadržavanje kanalizacijskih voda u retencijskim bazenima kolektora (15 minuta) prije ispuštanja zbog kojeg nije moglo doći do bitnijeg smanjenja broja bakterija. Reaktivacija i rast alohtonih bakterija unutar onečišćenog oblaka u krugu od 50 m oko ispusta bi mogla pružiti dodatan izvor fekalnih indikatora u moru (Mackey i Ridley, 1983). Na prvi pogled taj proces izgleda dosta nevjerojatan, pogotovo u ljetnom periodu kad je intenzitet svjetla najjači, a temperatura mora najviša. Svjetlo je jedan od najvažnijih čimbenika koji su odgovorni za inaktivaciju mikroorganizama (Tudor i sur., 1990; Jozić i sur., 2014), a visoke temperature također skraćuju vrijeme preživljavanja mikroorganizama u moru (McFeters i Stuart, 1972; Faust i sur., 1975; Šolić i Krstulović, 1992). Međutim, u ljetnom razdoblju otpadne vode koje se ispuštaju u pridnenom sloju ostaju ograničene ispod termokline na 15 m dubine, pa su relativno zaštićene od svjetla i miješaju se sa hladnim pridnenim vodama koje produžavaju vrijeme preživljavanja alohtonih bakterija među kojima spadaju i indikatori fekalnog onečišćenja. Uz to, difuzija otpadnih voda isključivo u pridnenom sloju smanjuje mogući kontakt između bakterija i njihovih predatora poput heterotrofnih flagelata i na taj način usporava opadanje njihove populacije.

Bakterijska proizvodnja sterola u ljudskim crijevima često ovisi o vrsti prehrane. Razna istraživanja su pokazala da postoje značajne razlike u probavnom metabolizmu kolesterola različitih ljudskih populacija (Lichstein, 1990) koje mogu utjecati na profil fekalnih sterola. Budući da tijekom ljeta na području Rovinja boravi dnevno oko 30.000 turista koji imaju često različite prehrambene navike u odnosu na lokalno stanovništvo (oko 14.000 ljudi) i drugačiju crijevnu floru, moguće je da se njihova prosječna proizvodnja sterola u fecesima razlikuje od lokalne i da utječe na odnos sterola i fekalnih bakterija.

Tijekom jeseni volumen ispuštenih otpadnih voda je bio snižen za 40% u odnosu na ljeto i sadržavao je veći udio oborinskih voda. Hidrografski uvjeti su bili karakterizirani nestankom termokline i širenjem otpadnih voda prema površini. Opća brojnost fekalnih bakterija je bila manja nego tijekom ljeta najvjerojatnije zbog veće difuzije oblaka otpadnih voda i stvaranja nepovoljnih uvjeta za njihovo preživljavanje. U toj sezoni koncentracije koprostanola i bakterijskih indikatora su bile značajno korelirane i uravnotežene. U zimskom razdoblju rezultati su pokazali asocijaciju viših koncentracija koprostanola (kao na primjer >

0,1  $\mu\text{g/l}$ ) i nižih koncentracija fekalnih koliforma ( $<100$  CFU/ 100ml). To ukazuje na drugačiji stupanj degradacije i uklanjanja bioloških i kemijskih markera. Tijekom zime volumen ispuštenih otpadnih voda je bio najniži, a vrijeme obrade otpadnih voda je bilo oko 4 puta duže nego tijekom ljeta, što je u skladu s povećanjem omjera eCOP/COP. Prema tome, duža obrada otpadnih voda u kombinaciji sa nesmetanom difuzijom u cijelom izotermnom vodenom stupcu rezultirala je bržim smanjenjem fekalnih indikatora u odnosu na fekalne sterole. U proljeće, povećavanje volumena otpadnih voda, skraćivanje njihove obrade i postepeno stvaranje termokline rezultiralo je uspostavljanju uravnoteženih odnosa između sterola i bakterijskih indikatora kao tijekom jeseni.



Slika 45. Grafički prikaz odnosa koprostanola i fekalnih koliforma po sezonama i dubinama u vodenom stupcu uvale Cuvi.

Koncentracije hranjivih soli su pratile distribuciju mikrobioloških i kemijskih indikatora fekalnog onečišćenja. Dok su razine  $\text{PO}_4^{3-}$  pokazale blago povećanje u onečišćenom području, koncentracije  $\text{NH}_4^+$  u blizini ispusta bile su jako visoke i približavale su se koncentracijama koje su toksične za morske organizme. Koncentracije amonijaka ( $0,5 - 27,72 \mu\text{molL}^{-1}$ ) bile su jako slične onima izmjerenim u onečišćenim vodama oko kanalizacijskog ispusta u gradu Izoli ( $0,1 - 27,03 \mu\text{molL}^{-1}$ ), dok su razine fosfata bile oko 4 puta niže ( $0,00 - 0,36 \mu\text{molL}^{-1}$ ) (Mozetić i sur., 2008). Koncentracija amonijaka je bila

najviše povezana s distribucijom fekalnih koliforma u vodenom stupcu te je slijedila istu sezonsku dinamiku. Na području uvale Cuvi bez obzira na povišene koncentracije hranjivih soli nije registrirana eutrofikacija sustava (Ivančić i sur., 2014), kao što je bio slučaj i kod kanalizacijskog ispusta Izole (Mozetić i sur., 2008). Najvjerojatnije zbog kratkog vremena zadržavanja otpadne vode koje su sadržavale razine hranjiva tipične za eutrofna područja nisu uspjele potaknuti rast fitoplanktona u sustavu (Demir i Kirkagac, 2005; Mozetić i sur., 2008).

Brojnosti heterotrofnih bakterija u onečišćenim i čistim vodama uvale Cuvi bile su veće tijekom ljeta i jeseni u odnosu na zimu i proljeće. Iako nije pronađena statistički značajna korelacija između heterotrofnih bakterija i indikatora onečišćenja, njihova brojnost i specifična proizvodnja bile su veće u onečišćenim vodama. Prema rezultatima bakterijske proizvodnje, onečišćenje, odnosno prisutnost određenog hranjivog supstrata, je uglavnom utjecalo više na diobu stanica nego na proizvodnju biomase. Iako su razine bakterijske proizvodnje bile niske u cijelom području istraživanja, u krugu od 300 m oko ispusta su bile povišene u odnosu na kontrolne točke tijekom većeg dijela godine (osim u zimskom razdoblju). Ovi rezultati su u skladu sa prethodnim istraživanjima u sjevernom Jadranu u kojima je utvrđena povezanost između temperature i raspoloživosti hranjivog supstrata sa razinom bakterijske proizvodnje (Ivančić i sur., 2010). Omjer ugradnje leucina i timidina služi za procjenu uravnoteženosti bakterijskog rasta. Na njega utječu uvjeti okoliša koji određuju rast bakterija. Omjeri između 10-20 su karakteristični za uravnoteženu sintezu proteina i DNA, tj. uravnotežen rast bakterija. Omjeri <10 ukazuju na povoljne uvjete u okolišu, prvenstveno izobilje organske tvari koja služi kao hrana bakterijama. Kada su omjeri >20 bakterije su limitirane hranom (Shiah i Ducklow, 1997). U većini slučajeva, omjeri L/T su se kretali između 10 i 20 i pokazali uravnoteženu stopu proizvodnje biomase i diobe stanica. Međutim, u zimskom razdoblju omjer L/T je bio jako visok, najvjerojatnije kao posljedica smanjenog unosa otpadnih voda i izmješanog vodenog stupca, koji je olakšavao brzo razrijeđenje unesenih hranjiva koja nisu bila dovoljna za održavanje uravnoteženog rasta bakterija.

Uvala Valdibora, smještena na sjevernoj strani grada Rovinja, izložena je različitim izvorima otpadnih voda. Ispust tvornice za preradu ribe predstavlja najznačajniji unos onečišćenja u cijeloj uvali koji je daleko veći u odnosu na kanalizacijske i oborinske ispuste. Morfološki, Valdibora je puno zatvorenija i plića u odnosu na uvalu Cuvi, te ima sporiju

cirkulaciju mora. U uvalu se industrijske vode ispuštaju tijekom većeg dijela godine bez značajnijih sezonskih promjena. Indikatori fekalnog onečišćenja pokazali su sličnu prostornu distribuciju tijekom cijele godine sa malo nižim koncentracijama tijekom zime. Sve postaje smještene kod raznih ispusta imale su visoke vrijednosti fekalnih indikatora s izuzetkom kanala oborinskih voda, gdje je more stalno bilo izvrsne kvalitete. Koncentracije fekalnih koliforma kod industrijskog i kanalizacijskih ispusta bile su od 4 do 10 puta niže u odnosu na one izmjerene kod ispusta u uvali Cuvi. S druge strane koncentracije fekalnih streptokoka kod industrijskog ispusta bile su slične onima kod ispusta u uvali Cuvi. Jedine postaje koje su bile onečišćene a nisu bile locirane kod ispusta su bile one na 50 m i 120 m od industrijskog ispusta. Prema tome, jedino je unos značajnog volumena industrijskih voda bio u stanju utjecati na šire područje iako je doseg onečišćenja bio oko 2 puta manji nego u uvali Cuvi. Ostale lokacije nisu pokazale znatne tragove fekalnog onečišćenja. Većina otpadnih voda u uvali Valdibora ispuštala se je u površinskom sloju mora. Smanjene koncentracije fekalnih koliforma na 5 m dubine sugeriralo je širenje otpadnih voda uglavnom u horizontalnom, a znatno manje u vertikalnom smjeru. Razlog tome bi mogao biti niži salinitet i blago povišena temperatura ispuštenih voda. U slučaju industrijskog ispusta primjećeno je stvaranje suspenzije, uglavnom masnog partikulatnog materijala, koja se kroz nekoliko sati širila većinom duž južne obale uvale. Partikulat se je postepeno taložio i obogaćivao sediment velikim količinama masnog materijala, najviše u krugu od 120 m oko ispusta. Budući da su fekalne bakterije uglavnom asocirane s česticama i da streptokoki preživljavaju duže od koliforma u moru, visoke koncentracije streptokoka i niske koncentracije koliforma izmjerene tijekom ljeta na 5 m oko industrijskog ispusta potvrdile su sporo taloženje organskog otpadnog materijala. Tijekom zime niske koncentracije fekalnih indikatora kod industrijskog ispusta na 5 m dubine su najvjerojatnije bile posljedica jačeg gradijenta temperature i saliniteta između ispuštenih voda i prihvatnog mora što je otežavalo vertikalno mješanje vodenog stupca. Kod ispusta bolničkog naselja, indikatori fekalnog onečišćenja su bili prisutni u svim sezonama, u cijelom vodenom stupcu. Na toj lokaciji otpadne vode se ispuštaju na 9 m dubine i postepeno se šire prema površini mora. Iako su mjerenja na 50 m od bolničkog ispusta pokazala niske razine onečišćenja, blizina plaže (oko 70 m od ispusta) čini ga potencijalno opasnim za kupaće pogotovo zbog patogena s dužim vijekom preživljavanja, kao što su virusi i određene skupine rezistentnijih bakterija.

Tijekom ljeta brojnost heterotrofnih bakterija u krugu od 300 m oko industrijskog ispusta bila je značajno veća u odnosu na druge postaje, s time da su postaje do 120 m od ispusta imale tako visoke razine da su prelazile prirodne granice varijacija brojnosti bakterija u rovinjskom akvatoriju. Ovakva vrsta otpadnih voda izrazito bogata organskim materijalom, pokazala se izuzetno pogodnom za bakterije zato što im istovremeno pruža hranu, zaštitu od predatora i fizičku podlogu. Slike dobivene epifluorescentnim mikroskopom su pokazale da su bakterije većim dijelom bile pričvršćene na čestice, te imale veće dimenzije u odnosu na one izvan onečišćenog područja. Iz vizualne procjene brojnosti i dimenzija, bakterijska populacija pod utjecajem industrijskih otpadnih voda je bila jako slična onima dobivenim uzgojem morskih bakterija tijekom 12 sati na hranjivim podlogama u laboratoriju. Kod bolničkog kanalizacijskog ispusta brojnost bakterija je također bila povišena za oko 3 puta u odnosu na neočišćena područja ali su te vrijednosti ipak bile unutar prirodnih varijacija za rovinjsko područje. Ukupna ugradnja timidina u području izloženom industrijskim vodama bila je znatno veća u odnosu na druge lokacije. Međutim, specifična ugradnja timidina imala je općenito niske vrijednosti, koje su zapravo bile i najniže u cijeloj uvali. Taj podatak ukazuje da je replikacija bakterija u onečišćenom području bila spora. Moguće objašnjenje jest da se sustav nalazi u određenoj ravnoteži blizu razine nosivosti sustava. Uz to, može se pretpostaviti da je određeni dio izbrojenih bakterija bio alohtonog porijekla, odnosno asociran sa ribljim otpadom i neprilagođen rastu u moru. Buduća istraživanja o genetskoj strukturi bakterijske zajednice na tom području bi mogla pomoći u identifikaciji porijekla bakterija u tom sustavu. Usporedivši brojnost bakterija oko industrijskog ispusta i glavnog gradskog ispusta u uvali Cuvi, vidi se da je njihov utjecaj na bakterijsku zajednicu različit. Iako je volumen ispuštenih voda u Valdibori za red veličine manji, njegov utjecaj na brojnost bakterijske zajednice bio je znatno veći. Najvjerojatnije je sastav neobrađenog masnog materijala koji se ispušta u uvalu Valdibora bio pogodniji za bakterije u odnosu na djelomično obrađene fekalne vode koje su također sadržavale veliku količinu partikulatnog materijala, ali njegov sastav (veliki udio celuloze i vrlo sitnog pijeska) nije bio tako hranjiv dok je brzina njegovog taloženja najvjerojatnije bila veća. Pri usporedbi ispusta treba uzeti u obzir i različite hidrografske uvjete u uvalama Cuvi i Valdibora. Može se pretpostaviti da je vrlo intenzivan efekt industrijskog ispusta u Valdibori djelomično i posljedica dužeg zadržavanja otpadnih voda u manjem volumenu morske vode. Kod industrijskog ispusta širenje otpadnih voda je ograničeno zbog obale, te se one kontinuirano raspoređuju u istom akvatoriju. Na taj

način se stvara područje koje je dugoročno izloženo organskom opterećenju i u kojem bakterije imaju dovoljno vremena za uspostavljanje ravnoteže. S druge strane zbog strujanja, u uvali Cuvi, bakterije ostaju samo kratkoročno (manje od jednog sata) u kontaktu sa povišenom koncentracijom organskih i anorganskih supstrata, pa je i zbog toga njihov odgovor znatno slabiji.

## 7.2. Sediment

Procesi akumulacije fekalnog onečišćenja i čimbenici koji na njih utječu analizirani su u tri različita sustava karakterizirana različitim količinama i vrstama unesenih organskih tvari i drugačijim granulometrijskim sastavom sedimentata. U uvali Cuvi koja prima najveći volumen slabo tretiranih otpadnih voda duž Rovinjske obale, koncentracije COP-a u površinskim sedimentima u opsegu do 300 m od ispusta kretale su se u rasponu od 0,3 – 39,3  $\mu\text{g/g}$  suhe tvari. Usporedbom sa drugim istraživanjima, vidi se da su izmjerene koncentracije COP-a bile više od onih pronađenih u sedimentima pokraj naseljenih područja u Maleziji i Vijetnamu (1,4 – 15,5  $\mu\text{g/g}$  suhe tvari, Isobe i sur., 2002) i slične vrijednostima registriranim u kontaminiranim sedimentima Venecijanske lagune (0,2 – 41  $\mu\text{g/g}$  suhe tvari, Shervin i sur. 1993). Međutim, koncentracije COP-a u uvali Cuvi bile su niže od onih izmjerenih u estuariju rijeke Bilbao (10,8 – 135,2  $\mu\text{g/g}$  suhe tvari, Saiz-Salinas i Gonzáles-Oreja, 1998), u luci Kaoshiung (Taiwan) (0,58 – 230  $\mu\text{g/g dw}$ , Jeng i Han, 1994) ili u zaljevu Firth of Clyde (Škotska) (do 176  $\mu\text{g/g}$  suhe tvari, Kelly i Campbell, 1995). Prema predloženoj razini COP > 9  $\mu\text{g/g}$  suhe tvari (Nichols i Leeming, 1991) koja se uzima kao pokazatelj značajne kontaminacije, samo površinski sedimenti na 50 m u NE smjeru i do 150 m u NW smjeru se mogu smatrati ozbiljno onečišćenim. Međutim, dodatni dijagnostički indeksi bazirani na odnosu omjera stanola (COP/(COP+CHNOL) i koprostanola prema kolesterolu (COP/CHL) (Grimalt i sur., 1990), koji se smatraju pouzdanijim, pokazali su da je fekalna kontaminacija bila prisutna u svim smjerovima do 300 m od ispusta. U istom radijusu omjer koprostanola prema ukupnim sterolima (COP/ukupni steroli), varirao je proporcionalno razini kontaminacije te je imao najviše vrijednosti u NW smjeru a najniže u SE smjeru. Također omjeri COP/CHL >1 pokazali su prisutnost visokih razina onečišćenja u skladu s omjerima iz drugih istraživanja provedenih u kronično kontaminiranim sedimentima (Fattore i sur., 1996; Carreira i sur., 2004). U dubljem sloju sedimenta uvale Cuvi, uočeno je očuvanje visokih omjera COP/CHL koji se mogu pripisati smanjenoj koncentraciji CHL, najvjerojatnije zbog

preferencijalne mikrobnе razgradnje ili njegove redukcije u anaerobnim uvjetima (Bull i sur., 2002).

Iako su tipovi sedimenta u uvali Cuvi vrlo slični, uočene su neke promjene u njihovom granulometrijskom sastavu u području taloženja otpadnih voda. Budući da je dno oko ispusta podjednake dubine, može se pretpostaviti da temeljnu ulogu u raspodjeli i sedimentaciji ispuštenog materijala imaju pridnene struje i turbulencija vodenog stupca inducirana ispuštom otpadnih voda. Površinski sedimenti na 50 m od ispusta pokazali su povećanje sadržaja grubo zrnatih čestica u NW, NE, i SW smjeru, u odnosu na dublji sloj sedimenta. S druge strane u SE smjeru registrirano je obogaćenje površinskog sedimenta česticama praha i gline. Ova distribucija čestica je u skladu sa generalnom cirkulacijom morskih struja gdje prevladava strujanje u smjeru SE-NW (Pollak i Janeković, 2009). Obogaćivanje površinskog sedimenta grubljim česticama u uvali Cuvi bilo je proporcionalno opterećenju koprostanolom, što je najvjerojatnije uzrokovalo nagli pad redoks potencijala ( $E_h$ ) i stvaranje anoksičnih uvjeta ( $E_h \ll -150$  mV). Iako su prethodna istraživanja (Isobe i sur., 2002) pokazala da su koncentracije koprostanola niže što su veći udjeli pijeska u sedimentu, frakcija vrlo sitnog pijeska (VFSA) je imala najveću korelaciju sa kemijskim i mikrobiološkim indikatorima fekalnog onečišćenja. Prema tome, može se pretpostaviti da je baš taj pjeskoviti materijal bio najvažniji nositelj kontaminacije u sustavu. Iako uređaj za pročišćavanje otpadnih voda sadrži pijeskolov, vrlo sitna frakcija pijeska uspijeva proći kroz sustav i na taj način služi kao nosilac organskog materijala i velikog broja bakterija. Povećavanjem udaljenosti od ispusta, razlike u granulometrijskom sastavu sedimenta između površinskog i dubokog sloja su se postepeno smanjivale a  $E_H$  je bio ovisan o granulometriji. Obogaćivanje površinskih sedimenata sitnozrnatiјim česticama na udaljenostima od 150 m od ispusta nadalje sugerira opći pad energije vode (turbulencije) u odnosu na postaje koje su locirane bliže ispustu.

Sastav organske tvari u sedimentu oko kanalizacijskog ispusta pokazao je da prevladava organski materijal kopnenog porijekla. Omjer  $C/N > 15$  i visoka koncentracija  $\beta$ -sitosterola ( $\beta$ -SIT) pokazuju značajan doprinos ostataka vaskularnih biljaka i njihovih derivata u sedimentu (Ertel i sur., 1986; Orem i sur., 1991). Niske koncentracije dušika ( $N < 5\%$ ) pokazale su da je sustav siromašan ovim elementom ili da ga mikrobnа zajednica brzo iskoristi. Stoga se pretpostavlja da bi denitrifikacija mogla biti značajan proces odgovoran za smanjene dušika u sedimentu (Mahapatra i sur., 2011). Na većim udaljenostima od ispusta

kopnene karakteristike organske tvari smanjivale su se u svim smjerovima kao rezultat kombinacije razrijeđenja i mikrobnih aktivnosti. Povećavanje C/N omjera i koncentracije kolestanola (CHNOL) sugeriraju važan utjecaj mikrobnih aktivnosti (Punyu i sur. 2013.). Kolestanol (CHNOL) je proizvod redukcije kolesterola (CHL) u prirodnim uvjetima, ili može potjecati iz fitoplanktona, zooplanktona i vodenih biljaka (Froehner et al., 2008). Budući da je termodinamički, kolestanol najstabilniji epimer kolesterola (Leeming i sur., 1996) njegova je proizvodnja procesima *in situ* redukcije najvjerojatnija. Prema tome povećanje omjera CHNOL/CHL na postajama koje su bile udaljenije od ispusta upućuju na visoku aktivnost mikrobnih zajednica i razgradnju organske tvari u sedimentu.

Epikoprostanol (eCOP) je prisutan samo u otpadnim vodama koje su prošle neku vrstu obrade ili u fekalnom materijalu koji se nalazi u okolišu duže vrijeme (McCalley i sur., 1981). Odnos omjera eCOP/COP prema omjeru COP/CHL korišten je za procjenu stupnja obrade otpadnih voda ispuštenih iz glavnog gradskog kolektora u uvali Cuvi. Rezultati istraživanja su pokazali da razina obrade otpadnih voda nije bila zadovoljavajuća, najvjerojatnije zbog kratkog vremena zadržavanja u aeracijskim bazenima (15 min tijekom najvećeg opterećenja i 1 sat kod najnižeg). Usporedivši uzorke prije i poslije obrade uočen je ograničen utjecaj aeracije na otpadne vode kroz povećanje omjera stanona ( $bONE/(aONE+bONE)$ ) nakon tretmana zbog oksidacije COP-a u  $\beta$ -koprostanon (bONE) (Grimalt et al., 1990). Rezultati su također pokazali da se interkonverzija koprostanola i  $\beta$ -koprostanona u površinskim te u dubljim slojevima sedimenta u uvali Cuvi češće dešavala u uvjetima manje negativnog redoks potencijala (u oksičnim ili suboksičnim uvjetima). Nasuprot tome, u sedimentima u uvali Valdibora i južne luke usprkos izraženim anoksičnim uvjetima registrirana je značajna interkonverzija koprostanola u  $\beta$ -koprostanon. Najvjerojatnije se taj proces dešava tijekom resuspenzije sedimenta, zbog valova i struja u relativno plitkom moru, koja stvara privremene oksične uvjete.

Bakterijski indikatori fekalnog onečišćenja (FIB) pokazali su dugoročni opstanak u sedimentima, najvjerojatnije zbog obilja organskog materijala i sorpcije na čestice koje im pružaju određenu zaštitu od svijetla i bakteriofaga (Burton i sur., 1987; Stenstrom i Carlander, 2001). Najveće brojnosti FIB-a izmjerene su oko difuzora kanalizacijskih voda u uvali Cuvi i kod ispusta tvornice za preradu ribe u Valdibori. Iako je u uvali Cuvi ispušteni volumen otpadnih voda bio 10 puta veći i koncentracija FIB-a veća za tri reda veličine u odnosu na

otpadne vode iz tvornice za preradu ribe, izmjereni najvjerojatniji brojevi (MPN) u sedimentima bili su vrlo slični. To može biti posljedica različite kvalitete ispuštenih voda. U otpadnim vodama tvornice velike količine masnih čestica i ostataka riba, pridonijeli su stvaranju povoljnih uvjeta za preživljavanje alohtonih bakterija u sedimentu. Povećavanjem udaljenosti od svih izvora onečišćenja primijećeno je generalno smanjenje u MPN broju FIB-a. Fekalni koliformi su bili značajno korelirani sa koncentracijama koprostanola u površinskim i dubljim sedimentima uvale Cuvi dok je odnos između sterola i fekalnih streptokoka bio kompleksniji. Brojnost fekalnih indikatora bila je povezana s razinom fekalne kontaminacije i redoks potencijalom sedimenta. Najvjerojatnije su baš redoks uvjeti imali značajnu ulogu u preživljavanju bakterija budući da su utjecali na procese oksidacije organske tvari. U dubljem sloju sedimenta uvale Cuvi, fekalni koliformi su pokazali prostornu distribuciju koja je bila slična kao u površinskom sloju. To se može pripisati velikom i konstantnom donosu svježeg otpadnog materijala kroz zadnjih 30 godina i procesima bioturbacije, najvjerojatnije od strane oportunističkih mnogočetinaša. Thiyagarajan i sur., (2010) su pokazali da struktura bakterijske zajednice u onečišćenim sedimentima ostaje dugoročno nepromijenjena i ne oporavlja se niti kad se unos onečišćenja smanjuje ili prekine. Prema tome, pretpostavlja se da je određeni dio pronađenih fekalnih koliforma u dubljem sloju sedimenta ostatak originalnog fekalnog materijala koji je ispušten u okolišu prije nekoliko godina.

Za razliku od uvale Cuvi, gdje su kemijski i mikrobiološki pokazatelji onečišćenja bili dobro korelirani, u većini uzoraka iz uvale Valdibore i južne luke, nedostatak takvih korelacija sugerira da kanalizacija nije bila tako značajan izvor kontaminacije sedimenta. Samo na postaji B0, kod kanalizacijskog ispusta bolničkog naselja kemijski i mikrobiološki markeri su potvrdili prisutnost fekalnog onečišćenja. Iako u otpadnim vodama tvornice za preradu ribe nisu bile prisutne značajne količine sanitarnih voda, kao što proizlazi iz dijagnostičkih indeksa sterola, registrirane su visoke koncentracije fekalnih koliforma i streptokoka. Bakterije iz skupine streptokoka znaju često biti prisutne u otpadnim vodama tekstilne industrije, tvornica papira i prehrambenih proizvoda (Leeming i Nichols, 1996). S druge strane iako su fekalni koliformi češće prisutni u urbanim otpadnim vodama, pretpostavlja se da u ovom slučaju, visoki izmjereni brojevi pripadaju rodu *Klebsiella* koja je jedna od glavnih komponenti fekalnih koliforma ali koja nije isključivo ljudskog fekalnog porijekla. Dodatni izvor fekalnih koliforma kraj ispusta tvornice za preradu ribe može se

pripisati i velikom broju galebova koji se stalno hrane u okolici ispusta. Meerburg i sur. (2011) su pokazali da izmet galeba može sadržati velike količine fekalnih koliforma, kao rezultat njihove oportunističke prehrane (Trapp, 1979). Međutim, za razliku od lokacija u južnoj luci i kontrolne postaje RV001, gdje su zabilježeni fekalni steroli tipični za ptičji izmet (CHL+CHNOL+b-SIT), na području oko ispusta industrijskih voda, zbog izrazito visoke koncentracije kolesterola (CHL) u sedimentu, nije ih se moglo dobro prepoznati i razlikovati. Osim toga u sedimentima pod izravnim utjecajem industrijskog ribljeg otpada visoke su koncentracije fekalnih streptokoka, koji su tipični za riblji otpad (Geldreich i Clarke, 1966). Stoga bi baš te vode mogle biti glavni izvor onečišćenja u uvali Valdibora. Sukladno tome, kolesterol (CHL), glavni sterol u većini uvale Valdibora, vjerojatno je bio prekursor za većinu *in situ* proizvedenih sterola, poput koprostanola i kolestanola. U nekoliko istraživanja je pokazano da u nedostatku kanalizacijskih izvora, koprostanol i kolestanol mogu nastati putem anaerobnih dijagenetskih transformacija kolesterola u sedimentima koji primaju visoko labilni organski materijal i u kojima postoje reducirajući uvjeti (Gaskell i Eglinton, 1975; Nishimura, 1982; Nishimura i Koyama, 1977; Taylor i sur, 1981). Takvi su uvjeti određeni u uvali Valdibora.

Rezultati ovog istraživanja su također pokazali da su industrijske otpadne vode bogate masnoćom odgovorne za stvaranje vrlo anoksičnih uvjeta, koji su nađeni na postajama direktno izloženim materijalu koji se taložio iz tih voda. Zbog prevladavanja šljunka i pijeska na ovim lokacijama, nije postojala prirodna predispozicija za stvaranje tako negativnog redoks potencijala. Takvo anoksično okruženje, osim što je pogodovalo dijagenetskim transformacijama kolesterola, poticalo je mikrobnu preradu organskog otpadnog materijala (transformacija COP-a u e-COP) i produljilo je postojanost onečišćenja u sedimentu (relativno visoki omjer e-COP/COP).

## 8. Zaključci

Na temelju obavljenih istraživanja može se zaključiti:

- 1) Vodeni stupac tijekom cijele godine ima visoke razine fekalnog onečišćenja u krugu od 50 m oko glavnog kanalizacijskog ispusta u uvali Cuvi, dok su umjerene razine onečišćenja registrirane do 300 m od ispusta.
- 2) Razina i raspodjela onečišćenja u vodenom stupcu ovisi o udaljenosti od ispusta, količini ispuštenih voda, trenutnom strujanju, o dubini na kojoj se vode ispuštaju i vertikalnom raslojavanju mora.
- 3) U uvali Cuvi zbog struja, razrijeđenja, taloženja i ugibanja fekalnih bakterija procijenjeno je da broj fekalnih bakterija postane zanemariv u roku od jednog sata od trenutka ispuštanja u more.
- 4) Mikrobiološki i kemijski indikatori fekalnog onečišćenja u uvali Cuvi značajno su korelirani iako se njihov odnos mijenja ovisno o sezoni. Tijekom ljeta niske koncentracije koprostanola odgovaraju visokim koncentracijama fekalnih bakterija dok zimi visoke koncentracije koprostanola odgovaraju niskim koncentracijama fekalnih bakterija.
- 5) Otpadne vode iz gradskog kanalizacijskog ispusta u uvali Cuvi imaju zanemariv utjecaj na brojnost i brzinu diobe bakterija u moru.
- 6) Sedimenti u krugu od 300 m oko ispusta u uvali Cuvi pokazali su prisutnost kroničnog onečišćenja fekalnim materijalom.
- 7) Fekalno onečišćenje najvećim je dijelom vezano za frakciju vrlo sitnog pijeska (0,125-0,063  $\mu\text{m}$ ) koja pruža zajedno s ostacima papira i drugog partikulatnog materijala podlogu za prijenos bakterija i organske tvari u more.
- 8) Akumulacijom organske tvari oko ispusta, uključujući i fekalnu, nastaju anoksični uvjeti pogodni za očuvanje organske tvari i preživljavanje fekalnih bakterija u sedimentu.
- 9) Analize indikatora fekalnog onečišćenja prije i poslije obrade otpadnih voda pokazale su da je sustav primarnog pročišćavanja nedovoljno učinkovit.
- 10) U uvali Valdibora glavni izvor onečišćenja je ispust tvornice za preradu ribe koji značajno utječe na morski okoliš do udaljenosti od 120 m.

- 11) Osobine bakterijske zajednice u području izloženom otpadnim vodama tvornice za preradu ribe znatno se razlikuju u odnosu na čisto more i na onečišćene vode u uvali Cuvi.
- 12) Taloženje masnog partikulata iz industrijskog ispusta stvorilo je u sedimentu izrazito anoksične uvjete pogodne za dijagenetski proces pretvorbe kolesterola u koprostanol i kolestanol.
- 13) U južnoj luci, indikatori onečišćenja nisu pokazali značajnu prisutnost fekalnog materijala u sedimentu.

---

## 9. Literatura

- Adingra, A.A. i Arfi, R. (1998) Organic and bacterial pollution in the Ebrie' Lagoon, Côte d'Ivoire. *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 36, pp: 689-695.
- Ashbolt, N.J., Grabow, W.O.K., Snozzi, M. (2001) Indicators of microbial water quality. *Water Quality: Guidelines, standards and health*, World health organization (WHO), pp: 289-316.
- Aslan-Yilmaz A., Okus E., Ovez S. (2004) Bacteriological indicators of anthropogenic impact prior to and during the recovery of water quality in an extremely polluted estuary, Golden Horn, Turkey. *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 49, pp: 951–958.
- Azam, F. (1998) Microbial control of oceanic carbon flux: The plot thickens. *Science*, Vol. 280 no. 5634, pp: 694-696.
- Azam, F., Fenchel, T., Field, J.G., Meyer-Reil, L.A., Thingstad, F. (1983) The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine ecology progress series*, Vol. 10, pp: 257-263.
- Azam, F. i Smith, D.C. (1991) Bacterial influence on the variability in the ocean's biogeochemical state: a mechanistic view. *Particles analysis in oceanography*, pp: 213-236.
- Beck, M. and Radick, M. (2006) Determination of sterols, esterogens and inorganic ions in waste waters and sized aggregates aerosols particles emitted from waste water treatment. *Chemosphere*, Vol. 64 (7), pp: 1134- 1140.
- Braga E.S., Bonetti C.V.D.H., Burone L., Bonetti Filho J. (2000) Eutrophication and bacterial pollution caused by industrial and domestic wastes at the Baixada Santista estuarine system – Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 40, pp: 165–173.
- Brozović, A., Bruvo-Madžarić, B., Četković, H., Herak-Bosnar, M., Hranilović, D., Katušić-Hećimović, S., Meštorović-Radan, N., Mihaljević, S., Slade, N., Vujaklija, D. (2007) Metode u molekularnoj biologiji. Institut Ruđer Bošković, Zagreb, pp: 360- 411.
- Bruni, U., Maugeri, T.L., Monticelli, L. (1997) Faecal pollution indicators in the Terranova Bay (Ross Sea, Antarctica). *Marine pollution bulletin*, Vol. 34 (11), pp: 908-912.
- Bull, I.D., Lockheart, M.J., Elhmmali, M.M., Roberts, D.J., Evershed, R.P. (2002) The origin of faeces by means of biomarker detection. *Environment international*, Vol. 27, pp: 647-654.
- Burton, G.A., Gunnison, D., Lanza, G.R. (1987) Survival of pathogenic bacteria in various freshwater sediments. *Applied environmental microbiology*, Vol. 53, pp: 633-638.
- Caron, D.A., Lim, E.L., Miceli, G., Waterbury, J.B., Valois, F.W. (1992) Grazing and utilization of chroococcoid cyanobacteria and heterotrophic bacteria by protozoa in laboratory cultures and a coastal plankton community. *Marine ecology progress series*, Vol. 76, pp: 205-217.

- 
- Carreira, R.S., Wagener, A.L.R., Readman, J.W. (2004) Sterols as markers of sewage contamination in a tropical urban estuary (Guanabara Bay, Brazil). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, Vol. 60, pp:587-598.
- Carter, R.W.G. (1989) *Coastal environments: An introduction to the physical, ecological and cultural systems of coastlines*. Academic press limited, London, United Kingdom.
- 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*, Vol. 21, pp: 147-157.
- Chisholm J.R.M., Fernex F.E., Mathieu D., Jaubert J.M. (1997) Wastewater discharge, seagrass decline and algal proliferation on the Cote d'Azur. *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 34, pp: 78–84.
- Choi, D.H., Yoang, S.R., Hong, G.H., Chung, C.S., Kim, S.H., Park, J.S., Cho, B.C. (2005) Different interrelationships among phytoplakton, bacterial and environmental variables in dumping nad reference areas in the East Sea. *Aquatic microbial ecology*, Vol. 41, pp: 171-180.
- Demir N., Kirkagac M.U. (2005) Plankton composition and water quality in a pond of spring origin in Turkey. *Limnology*, Vol. 6, pp: 189–194.
- Dufour, A.P. (1977) *Escherichia coli*: the fecal coliform. Bacterial indicators/Health hazards associated with water. American society for testing and materials, Philadelphia, pp: 48-58.
- Dutka, B.J., Elshaarawi, A. (1975) Relationships between various bacterial populations and coprostanol and cholesterol. *Canadian journal of microbiology*, Vol. 21, pp: 1386-1398.
- El-Sayed, M.A. i Niaz, G.R. (2000) A Study of Sewage Pollution Profile along the Southern Coast of Jeddah; Study of some organic and inorganic pollutants” S.R.C, K.A.A.U. No.12/17/55.
- EPA (1989) Ambient Water Quality Criteria for Ammonia (Saltwater). Office of Water Regulations and Standards Criteria and Standards Division, Washington, DC 20460, EPA 440/5-88-004.
- Ertel, J.R., Hedges, J.I., Devol, A.H., Richey, H. (1986) Dissolved humic substances of the Amazon River system. *Limnology and oceanography*, Vol.31, pp: 739-754.
- Evison, L.M., James, A. (1975) Bifidobacterium as an indicator of faecal pollution in water. *Progress in water technology*, Vol. 7, pp: 57-66.
- Fattore, E., Benfenati, E., Marelli, R., Cools, E., Fanelli, R. (1996) Sterols in sediment samples from Venice Lagoon, Italy. *Chemosphere*, Vol. 33, pp: 2383-2393.
- Faust, M.A., Aotkay A.E., i Hargadon, M.T. (1975) Effect of physical parameters on the in situ survival of *Escherichia coli* MC-6 in an estuarine environment. *Applied and environmental microbiology*, Vol. 30, pp: 800-806.

- 
- Figueras, M.J., Borrego, J.J., Pike, E.B., Robertson, W., Ashbolt, N. (2000) Sanitary inspection and microbiological water quality. Monitoring bathing waters-A practical guide to the design and implementation of assessments and monitoring programmes, WHO.
- Folk, R.L. (1954) The distinction between grain size and mineral composition in sedimentary rock nomenclature. *Journal of Geology*, Vol. 62/4, pp: 344–359.
- Froehner, S., Martins, R.F., Errera, M.R. (2009) Assessment of fecal sterols in Bariqui river sediments in Curitiba, Brazil. *Environmental monitoring and assessment*, Vol. 157, pp: 591-600.
- Fuhrman, J.A. i Azam, F. (1982) Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters: evaluation and field results. *Marine biology*, Vol. 66, pp: 109-120.
- Fujioka, R.S., Hashimoto, H.H., Sivak, E.B. i Young, R.H.F. (1981) Effect of sunlight on survival of indicator bacteria in seawater. *Applied and environmental microbiology*, Vol. 41, pp: 690-696.
- Gajić-Čapka, M., Patarčić, M. (2009) Klimatske značajke Rovinja U: Studija o utjecaju na okoliš uređaja za pročišćavanje otpadnih voda "Cuvi" i "Monsena" u gradu Rovinju. Sveučilište u Zagrebu, Građevinski Fakultet.
- Garrido-Perez, M.C., Anfuso E., Acevedo, A., Perales-Vargas-Machuca, J.A. (2008) Microbial indicators of faecal contamination in waters and sediments of beach bathing zones. *International journal of Hygiene and environmental health*, Vol. 211, 5-6; pp:510-517.
- Gaskell, S.J., Eglinton, G. (1975) Rapid hydrogenation of sterols in a contemporary lacustrine sediment. *Nature*, Vol. 254, pp: 209-211.
- Geldreich, E.E., Clarke, N.A. (1966) Bacterial pollution indicators in the intestinal tract of freshwater fish. *Applied microbiology*, Vol. 14, pp: 429-437.
- George, I., Crop, P., Servais, P. (2002) Fecal coliform removal in wastewater treatment plants studied by plate counts and enzymatic methods. *Water Research*, Vol. 36, pp: 2607-2617.
- Gilbride, K.A., Lee, D.Y., Beaudette, L.A. (2006) Molecular techniques in wastewater: Understanding microbial communities, detecting pathogens, and real-time process control. *Journal of microbiological methods*, Vol. 66, pp: 1-20.
- Glassmeyer, S.T., Furlong, E.T., Kolpin, D.W., Cahill, J.D., Zaugg, S.D., Werner, S.L., Meyer, M.T., Kryak, D.D. (2005) Transport of chemical and microbial compounds from known wastewater discharges: Potential for use as indicators of human fecal contamination. *Environmental science and technology*, Vol. 39, pp: 5157-5169.

- 
- Grimalt, J.O., Fernandez, P., Bayona, J.M., Albaiges, J. (1990) Assessment of fecal sterols and ketones as indicators of urban sewage inputs to coastal waters. *Environmental science and technology*, Vol. 24, pp: 357-363.
- Gücker, B., Brauns, M. A., Pusch, M.T. (2006) Effects of wastewater treatment plant discharge on ecosystem structure and function of lowland streams. *Journal of the North American benthological society*, Vol. 25, pp: 313–329.
- Hawkins, J., Leenheer, J.A., Barber, L.B. (1995) Sewage contamination in the upper Mississippi river as measured by the fecalsterol, coprostanol. *Water research*, Vol. 29 (6), pp: 1427-1436.
- He, J.W. i Jiang, S. (2005) Quantification of *enterococci* and human *adenoviruses* in environmental samples by real-time PCR. *Applied environmental microbiology*, Vol. 71, pp: 2250-2255.
- Hinchey, E.K. i Schaffner, L.C. (2005) An evaluation of electrode insertion techniques for measurement of redox potential in estuarine sediments. *Chemosphere*, Vol. 59 (5), pp:703-710.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T. (1993) *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Williams & Wilkins, Co., Baltimore.
- Isobe, K.O., Tarao, M., T., Zakaria, M., Chiem, N.H., Minh, L.Y., Takada, H. (2002) Quantitative application of fecal sterols using gas chromatography-mass spectrometry to investigate fecal pollution in tropical waters: Western Malaysia and Mekong Delta, Vietnam. *Environmental science and technology*, Vol. 36, pp: 4497-4507.
- Ivančić, I., Degobbis, D. (1984) An optimal manual procedure for ammonia analysis in natural waters by the indophenol blue method. *Water research*, Vol. 18, pp: 1143-1147.
- Ivančić, I., Fuks, D., Najdek, M., Blažina, M., Devescovi, M., Šilović, T., Paliaga, P., Orlić, S. (2010) Long-term changes in heterotrophic prokaryotes abundance and growth characteristics in the northern Adriatic Sea. *Journal of Marine Systems*, Vol. 82, pp: 206–216.
- Ivančić, I., Paliaga, P., Orlić, Matošević, K., Najdek Dragić, M., Gašparović, B., Šilović, T. (2014) Preliminarna studija utjecaja fekalnog zagađenja i organske tvari iz otpadnih voda na rovinjski akvatorij: podmorski ispust „Cuvi“ u Rovinju. Institut Ruđer Bošković, Centar za Istraživanje Mora Rovinj.
- Jeng, W. L. i Han, B. C. (1994) Sedimentary coprostanol in Kaohsiung Harbor and Tan-Shui Estuary, Taiwan. *Marine pollution bulletin*, Vol. 28, pp: 494-499.
- Jozić, S., Morović, M., Šolić, M., Krstulović, N., Ordulj, M. (2014) Effect of solar radiation, temperature and salinity on the survival of two different strains of *Escherichia coli*. *Fresenius Environmental Bulletin*, Vol. 23, pp: 1852-1859.

- 
- Kelly, A.G., Campbell, L.A. (1995) Persistent organochlorine contaminants in the Firth of Clyde in relation to sewage sludge input. *Marine environmental research*, Vol. 41, pp: 99-132.
- Kirchman, D.L., Nees, K., Hodson, R. (1985) Leucine incorporation and its potential as a measure of protein synthesis by bacteria in natural aquatic systems. *Applied and environmental microbiology*, Vol. 49, pp: 599-607.
- Krstulović, N., M. Šolić., Marasović, I. (2006). Relation between bacteria, phytoplankton and heterotrophic nanoflagellates along the trophic gradient. *Helgoland Meeresuntersuch*, Vol. 51, pp:433-443.
- Krstulović, N., M. Šolić. (2006) Mikrobiologija mora. Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split. 317 str.
- LaGier, M.J., Joseph, L.A., Passaretti, T.V., Musser, K.A., Cirino, N.M. (2004) A real-time multiplexed PCR assay for rapid detection and differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Molecular and cellular probes*, Vol. 18, pp: 275-282.
- Laureillard, J. i Saliot, A. (1993) Biomarkers in organic matter produced in estuaries: a case study of the Krka estuary (Adriatic Sea) using the sterol marker series. *Marine Chemistry*, Vol. 43, pp: 247-261.
- Leeming, R., Ball, A., Ashbolt, N., Nichols, P. (1996) Using fecal sterols from humans and animals to distinguish fecal pollution in receiving waters. *Water research*, Vol. 30, pp: 2893-2900.
- Leeming, R., Nichols, P.D. (1996) Concentrations of coprostanol that correspond to existing bacterial indicator guideline limits. *Water research*, Vol. 30, pp: 2997-3006.
- Leeming, R., Latham, V., Rayner, M., Nichols, P. (1997) Detecting and distinguishing sources of sewage pollution in Australian inland and coastal waters and sediments. *Molecular markers in environmental geochemistry*, pp: 306-319.
- Lichtenstein, A.H. (1990) Intestinal cholesterol metabolism. *Annals of medicine*, Vol. 22 (1), pp: 49-52.
- Livia, G.S., Cardeiro, M. Carierra, R.S. and Wagener, A.R.L. (2008) Geochemistry of fecal sterols in a contaminated estuary in Southern Brazil. *Organic geochemistry*, Vol. 39 (8), pp: 1097-1103.
- Mahapatra, D.M., Chanakya, H.N., Ramachandra, T.V. (2011) C:N ratio of sediments in a sewage fed urban lake. *International journal of geology*, Vol. 5, pp: 86-92.
- Malačić, V., Petelin, B., Vukovič, A., Potočnik, B. (2000) Municipal discharges along the slovenian littoral (the Northern Adriatic Sea) – Community planning and environmental load. *Periodicum biologorum*, Vol. 102, Supplement 1, pp: 91-100.

- 
- Martins C. C., Fillmann G, Montone R C. (2007) Natural and anthropogenic sterols inputs in surface sediments of Patos Lagoon, Brazil. *Journal of Brazilian Chemical Society*, Vol. 18(1), pp: 106-115.
- McCalley, D.V., Cooke, M., Nickless, G. (1981) Effect of sewage treatment on faecal sterols. *Water research*, Vol. 15, pp: 1019-1025.
- McFeters, G.A. i Stuart , D.G. (1972) Survival of coliform bacteria in natural waters: Field and laboratory studies with membrane filter chambers. *Applend environmental microbiology*, Vol. 24, pp: 805-811.
- Meerburg, B.G., Koene, M.G.J., Kleijn, D. (2011) *Escherichia coli* concentrations in feces of geese, coots and gulls residing on recreational water in the Netherlands. *Vector Borne Zoonotic Diseases*, Vol. 11, pp: 601-603.
- MICROMERITICS (2002): SediGraph 5100 Particle size analysis system operator' manual, Micromeritics Instrument Corporation, Norcross, Georgia.
- Mitchell, R. i Morris, J.C. (1969) The fate of intestinal bacteria in the sea. *Advances in water pollution research*, S.H. Jenkins(Ed.) Pergamon press, Inc., London, pp: 811-821.
- Morales, M.M., Marti, P., Llopis, A., Campos, L., Sagrado, S. (1999) An environmental study by factor analysis of surface seawaters in the gulf of Valencia (Western Mediterranean). *Analytica chimica acta*, Vol. 394 (1), pp: 109-117.
- Mozetić, P., Malačić, V., Turk, V. (2008) A case study of sewage discharge in the shallow coastal area of the Northern Adriatic Sea (Gulf of Trieste). *Marine Ecology*, Vol. 29, pp:483-494.
- Mudge, S.M. i Seguel, C.G., (1999) Organic contamination of San Vicente Bay, Chile. *Marine pollution bulletin*, Vol.38, pp:1011-1021.
- Nichols, P., Leeming, R. (1991) Tracing sewage in the marine environment. *Chemistry in Australia*, pp: 274-276.
- Nichols, P., Leeming R., Rayner M.S., Latham V., (1996) Use of capillary gas chromatography for measuring faecal sterol derived sterols: application to stormwater, the sea surface microlayer, beach greases, regional studies and distinguishing algal blooms and human and non-human sources of sewage pollution. *Journal of Chromatography*, Vol: 733A, pp: 469-509.
- Nishimura, M. (1982) 5b-Isomers of stanols and stannones as potential markers of sedimentary organic quality and depositional paleoenvironments. *Geochimica et cosmochimica acta*, Vol. 46, pp: 423-432.
- Nishimura, M., Koyama, T. (1977) The occurrence of stanols in various living organisms and the behavior of sterols in contemporary sediments. *Geochimica et cosmochimica acta*, Vol. 41, pp: 379-385.

- 
- NN 94/08 (2008) Pravilnik o graničnim vrijednostima mikrobioloških pokazatelja za otpadne vode koje se ispuštaju u priobalne vode a koriste se za kupanje i rekreaciju, članak 6, točka 8.
- Noblet, J.A., Young, D.L., Zeng, E.Y. i Ensari, S. (2004) Use of fecal steroids to infer the sources of fecal indicator bacteria in the lower Santa Ana River watershed, California: Sewage is unlikely a significant source. *Environmental science and technology*, Vol. 38, pp: 6002-6008.
- Orem, W.H., W.C. Burnett, W.M. Landing, W.B. Lyons, & W. Showers (1991) Jellyfish Lake, Palau: Early diagenesis of organic matter in sediments of an anoxic marine lake. *Limnology and oceanography*, Vol. 36, pp: 526-543.
- Pace, M.L. i Cole, J.J. (1994) Comparative and experimental approaches to top-down and bottom-up regulation of bacteria. *Microbial Ecology*, Vol. 28, pp:181-193.
- Peele, E.R., Singleton, F.L., Deming, J.W., Cavari, B., Colwell, R.R. (1981) Effects of pharmaceutical wastes on microbial populations in surface waters at the Puerto Rico dump site in the Atlantic Ocean. *Applied and environmental microbiology*, Vol. 41 (4), pp: 873-879.
- Peng, X., Zhang, G., Mai, B., Hu, J., Li, K. and Wang, Z. (2005) Tracing anthropogenic contamination in Pearl River and marine environment of South China Sea using sterols and other organic molecular markers. *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 50 (8), pp: 856-865.
- Pipes, W.O. (1982) Indicators and water quality. *Bacterial indicators of pollution*, CRC Press Inc., Boca Raton, pp: 83-95.
- Pollak, Z. i Janeković, I. (2009) Hidrodinamičke osobine dinamike morske razine i morskih struja (Prilog 3). U: Studija o utjecaju na okoliš uređaja za pročišćavanje otpadnih voda "Cuvi" i "Monsena" u gradu Rovinju. Sveučilište u Zagrebu, Građevinski Fakultet.
- Porter, K.G. i Feig, Y.S. (1980) The use of DAPI for identification and counting aquatic microflora. *Limnology and oceanography*, Vol. 25, pp: 943-984.
- Punyu, V., R., Harji, R.R., Bhosle, N.B., Sawant, S.S., Venkat, K., (2013) n-Alkanes in Surficial sediments of Visakhapatnam harbor, east coast of India. *Journal of Earth system science*, Vol. 122, pp: 467-477.
- Saiz-Salinas, J.I., González-Oreja, J.A. (1998) Coprostanol levels and organic enrichment in sediments of the Bilbao estuary (north of Spain). *Oceanologica acta*, Vol. 21, pp: 319-324.
- Sanders, R.W., Caron, D.A., Berninger, U-G. (1992) Relationships between bacteria and heterotrophic nanoplacton in marine and fresh waters: an inter-ecosystem comparison. *Marine ecology progress series*, Vol. 86, pp: 1-14.
- Savage C., Elmgren R., Larsson U. (2002) Effects of sewage derived nutrients on an estuarine macrobenthic community. *Marine Ecology Progress Series*, Vol. 243, pp: 67–82.

- 
- Savichtcheva, O., Okabe, S. (2006) Alternative indicators of fecal pollution: Relations with pathogens and conventional indicators, current methodologies for direct pathogen monitoring and future application perspectives. *Water research*, Vol. 40, pp: 2463-2476.
- Scott, T.M., Rose, J.B., Jenkins, T.M., Farrah, S.R., Lukasik, J. (2002) Microbial source tracking: Current methodology and future directions. *Applied and environmental microbiology*, Vol. 68, pp: 5796-5803.
- Seguel, C.G., Mudge, S., Salgado, C., Toledo, M. (2001) Tracing sewage in the marine environment: altered signatures in Conception Bay, Chile. *Water research*, Vol. 35 (17), pp: 4166-4174.
- Sherwin, M.R., Van Vleet, E.S., Fossato, V.U., Dolch, F., (1993) Coprostanol (5 $\beta$ -cholestan-3 $\beta$ -ol) in lagoonal sediments and mussels of Venice, Italy. *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 26, pp: 501-507.
- Shiah, F.K. i Ducklow, H.W. (1997) Biochemical adaptation of bacterioplankton to changing environmental conditions with implication for the compatibility of 3H-thymidine to 3H-leucine incorporation measurements. *Aquatic microbial ecology*, Vol. 13, pp: 151-159.
- Simpson, J.M., Santo domingo, J.W., Reasoner, D.J. (2002) Microbial source tracking: State of the science. *Environmental science & technology*, Vol. 36, pp: 5279-5287.
- Smith, D.C., i Azam, F. (1992) A simple, economical method for measuring bacterial protein synthesis rates in seawater. *Marine microbial food webs*, Vol. 6, pp: 107-114.
- Soltan D., Verlaque M., Boudouresque C.F., Francour P. (2001) Changes in macroalgal communities in the vicinity of a Mediterranean sewage outfall after setting up a treatment plant. *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 42, pp: 59–70.
- Stender, H., Broomer, A.J., Perry-O'Keefe, K.O.H., Hyldig-Nielsen, J.J., Sage, A., Coull, J. (2001) Rapid detection, identification and enumeration of *E. coli* cells in municipal water by chemiluminescent in situ hybridization. *Applied and environmental microbiology*, Vol. 67, pp: 142-147.
- Stenstrom, T.A., Carlander, A. (2001) Occurrence and die-off of indicator organisms in the sediment in two constructed wetlands. *Water science and technology*, Vol. 44, pp: 223-230.
- Strickland, J.D.H., Parsons, T.R. (1972) A practical handbook of seawater analysis. *Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada*, Vol.167, pp: 310.
- Supić, N., Grbec, B., Vilibić, I. i Ivančić, I. (2004) Long-term changes in hydrographic conditions in northern Adriatic and its relationship to hydrological and atmospheric processes. *Annales Geophysicae*, Vol. 22, pp: 733-745.

- 
- Szűcs S., Sárváry, A., Cain, T., Ádány, R. (2006) Method validation for the simultaneous determination of fecal sterols in surface waters by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of chromatographic science*, Vol. 44, pp: 70-76.
- Šolić, M. i Krstulović, N. (1992) Separate and combined effects of solar radiation, temperature, salinity, and pH on the survival of faecal coliforms in seawater. *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 24, pp: 411-416.
- Šolić, M. i Krstulović, N. (2000) Ekologija morskog bakterioplanktona. Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split.
- Šolić, M., Krstulović, N., Krušpilić, G., Ninčević Gladan, Ž., Bojanić, N., Šestanović, S., Šantić, D., Ordulj, M. (2010) Changes in microbial food web structure in response to changed environmental trophic status: A case study of the Vranjic Basin (Adriatic Sea). *Marine Environmental Research*, Vol. 70, pp: 239-249.
- Takada, H., Farrington, J.W., Bothner, M.H., Johnson, C.G., Tripp, B.W. (1994) Transport of sludge-derived organic pollutants in deep sea sediments at Deep Water Dump Site 106. *Environmental science and technology*, Vol. 28, pp: 1062-1072.
- Takizawa, M., Straube, W.L., Hill, R.T., Colwell, R.R. (1993) Near-bottom pelagic bacteria at deep-water sewage sludge disposal site. *Applied and environmental microbiology*, Vol. 59 (10), pp: 3406-3410.
- Taylor, C.D., Smith, S.O., Gagosian, R.B. (1981) Use of microbial enrichments for the study of the anaerobic degradation of cholesterol. *Geochimica et cosmochimica acta*, Vol. 45, pp: 2161-2168.
- Thiyagarajan, V., Tsoi, M.M.Y., Zhang, W., Quian, P.Y. (2010) Temporal variation of coastal surface sediment bacterial communities along an environmental pollution gradient. *Marine Environmental research*, Vol. 70, pp: 56-64.
- Trapp, J.L. (1979) Variation in summer diet of Glaucous-winged Gulls in the Western Aleutian Islands: an ecological interpretation. *Wilson bulletin*, Vol. 91, pp: 412–419.
- Tudor, M., Šolić, M., Krstulović, N. (1990) T<sub>90</sub> of total coliforms, faecal coliforms and faecal streptococci in the Kaštela Bay. *Acta Adriatica*, Vol. 31, pp: 67-74.
- Ujiie, H., Hatakeyama, Y., Gu, X.X., Yamamoto, S., Ishiwatari, R. i Maeda, L. (2001) Upward decrease of organic C/N ratios in the Okinawa trough cores: proxy for tracing the post-glacial retreat of the continental shore line. *Palaeogeography, palaeoclimatology, palaeoecology*, Vol. 165, pp: 129-140.
- UN (2015) Wastewater management. A UN-Water analytical brief.
- UNEP/ECE/UNIDO/FAO/UNESCO/WHO/IAEA (1984) Pollutants from land based sources in the Mediterranean. UNEP regional seas reports and studies No. 32. United nations environment programme, Geneva.

- 
- UNEP (2008) Benefits of marine and coastal ecosystems to human wellbeing. An overview of the state of the world's fresh and marine waters, 2nd edition.
- Walker, R.W., Wun, C.K., Litsky, W. (1982) Coprostanol as an indicator of fecal pollution. *Critical reviews in environmental control*, Vol. 12, pp: 91-112.
- WENTWORTH, C.K. (1922): A scale of grade and class terms for clastic sediments. *The Journal of Geology*, Vol. 30, pp: 377-392.
- WHO (1994) Guidelines for health related monitoring of coastal recreational and shellfish areas. Part I General guidelines. Long-term Programme for Pollution Monitoring and Research in the Mediterranean Sea (MED/POL Phase II)
- Wu, J., Yue, J., Hu, R., Yang, Z., Zhang, L. (2008) Use of caffeine and human pharmaceutical compounds to identify sewage contamination. *World academy of science, engineering and technology*, Vol. 44, pp: 438-442.
- Yung, Y.K., Yau, K., Wong, C.K., Chan, K.K., Yeung, I., Kueh, C.S.W. i Broom, M.J. (1999) Some observations of the changes of physico-chemical and biological factors in Victoria Harbour and vicinity, Hong Kong, 1988-1996. *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 39 (1-12), pp: 315-325.
- Zhang, R., Baozhong, L. Lau, S.C.K., Ki, J-S., Quian, P-Y. (2007) Particle-attached and free-living bacterial communities in a contrasting marine environment: Victoria Harbour, Hong Kong. *FEMS Microbial ecology*, Vol. 61, pp: 496-508.
- Zhang, R., Lau, S.C.K., Ki, J-S., Thiyagarajan, V., Quian, P-Y. (2009) Response of bacterioplankton community structures to hydrological conditions and anthropogenic pollution in contrasting subtropical environments. *FEMS Microbial ecology*, Vol. 69, pp: 449-460.

---

Izvori slika:

Slika1. [https://www.rpi.edu/dept/DFWI/facilities/microbiology\\_lab\\_facilities.html](https://www.rpi.edu/dept/DFWI/facilities/microbiology_lab_facilities.html)

<http://www.himedialabs.com/intl/en/products/Agriculture/General-Purpose-Media-Bacteria/Plate-Count-Agar-Standard-Methods-Agar-M091>

Slika2. [http://www.solabia.fr/solabia/produitsDiagnostic.nsf/SW\\_PROD/94CF44F2F8052117C12574B100510379?opendocument&LG=EN&](http://www.solabia.fr/solabia/produitsDiagnostic.nsf/SW_PROD/94CF44F2F8052117C12574B100510379?opendocument&LG=EN&)

<http://www.eolabs.com/bile-aesculin-agar-pp0030.html>

Slika 3. Furey, J.S., Fredrickson, H., Foote, C. i Richmond, M. (2007) "Post-Katrina fecal contamination in Violet Marsh near New Orleans" *Int. J. Environ. Res. Public Health*, Vol. 4 (2), pp: 84-92.

Slika 4. i Slika 5. <http://en.wikipedia.org/wiki/Coprostanol>

Slika 7. [http://sgut.bf.rtu.lv/?lang=eng&kateg=zind&group=main\\_areas](http://sgut.bf.rtu.lv/?lang=eng&kateg=zind&group=main_areas)

Slika 8. [http://ekvv.uni-bielefeld.de/blog/uninews/entry/a\\_giant\\_puzzle\\_with\\_billions](http://ekvv.uni-bielefeld.de/blog/uninews/entry/a_giant_puzzle_with_billions)

## 10. Prilozi

Pomoćna tablica 1. Hidrografski podaci, ortofosfat, aminijev ion, brojnost heterotrofnih bakterija (HB/l), fekalni koliformi (FK) i fekalni streptokoki (FS) u vodenom stupcu uvale Cuvi.

Postaja	Datum	Dubina	Temp.	Sal.	Phos ( $\mu\text{MPO}_4^{3-}$ )	Amon ( $\mu\text{MNH}_4^+$ )	HB/l	FK (CFU/100ml)	FS (CFU/100ml)
C0	23.8.2010	5	24,71	34,87	0,01	0,597	511.383.571	20	7
C0	23.8.2010	10	23,89	35,37	0	1,583	419.860.250	2	0
C0	23.8.2010	20	16,23	37,04	0,36	9,854	647.911.833	44000	4500
CSE1	23.8.2010	5	24,01	35,24	0,04	1,293	606.650.667	175	10
CSE1	23.8.2010	10	21,25	36,65	0,05	1,687	535.280.000	17	1
CSE1	23.8.2010	20	16,36	37,27	0,08	4,78	500.869.143	13500	900
CSE3	23.8.2010	5	24,10	35,22	0,04	0,979	694.748.833	30	2
CSE3	23.8.2010	10	20,90	36,71	0,04	0,825	581.001.833	3	2
CSE3	23.8.2010	20	15,91	37,37	0,03	1,25	276.904.462	125	125
CSE4	23.8.2010	5	23,96	35,32	0,03	0,942	527.752.625	0	0
CSE4	23.8.2010	10	20,74	36,76	0,05	0,973	478.884.429	4	1
CSE4	23.8.2010	20	15,75	37,38	0,04	1,268	246.730.625	9	17
CSE5	23.8.2010	5	24,01	35,25	0,03	0,622	670.215.167	3	0
CSE5	23.8.2010	10	20,33	36,80	0,05	1,108	483.424.750	1	5
CSE5	23.8.2010	20	15,86	37,37	0,05	1,078	339.902.800	31	22
CSE6	23.8.2010	5	24,40	35,00	0,03	0,979	588.808.000	5	1
CSE6	23.8.2010	10	20,60	36,83	0,09	0,794	485.097.500	0	0
CSE6	23.8.2010	20	15,95	37,36	0,01	0,683	458.333.500	9	9
CNE1	23.8.2010	5	24,73	34,86		0,511	646.796.667	3	2
CNE1	23.8.2010	10	21,85	36,55		0,554	567.619.833	5	2
CNE1	23.8.2010	20	16,51	37,27	0,03	5,199	484.619.571	10500	1300
CNE3	23.8.2010	5	24,72	34,85		0,665	699.878.600	9	9
CNE3	23.8.2010	10	21,72	36,55		0,667	592.153.500	0	10
CNE3	23.8.2010	20	16,74	37,25	0	3,628	279.349.250	4300	650
CNE4	23.8.2010	5	24,44	34,98		0,449	373.952.556	2	5
CNE4	23.8.2010	10	21,31	36,59		0,671	392.538.667	3	11
CNE4	23.8.2010	20	15,89	36,77	0,05	0,609	310.827.364	8	23
CNW1	23.8.2010	5	24,74	34,85		0,702	671.330.333	2	0
CNW1	23.8.2010	10	23,08	36,01		0,523	548.662.000	2	3
CNW1	23.8.2010	20	16,73	37,23	0,04	3,751	560.928.833	6500	1000
CNW3	23.8.2010	5	24,77	34,83		0,622	684.712.333	19	4
CNW3	23.8.2010	10	22,21	36,31		0,683	592.631.429	0	4
CNW3	23.8.2010	20	16,81	37,25	0,07	2,673	527.752.625	1550	400

CNW4	23.8.2010	5	24,73	34,83		0,628	762.774.000	7	8
CNW4	23.8.2010	10	21,65	36,51		0,505	695.864.000	0	5
CNW4	23.8.2010	20	16,53	37,24	0,07	4,145	560.928.833	1600	1300
CSW1	23.8.2010	5	24,72	34,86		0,437	593.268.667	2	7
CSW1	23.8.2010	10	23,84	35,42		0,511	558.698.500	1	1
CSW1	23.8.2010	20	16,92	37,20	0,01	5,962	485.575.429	6800	1600
CSW3	23.8.2010	5	24,76	34,85		0,72	685.158.400	16	20
CSW3	23.8.2010	10	23,72	35,54		1,219	698.540.400	195	56
CSW3	23.8.2010	20	16,88	37,17	0,07	1,928	376.926.333	1500	330
CSW4	23.8.2010	5	24,82	34,83		0,505	588.808.000	1	18
CSW4	23.8.2010	10	23,56	35,66		0,443	510.188.750	7	5
CSW4	23.8.2010	20	17,13	37,21	0,08	3,141	209.930.125	5500	1100
C0	12.10.2010	5	18,93	34,87	0,01	0,721	568.735.000	0	0
C0	12.10.2010	10	18,65	34,87	0,03	2,476	555.353.000	0	1
C0	12.10.2010	20	19,21	36,51	0,05	27,720	1.302.514.667	55000	5400
CSE1	12.10.2010	5	19,03	34,86	0,05	1,916	473.574.111	10	1
CSE1	12.10.2010	10	19,8	35,56	0,02	2,710	511.861.500	1	0
CSE1	12.10.2010	20	19,25	36,61	0,05	2,273	284.925.083	1800	200
CSE3	12.10.2010	5	19,02	34,87	0,01	1,331	434.078.625	1	1
CSE3	12.10.2010	10	19,59	35,47	0,02	1,318	400.851.727	2	1
CSE3	12.10.2010	20	19,34	36,74	0,01	1,263	337.226.400	80	20
CSE4	12.10.2010	5	19,07	34,89	0,03	1,472	383.211.818	1	0
CSE4	12.10.2010	10	19,65	35,55	0,01	0,955	452.980.700	3	2
CSE4	12.10.2010	20	19,39	36,75	0,01	0,758	332.725.182	280	31
CSE5	12.10.2010	5	18,91	34,86	0,02	0,764	395.438.100	0	0
CSE5	12.10.2010	10	19,74	35,58	0,02	0,819	449.513.545	0	0
CSE5	12.10.2010	20	19,4	36,7	0	0,770	308.901.167	15	4
CSE6	12.10.2010	5	18,69	34,84	0,01	0,788	392.335.909	2	3
CSE6	12.10.2010	10	19,26	35,3	0,03	0,807	524.574.400	0	0
CSE6	12.10.2010	20	19,26	36,7	0,02	0,634	370.438.091	0	1
CNE1	12.10.2010	5	19,05	34,92		0,628	608.881.000	0	0
CNE1	12.10.2010	10	19,05	34,99		0,647	473.844.455	0	0
CNE1	12.10.2010	20	19,18	36,62		0,869	549.270.273	600	0
CNE3	12.10.2010	5	19,04	34,87		0,634	375.253.583	0	0
CNE3	12.10.2010	10	19,73	35,54		0,616	531.376.917	1	1
CNE3	12.10.2010	20	19,16	36,61		1,133	517.265.769	260	120
CNE4	12.10.2010	5	19,03	34,87		0,616	1.374.164.125	0	0
CNE4	12.10.2010	10	19,47	35,2		0,487	480.079.250	0	0
CNE4	12.10.2010	20	19,4	36,39		1,060	610.097.545	170	55
CNW1	12.10.2010	5	19	34,89		0,684	564.051.300	1	0
CNW1	12.10.2010	10	18,9	34,98		0,906	465.328.636	10	0
CNW1	12.10.2010	20	19,11	36,55		1,133	321.725.583	300	100
CNW3	12.10.2010	5	18,98	34,85		0,702	590.146.200	0	0
CNW3	12.10.2010	10	19,01	34,87		0,782	443.278.750	0	0

CNW3	12.10.2010	20	19,15	36,64		0,961	506.082.909	540	100
CNW4	12.10.2010	5	18,98	34,83		0,604	513.199.700	0	0
CNW4	12.10.2010	10	19,17	34,96		0,567	302.767.750	1	0
CNW4	12.10.2010	20	19,07	36,64		1,004	411.800.636	380	85
CSW1	12.10.2010	5	18,98	34,88		0,598	599.959.667	0	0
CSW1	12.10.2010	10	18,61	34,87		0,721	475.730.100	0	0
CSW1	12.10.2010	20	19,2	36,52		5,784	1.045.468.750	10500	1200
CSW3	12.10.2010	5	18,91	34,86		0,598	519.464.909	0	0
CSW3	12.10.2010	10	18,79	34,96		0,690	570.407.750	2	2
CSW3	12.10.2010	20	19,22	36,52		2,378	480.265.111	2400	330
CSW4	12.10.2010	5	18,95	34,88		0,610	442.349.444	1	0
CSW4	12.10.2010	10	18,76	34,89		0,585	454.988.000	0	1
CSW4	12.10.2010	20	19,18	36,55		0,702	450.527.333	130	32
C0	7.2.2011	5	10,20	37,36	0,05	1,029	242.309.786	2735	500
C0	7.2.2011	10	10,20	37,36	0,05	1,023	254.258.000	1450	200
C0	7.2.2011	20	10,30	37,36	0,12	0,961	295.519.167	377	100
CSE1	7.2.2011	5	10,50	37,33	0,15	3,191	199.155.647	1950	680
CSE1	7.2.2011	10	10,20	37,35	0,15	1,768	334.550.000	1200	170
CSE1	7.2.2011	20	10,10	37,36	0,06	1,016	250.434.571	207	53
CSE3	7.2.2011	5	10,10	37,36	0,17	3,055	223.479.400	25	5
CSE3	7.2.2011	10	10,10	37,36	0,08	1,485	212.857.438	25	6
CSE3	7.2.2011	20	10,20	37,35	0,07	0,708	310.827.364	77	14
CSE4	7.2.2011	5	10,20	37,36	0,03	0,665	353.406.455	3	3
CSE4	7.2.2011	10	10,30	37,35	0,05	0,468	347.932.000	26	11
CSE4	7.2.2011	20	10,00	37,35	0,06	0,634	198.368.471	40	10
CSE5	7.2.2011	5	10,30	37,34	0,07	0,474	375.365.100	22	9
CSE5	7.2.2011	10	10,30	37,23	0,04	0,505	225.263.667	29	8
CSE5	7.2.2011	20	10,40	37,37	0,04	0,579	240.398.071	52	5
CSE6	7.2.2011	5	10,10	37,38	0,07	0,881	375.365.100	14	7
CSE6	7.2.2011	10	10,10	37,37	0,04	0,536	225.263.667	23	13
CSE6	7.2.2011	20	10,10	37,36	0,04	0,302	240.398.071	80	15
CNE1	7.2.2011	5	10,20	37,29		2,304	305.352.909	2175	510
CNE1	7.2.2011	10	10,11	37,35		0,684	227.494.000	325	110
CNE1	7.2.2011	20	10,10	37,34		0,191	294.404.000	93	14
CNE3	7.2.2011	5	10,60	37,36		1,010	279.906.833	104	280
CNE3	7.2.2011	10	10,30	37,36		1,078	260.434.308	153	515
CNE3	7.2.2011	20	10,20	37,36		0,536	292.173.667	463	140
CNE4	7.2.2011	5	10,29	37,33		0,148	320.052.833	11	8
CNE4	7.2.2011	10	10,10	37,35		0,185	337.895.500	16	8
CNE4	7.2.2011	20	10,10	37,36		0,283	245.655.286	14	5
CNW1	7.2.2011	5	10,20	37,36		0,320	257.125.571	55	9
CNW1	7.2.2011	10	10,10	37,36		0,450	210.766.500	81	23
CNW1	7.2.2011	20	10,20	37,37		0,302	345.255.600	177	55
CNW3	7.2.2011	5	10,20	37,37		0,277	225.709.733	12	4

CNW3	7.2.2011	10	10,30	37,36		0,493	268.154.692	63	13
CNW3	7.2.2011	20	10,10	37,36		0,548	317.822.500	148	32
CNW4	7.2.2011	5	10,70	37,37		0,474	292.345.231	91	46
CNW4	7.2.2011	10	10,60	37,41		0,357	419.302.667	184	49
CNW4	7.2.2011	20	10,20	37,37		0,216	227.047.933	150	34
CSW1	7.2.2011	5	11,00	37,38		0,166	259.404.923	0	1
CSW1	7.2.2011	10	10,30	37,37		0,339	226.155.800	17	9
CSW1	7.2.2011	20	10,20	37,37		0,326	288.270.583	96	44
CSW3	7.2.2011	5	10,30	37,38		0,388	246.611.143	0	1
CSW3	7.2.2011	10	10,60	37,43		0,203	368.674.100	56	9
CSW3	7.2.2011	20	10,10	37,37		0,172	235.523.200	139	28
CSW4	7.2.2011	5	10,70	37,37		0,370	305.961.182	1	1
CSW4	7.2.2011	10	10,40	37,37		0,283	285.482.667	1	2
CSW4	7.2.2011	20	10,20	37,37		0,265	260.949.000	110	22
C0	24.3.2011	5	10,60	37,26	0,07	1,854	379.156.667	2700	600
C0	24.3.2011	10	10,30	37,27	0,03	1,232	381.387.000	1090	300
C0	24.3.2011	20	10,20	37,14	0	1,146	414.842.000	296	35
CSE1	24.3.2011	5	11,40	37,27	0,02	0,462	387.408.900	50	20
CSE1	24.3.2011	10	10,80	37,28	0,05	0,647	318.126.636	67	21
CSE1	24.3.2011	20	10,30	37,31	0,01	2,051	373.209.111	140	40
CSE3	24.3.2011	5	11,30	37,26	0,05	0,524	379.156.667	0	7
CSE3	24.3.2011	10	10,80	37,28	0,02	0,246	382.873.889	13	10
CSE3	24.3.2011	20	10,30	37,31	0,01	0,542	288.270.583	10	0
CSE4	24.3.2011	5	11,20	37,28	0,07	0,376	305.961.182	0	16
CSE4	24.3.2011	10	10,80	37,25	0,02	0,407	449.635.200	0	14
CSE4	24.3.2011	20	10,50	37,20	0	0,339	355.292.100	10	10
CSE5	24.3.2011	5	11,10	37,29	0,050	0,690	505.542.222	1	4
CSE5	24.3.2011	10	11,30	37,25	0,010	0,468	243.265.643	6	11
CSE5	24.3.2011	20	10,60	37,32	0,020	0,554	424.878.500	10	0
CSE6	24.3.2011	5	11,60	37,31	0,040	0,296	385.847.667	1	5
CSE6	24.3.2011	10	10,60	37,26	0,060	0,444	378.710.600	0	3
CSE6	24.3.2011	20	10,20	37,28	0,010	0,764	372.465.667	10	10
CNE1	24.3.2011	5	11,20	37,25		0,499	386.533.923	0	10
CNE1	24.3.2011	10	11,20	37,26		0,548	442.944.200	16	10
CNE1	24.3.2011	20	10,60	37,29		0,715	343.152.714	290	90
CNE3	24.3.2011	5	11,50	37,25		0,370	428.224.000	0	55
CNE3	24.3.2011	10	11,20	37,24		0,265	375.365.100	0	10
CNE3	24.3.2011	20	10,70	37,27		0,351	342.579.200	255	115
CNE4	24.3.2011	5	11,10	37,23		0,388	378.710.600	0	42
CNE4	24.3.2011	10	10,40	37,26		0,271	535.280.000	48	55
CNE4	24.3.2011	20	10,30	37,33		0,320	382.603.545	13	15
CNW1	24.3.2011	5	10,70	37,26		0,684	228.832.200	250	145
CNW1	24.3.2011	10	10,60	37,13		0,893	355.961.200	325	80
CNW1	24.3.2011	20	10,60	37,29		0,357	485.933.875	95	10

CNW3	24.3.2011	5	10,80	37,35	0,351	282.694.750	160	115
CNW3	24.3.2011	10	10,60	37,23	0,370	446.958.800	134	75
CNW3	24.3.2011	20	10,30	37,24	0,191	408.820.100	650	355
CNW4	24.3.2011	5	11,10	37,24	0,462	260.949.000	60	230
CNW4	24.3.2011	10	10,40	37,27	0,290	323.955.917	60	106
CNW4	24.3.2011	20	10,30	37,31	0,271	111.962.733	30	10
CSW1	24.3.2011	5	10,60	37,25	1,189	336.557.300	16	69
CSW1	24.3.2011	10	10,30	37,27	0,825	393.282.111	54	68
CSW1	24.3.2011	20	10,30	37,24	0,394	207.814.588	10	30
CSW3	24.3.2011	5	11,40	37,29	0,850	288.828.167	103	200
CSW3	24.3.2011	10	11,10	37,30	0,585	305.961.182	40	80
CSW3	24.3.2011	20	10,40	37,31	0,363	241.831.857	10	0
CSW4	24.3.2011	5	11,20	37,28	0,493	210.348.313	1300	220
CSW4	24.3.2011	10	10,60	37,28	0,585	407.481.900	340	130
CSW4	24.3.2011	20	10,50	37,30	0,474	292.173.667	110	0
C0	6.5.2011	5	15,70	37,24	0,326	315.085.273	2	0
C0	6.5.2011	10	15,50	37,25	1,460	278.791.667	5	3
C0	6.5.2011	20	14,50	37,20	1,583	335.665.167	4920	1200
CSE1	6.5.2011	5	15,80	37,25	0,222	260.434.308	0	6
CSE1	6.5.2011	10	15,20	37,25	0,191	281.022.000	0	0
CSE1	6.5.2011	20	14,10	37,30	0,333	254.258.000	750	100
CSE3	6.5.2011	5	16,30	37,26	0,086	310.827.364	0	1
CSE3	6.5.2011	10	15,80	37,30	0,265	353.284.800	1	2
CSE3	6.5.2011	20	14,20	37,26	0,166	310.016.333	230	60
CSE4	6.5.2011	5	16,30	37,25	0,148	235.439.563	1	0
CSE4	6.5.2011	10	15,70	37,30	0,117	339.902.800	0	0
CSE4	6.5.2011	20	14,70	37,26	0,185	146.038.348	15	11
CSE5	6.5.2011	5	16,30	37,27	0,136	161.800.545	5	11
CSE5	6.5.2011	10	15,80	37,31	0,086	246.611.143	3	0
CSE5	6.5.2011	20	14,70	37,26	0,216	187.348.000	49	35
CSE6	6.5.2011	5	16,60	37,26	0,246	282.137.167	0	0
CSE6	6.5.2011	10	16,00	37,26	0,357	231.062.533	3	10
CSE6	6.5.2011	20	15,20	37,23	0,154	143.298.917	1	3
CNE1	6.5.2011	5	16,10	37,22	0,148	202.697.941	0	0
CNE1	6.5.2011	10	15,80	37,26	0,209	295.519.167	1	6
CNE1	6.5.2011	20	14,30	37,29	0,216	276.389.769	850	48
CNE3	6.5.2011	5	16,10	37,24	0,123	306.569.455	2	0
CNE3	6.5.2011	10	15,70	37,25	0,080	293.846.417	1	0
CNE3	6.5.2011	20	14,70	37,28	0,462	390.085.300	325	100
CNE4	6.5.2011	5	16,10	37,25	0,185	237.307.467	0	0
CNE4	6.5.2011	10	15,70	37,26	0,062	327.859.000	1	6
CNE4	6.5.2011	20	14,90	37,25	0,203	287.155.417	170	120
CNW1	6.5.2011	5	15,90	37,24	0,105	291.616.083	6	0
CNW1	6.5.2011	10	15,80	37,24	0,037	282.137.167	9	7

CNW1	6.5.2011	20	14,80	37,27	0,246	265.066.538	2988	88
CNW3	6.5.2011	5	15,80	37,24	0,074	128.930.423	1	1
CNW3	6.5.2011	10	15,60	37,25	0,049	199.549.235	1	2
CNW3	6.5.2011	20	14,70	37,28	0,296	292.731.250	346	170
CNW4	6.5.2011	5	15,90	37,24	0,068	304.136.364	11	0
CNW4	6.5.2011	10	15,60	37,25	0,092	189.578.333	1	1
CNW4	6.5.2011	20	14,70	37,27	0,573	315.693.545	360	250
CSW1	6.5.2011	5	15,80	37,24	0,333	240.398.071	0	3
CSW1	6.5.2011	10	15,70	37,25	0,302	351.946.600	3	7
CSW1	6.5.2011	20	14,70	37,20	1,743	150.402.043	3000	410
CSW3	6.5.2011	5	15,70	37,23	0,246	312.652.182	2	1
CSW3	6.5.2011	10	15,40	37,24	0,123	225.709.733	5	3
CSW3	6.5.2011	20	14,20	37,28	0,382	298.307.083	290	37
CSW4	6.5.2011	5	15,80	37,23	0,209	288.270.583	0	1
CSW4	6.5.2011	10	15,60	37,23	0,222	204.665.882	2	2
CSW4	6.5.2011	20	14,50	37,29	0,376	212.857.438	105	19

Pomoćna tablica 2. Podaci o specifičnoj ugradnji timidina (sTdR), leucina (sLeu) i njihovog omjera (L/T) u vodenom stupcu uvale Cuvi.

Postaja	Datum	Dubina	sTdR (zmol/lCell)	sLeu (zmol/l/cell)	L/T
CNW4	23/8/2010	5	0,30	9,57	31,80
CNW4	23/8/2010	10	0,70	47,52	67,53
CNW4	23/8/2010	20	44,76	76,91	1,72
CNW3	23/8/2010	5	1,61	32,05	19,95
CNW3	23/8/2010	10	1,56	21,57	13,80
CNW3	23/8/2010	20	21,47	48,79	2,27
CNW1	23/8/2010	5	0,54	19,25	35,87
CNW1	23/8/2010	10	0,31	23,16	74,51
CNW1	23/8/2010	20	21,67	29,71	1,37
C0	23/8/2010	5	0,44	31,01	70,94
C0	23/8/2010	10	0,65	32,67	49,88
C0	23/8/2010	20	3,37	44,69	13,27
CSE1	23/8/2010	5	0,13	5,03	38,41
CSE1	23/8/2010	10	0,81	4,20	5,17
CSE1	23/8/2010	20	37,76	29,88	0,79

---

CSE3	23/8/2010	5	4,22	17,99	4,26
CSE3	23/8/2010	10	6,83	13,69	2,01
CSE3	23/8/2010	20	24,57	99,07	4,03
CSE4	23/8/2010	5	0,32	12,34	38,19
CSE4	23/8/2010	10	1,19	25,64	21,52
CSE4	23/8/2010	20	2,12	43,20	20,36
CSE5	23/8/2010	5	0,79	31,97	40,70
CSE5	23/8/2010	10	0,48	14,02	29,37
CSE5	23/8/2010	20	4,51	90,16	20,00
CSE6	23/8/2010	5	0,32	26,01	81,36
CSE6	8/23/2010	10	0,97	11,91	12,32
CSE6	23/8/2010	20	0,89	32,88	36,87
CNW4	12/10/2010	5	4,07	24,21	5,94
CNW4	12/10/2010	10	5,94	45,35	7,64
CNW4	12/10/2010	20	2,35	33,24	14,13
CNW3	12/10/2010	5	2,15	17,84	8,29
CNW3	12/10/2010	10	0,47	53,56	112,91
CNW3	12/10/2010	20	2,31	31,61	13,67
CNW1	12/10/2010	5	2,33	0,75	0,32
CNW1	12/10/2010	10	1,19	19,66	16,50
CNW1	12/10/2010	20	1,42	52,32	36,93
C0	12/10/2010	5	3,86	7,37	1,91
C0	12/10/2010	10	1,10	1,00	0,91
C0	12/10/2010	20	2,25	13,32	5,93
CSE1	12/10/2010	5	6,32	29,10	4,60
CSE1	12/10/2010	10	0,69	17,01	24,56
CSE1	12/10/2010	20	10,32	58,60	5,68
CSE3	12/10/2010	5	2,65	10,04	3,78
CSE3	12/10/2010	10	3,09	17,50	5,67
CSE3	12/10/2010	20	2,64	27,98	10,61
CSE4	12/10/2010	5	2,23	5,90	2,64
CSE4	12/10/2010	10	3,19	17,28	5,42
CSE4	12/10/2010	20	8,52	39,52	4,64
CSE5	12/10/2010	5	2,92	28,45	9,73
CSE5	12/10/2010	10	0,72	2,08	2,90
CSE5	12/10/2010	20	3,35	1,41	0,42
CSE6	12/10/2010	5	1,32	15,23	11,58
CSE6	12/10/2010	10	2,04	19,24	9,46
CSE6	12/10/2010	20	1,16	2,83	2,44
C0	7/2/2011	5	1,37	52,46	38,42

---

C0	7/2/2011	10	0,94	88,72	94,69
C0	7/2/2011	20	7,14	82,40	11,55
CSE1	7/2/2011	5	3,37	153,91	45,61
CSE1	7/2/2011	10	2,68	34,54	12,90
CSE1	7/2/2011	20	1,64	16,26	9,89
CSE3	7/2/2011	5	2,30	261,70	113,96
CSE3	7/2/2011	10	5,17	93,94	18,16
CSE3	7/2/2011	20	2,20	85,91	39,14
CSE4	7/2/2011	5	1,01	115,40	114,13
CSE4	7/2/2011	10	0,36	131,11	360,73
CSE4	7/2/2011	20	2,94	42,63	14,52
CSE5	7/2/2011	5	0,67	118,27	175,52
CSE5	7/2/2011	10	1,02	136,92	134,45
CSE5	7/2/2011	20	1,01	65,65	65,05
CSE6	7/2/2011	5	1,50	66,86	44,44
CSE6	7/2/2011	10	3,89	130,87	33,64
CSE6	7/2/2011	20	2,83	51,69	18,29
C0	24/3/2011	5	0,35	18,13	51,94
C0	24/3/2011	10	2,00	88,26	44,02
C0	24/3/2011	20	51,06	60,22	1,18
CSE1	24/3/2011	5	1,88	43,20	22,95
CSE1	24/3/2011	10	0,52	58,81	113,61
CSE1	24/3/2011	20	1,00	55,49	55,45
CSE3	24/3/2011	5	1,83	41,25	22,58
CSE3	24/3/2011	10	0,87	29,06	33,48
CSE3	24/3/2011	20	1,33	44,58	33,61
CSE4	24/3/2011	5	0,97	57,78	59,52
CSE4	24/3/2011	10	0,61	47,11	77,03
CSE4	24/3/2011	20	0,74	11,59	15,56
CSE5	24/3/2011	5	0,81	7,72	9,48
CSE5	24/3/2011	10	0,74	47,57	63,98
CSE5	24/3/2011	20	5,04	36,19	7,19
CSE6	24/3/2011	5	2,47	28,60	11,60
CSE6	24/3/2011	10	0,58	39,55	67,91
CSE6	24/3/2011	20	12,84	53,76	4,19
CNW4	6/5/2011	5	6,14	17,02	2,77
CNW4	6/5/2011	10	7,76	16,72	2,15
CNW4	6/5/2011	20	11,20	20,90	1,87
CNW3	6/5/2011	5	2,24	5,07	2,27
CNW3	6/5/2011	10	32,71	72,63	2,22

CNW3	6/5/2011	20	23,01	55,61	2,42
CNW1	6/5/2011	5	7,46	2,87	0,38
CNW1	6/5/2011	10			
CNW1	6/5/2011	20			
C0	6/5/2011	5	0,53	6,30	11,79
C0	6/5/2011	10	0,90	7,19	8,01
C0	6/5/2011	20	28,96	54,70	1,89
CSE1	6/5/2011	5	2,66	10,43	3,93
CSE1	6/5/2011	10	2,91	12,67	4,35
CSE1	6/5/2011	20	4,70	65,48	13,93
CSE3	6/5/2011	5	1,56	8,45	5,42
CSE3	6/5/2011	10	1,47	7,18	4,90
CSE3	6/5/2011	20	4,42	14,97	3,39
CSE4	6/5/2011	5	0,93	3,70	3,99
CSE4	6/5/2011	10	1,43	4,49	3,14
CSE4	6/5/2011	20	4,29	8,87	2,07
CSE5	6/5/2011	5	0,55	3,72	6,80
CSE5	6/5/2011	10	0,68	3,86	5,66
CSE5	6/5/2011	20	2,63	6,29	2,39
CSE6	6/5/2011	5	1,35	2,03	1,50
CSE6	6/5/2011	10			
CSE6	6/5/2011	20			

Pomoćna tablica 3. Koncentracije sterola ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ) i njihovi omjeri u vodenom stupcu uvale Cuvi: koprostanol (COP), omjer koprostanola i ukupnih sterola (COP/ $\Sigma$ ), epikoprostanol (eCOP), kolesterol (CHL), kolestanol (CHL-NOL), omjer epikoprostanola i koprostanola (eCOP/COP), omjer koprostanola i kolesterola (COP/CHL) i omjer stanola (COP/(COP+CHNOL)).

Postaja	Datum	Dubina	COP	COP/ $\Sigma$	eCOP	CHL	CHL-NOL	eCOP/ COP	COP/CHL	COP/(COP +CHNOL)
C0	23.8.2010	5	0,04	0,10	0,00	0,08	0,00	0,00	0,44	1,00
C0	23.8.2010	10	0,03	0,15	0,00	0,09	0,00	0,00	0,40	1,00
C0	23.8.2010	20	3,13	0,56	0,00	0,22	0,40	0,00	13,93	0,89
CSE1	23.8.2010	5	0,06	0,17	0,00	0,10	0,00	0,00	0,60	1,00
CSE1	23.8.2010	10	0,08	0,22	0,04	0,04	0,00	0,56	2,10	1,00
CSE1	23.8.2010	20	0,42	0,53	0,02	0,07	0,00	0,05	6,18	1,00
CSE3	23.8.2010	5	0,15	0,28	0,03	0,13	0,00	0,22	1,16	1,00

CSE3	23.8.2010	10	0,01	0,06	0,00	0,09	0,00	0,00	0,15	1,00
CSE3	23.8.2010	20	0,12	0,23	0,03	0,15	0,00	0,26	0,78	1,00
CSE4	23.8.2010	5	0,05	0,02	0,98	0,27	0,00	19,47	0,19	1,00
CSE4	23.8.2010	10	0,07	0,02	1,27	0,38	0,00	18,13	0,18	1,00
CSE4	23.8.2010	20	0,11	0,04	1,03	0,14	0,00	9,12	0,79	1,00
CSE5	23.8.2010	5	0,05	0,01	1,37	0,08	0,00	27,70	0,65	1,00
CSE5	23.8.2010	10	0,05	0,02	1,32	0,30	0,07	25,19	0,17	0,43
CSE5	23.8.2010	20	0,1	0,04	1,02	0,14	0,00	10,02	0,70	1,00
CSE6	23.8.2010	5	0,05	0,02	1,24	0,20	0,00	23,76	0,26	1,00
CSE6	23.8.2010	10	0,06	0,02	1,37	0,11	0,00	22,34	0,57	1,00
CSE6	23.8.2010	20	0,04	0,01	1,11	0,07	0,00	29,54	0,56	1,00
CNE1	23.8.2010	5	0,08	0,02	1,68	0,24	0,00	21,82	0,32	1,00
CNE1	23.8.2010	10	0,10	0,23	0,14	0,03	0,00	1,42	2,87	1,00
CNE1	23.8.2010	20	0,98	0,20	1,17	0,47	0,12	1,19	2,09	0,89
CNE3	23.8.2010	5	0,07	0,02	1,58	0,21	0,00	21,39	0,35	1,00
CNE3	23.8.2010	10	0,08	0,03	1,14	0,12	0,00	13,53	0,69	1,00
CNE3	23.8.2010	20	0,45	0,09	1,71	0,42	0,06	3,75	1,09	0,88
CNE4	23.8.2010	5	0,12	0,02	2,18	0,25	0,00	18,26	0,48	1,00
CNE4	23.8.2010	10	0,12	0,02	2,13	0,42	0,00	18,49	0,27	1,00
CNE4	23.8.2010	20	0,11	0,03	1,26	0,29	0,00	11,64	0,37	1,00
CNW1	23.8.2010	5	0,11	0,03	1,37	0,12	0,00	12,86	0,92	1,00
CNW1	23.8.2010	10	0,42	0,02	8,58	1,46	0,00	20,18	0,29	1,00
CNW1	23.8.2010	20	0,92	0,21	0,99	0,42	0,15	1,08	2,21	0,86
CNW3	23.8.2010	5	0,04	0,02	0,80	0,10	0,04	22,54	0,34	0,50
CNW3	23.8.2010	10	0,04	0,02	0,82	0,11	0,00	19,57	0,39	1,00
CNW3	23.8.2010	20	0,047	0,14	0,98	0,28	0,08	2,10	1,68	0,85
CNW4	23.8.2010	5	0,04	0,01	0,97	0,13	0,00	27,54	0,27	1,00
CNW4	23.8.2010	10	0,05	0,02	1,15	0,08		22,52	0,61	1,00
CNW4	23.8.2010	20	0,85	0,16	1,22	0,62	0,14	1,43	1,37	0,86
CSW1	23.8.2010	5	0,11	0,02	1,73	0,47	0,00	15,91	0,23	1,00
CSW1	23.8.2010	10	0,1	0,02	1,86	0,12	0,00	19,43	0,82	1,00
CSW1	23.8.2010	20	2,43	0,30	1,71	0,54	0,37	0,70	4,46	0,87
CSW3	23.8.2010	5	0,14	0,02	2,36	0,18	0,00	17,29	0,75	1,00
CSW3	23.8.2010	10	0,12	0,03	1,45	0,19	0,00	12,32	0,61	1,00
CSW3	23.8.2010	20	0,53	0,19	0,79	0,08	0,10	1,47	6,70	0,84
CSW4	23.8.2010	5	0,02	0,02	0,55	0,10	0,00	24,08	0,24	1,00
CSW4	23.8.2010	10	0,05	0,02	0,97	0,08	0,00	18,31	0,64	1,00
CSW4	23.8.2010	20	0,96	0,21	1,23	0,14	0,14	1,28	6,92	0,87
C0	12.10.2010	5	0,05	0,02	1,40	0,04	0,00	29,17	1,13	1,00
C0	12.10.2010	10	0,06	0,02	1,13	0,06	0,00	19,01	1,05	1,00
C0	12.10.2010	20	15,14	0,44	1,30	2,92	2,09	0,09	5,19	0,88
CSE1	12.10.2010	5	0,07	0,02	1,26	0,08	0,00	18,43	0,83	1,00
CSE1	12.10.2010	10	0,06	0,03	1,07	0,05	0,00	16,67	1,32	1,00
CSE1	12.10.2010	20	0,21	0,07	1,11	0,21	0,00	5,33	1,00	1,00

CSE3	12.10.2010	5	0,14	0,05	1,22	0,05	0,00	8,71	2,96	1,00
CSE3	12.10.2010	10	0,00	0,00	0,61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CSE3	12.10.2010	20	0,07	0,03	0,94	0,19	0,00	13,40	0,37	1,00
CSE4	12.10.2010	5	0,00	0,00	1,04	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00
CSE4	12.10.2010	10	0,00	0,00	0,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CSE4	12.10.2010	20	0,04	0,02	0,86	0,05	0,00	20,02	0,94	1,00
CSE5	12.10.2010	5	0,00	0,00	0,67	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00
CSE5	12.10.2010	10	0,00	0,00	0,51	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00
CSE5	12.10.2010	20	0,04	0,02	1,10	0,21	0,00	28,66	0,18	1,00
CSE6	12.10.2010	5	0,05	0,03	0,93	0,03	0,00	17,59	1,51	1,00
CSE6	12.10.2010	10	0,06	0,02	1,19	0,07	0,00	21,29	0,79	1,00
CSE6	12.10.2010	20	0,00	0,00	1,11	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00
CNE1	12.10.2010	5	0,00	0,00	0,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CNE1	12.10.2010	10	0,00	0,00	0,73	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00
CNE1	12.10.2010	20	0,00	0,00	0,82	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CNE3	12.10.2010	5	0,07	0,03	0,88	0,07	0,00	12,20	0,98	1,00
CNE3	12.10.2010	10	0,10	0,05	0,71	0,09	0,05	6,74	1,19	0,67
CNE3	12.10.2010	20	0,00	0,00	0,39	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CNE4	12.10.2010	5	0,00	0,00	0,79	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00
CNE4	12.10.2010	10	0,00	0,00	2,06	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00
CNE4	12.10.2010	20	0,12	0,03	1,75	0,14	0,00	14,03	0,93	1,00
CNW1	12.10.2010	5	0,02	0,01	0,81	0,15	0,00	40,55	0,13	1,00
CNW1	12.10.2010	10	0,02	0,01	0,75	0,10	0,00	37,50	0,20	1,00
CNW1	12.10.2010	20	0,20	0,04	2,11	0,17	0,00	10,73	1,16	1,00
CNW3	12.10.2010	5	0,20	0,14	0,61	0,15	0,00	3,07	1,28	1,00
CNW3	12.10.2010	10	0,13	0,05	0,92	0,17	0,05	7,31	0,75	0,73
CNW3	12.10.2010	20	0,22	0,07	0,83	0,29	0,10	3,68	0,78	0,69
CNW4	12.10.2010	5	0,14	0,02	2,06	0,12	0,08	15,09	1,15	0,64
CNW4	12.10.2010	10	0,16	0,05	0,97	0,16	0,07	6,17	0,97	0,68
CNW4	12.10.2010	20	0,28	0,08	1,08	0,11	0,06	3,89	2,60	0,82
CSW1	12.10.2010	5	0,18	0,02	3,18	0,21	0,04	17,67	0,88	0,83
CSW1	12.10.2010	10	0,13	0,03	1,74	0,21	0,04	12,97	0,64	0,76
CSW1	12.10.2010	20	9,11	0,39	1,69	2,48	1,25	0,19	3,68	0,88
CSW3	12.10.2010	5	0,11	0,03	1,44	0,16	0,03	13,37	0,68	0,77
CSW3	12.10.2010	10	0,89	0,17	1,46	0,33	0,14	1,64	2,71	0,87
CSW3	12.10.2010	20	0,19	0,05	1,43	0,18	0,04	7,69	1,05	0,81
CSW4	12.10.2010	5	0,3	0,04	2,46	0,31	0,13	8,32	0,96	0,70
CSW4	12.10.2010	10	0,22	0,03	2,42	0,24	0,12	11,09	0,90	0,64
CSW4	12.10.2010	20	1,17	0,11	2,80	1,01	0,00	2,39	1,16	1,00
C0	7.2.2011	5	0,1	0,03	1,46	0,21	0,00	14,00	0,50	1,00
C0	7.2.2011	10	0,13	0,04	1,18	0,09	0,00	9,24	1,37	1,00
C0	7.2.2011	20	0,16	0,02	2,78	0,37	0,00	17,78	0,43	1,00
CSE1	7.2.2011	5	0,74	0,11	1,96	0,36	0,10	2,66	2,04	0,88
CSE1	7.2.2011	10	0,45	0,08	1,89	0,26	0,07	4,21	1,72	0,87

CSE1	7.2.2011	20	0,22	0,05	1,58	0,21	0,04	7,30	1,04	0,85
CSE3	7.2.2011	5	0,64	0,17	1,40	0,44	0,13	1,49	2,11	0,88
CSE3	7.2.2011	10	0,52	0,05	3,39	0,46	0,17	6,55	1,13	0,75
CSE3	7.2.2011	20	0,24	0,03	2,50	0,33	0,10	10,33	0,73	0,71
CSE4	7.2.2011	5	0,11	0,03	1,45	0,16	0,05	13,17	0,69	0,70
CSE4	7.2.2011	10	0,24	0,04	2,10	0,21	0,07	8,82	1,15	0,78
CSE4	7.2.2011	20	0,25	0,03	2,26	0,50	0,12	9,12	0,50	0,67
CSE5	7.2.2011	5	0,12	0,03	1,62	0,17	0,06	14,00	0,67	0,64
CSE5	7.2.2011	10	0,15	0,02	2,40	0,34	0,08	16,03	0,45	0,67
CSE5	7.2.2011	20	0,12	0,02	2,00	0,17	0,08	16,24	0,73	0,60
CSE6	7.2.2011	5	0,1	0,02	2,40	0,31	0,00	23,12	0,33	1,00
CSE6	7.2.2011	10	0,19	0,02	3,01	0,62	0,13	16,00	0,30	0,60
CSE6	7.2.2011	20	0,19	0,02	1,96	0,36	0,10	2,66	2,04	0,88
CNE1	7.2.2011	5	0,59	0,09	1,96	0,28	0,15	3,31	2,09	0,79
CNE1	7.2.2011	10	0,18	0,04	1,58	0,12	0,03	8,79	1,49	0,84
CNE1	7.2.2011	20	0,1	0,02	1,44	0,10	0,05	14,58	0,98	0,68
CNE3	7.2.2011	5	0,35	0,03	3,76	0,28	0,06	10,79	1,26	0,85
CNE3	7.2.2011	10	0,47	0,05	3,35	0,36	0,12	7,06	1,33	0,79
CNE3	7.2.2011	20	0,25	0,03	3,42	0,30	0,04	13,45	0,85	0,86
CNE4	7.2.2011	5	0,1	0,02	1,75	0,08	0,04	17,29	1,32	0,74
CNE4	7.2.2011	10	0,2	0,02	3,42	0,25	0,05	17,25	0,79	0,79
CNE4	7.2.2011	20	0,2	0,02	2,99	0,30	0,02	14,94	0,67	0,90
CNW1	7.2.2011	5	0,19	0,03	2,69	0,37	0,09	14,32	0,50	0,68
CNW1	7.2.2011	10	0,18	0,02	2,63	0,30	0,07	14,54	0,60	0,73
CNW1	7.2.2011	20	0,15	0,02	2,39	0,43	0,07	15,85	0,35	0,70
CNW3	7.2.2011	5	0,2	0,02	3,03	0,46	0,07	14,97	0,44	0,73
CNW3	7.2.2011	10	0,23	0,02	3,88	0,40	0,05	16,59	0,58	0,84
CNW3	7.2.2011	20	0,21	0,02	3,12	0,64	0,04	15,15	0,32	0,82
CNW4	7.2.2011	5	0,18	0,03	2,30	0,24	0,09	12,54	0,78	0,67
CNW4	7.2.2011	10	0,28	0,03	2,83	0,48	0,16	10,26	0,58	0,64
CNW4	7.2.2011	20	0,21	0,03	2,70	0,48	0,12	13,15	0,43	0,62
CSW1	7.2.2011	5	0,28	0,02	4,12	0,40	0,09	14,77	0,70	0,76
CSW1	7.2.2011	10	0,11	0,02	2,08	0,16	0,03	18,80	0,69	0,78
CSW1	7.2.2011	20	0,12	0,03	1,54	0,16	0,06	13,01	0,75	0,68
CSW3	7.2.2011	5	0,3	0,04	2,13	0,16	0,16	7,13	1,87	0,65
CSW3	7.2.2011	10	0,32	0,02	4,24	0,38	0,09	13,06	0,85	0,79
CSW3	7.2.2011	20	0,21	0,02	3,19	0,41	0,07	15,41	0,50	0,76
CSW4	7.2.2011	5	0,31	0,03	4,06	0,23	0,07	12,94	1,36	0,82
CSW4	7.2.2011	10	0,27	0,02	3,73	0,44	0,15	13,85	0,61	0,65
CSW4	7.2.2011	20	0,18	0,02	3,33	0,24	0,05	17,98	0,78	0,80
C0	6.5.2011	5	0,05	0,01	1,34	2,71	0,08	27,70	0,02	0,37
C0	6.5.2011	10	0,1	0,01	1,68	2,31	0,02	17,25	0,04	0,80
C0	6.5.2011	20	0,26	0,03	2,78	1,96	0,08	10,63	0,13	0,77
CSE1	6.5.2011	5	0,09	0,01	2,55	0,22	0,00	27,09	0,43	1,00

---

CSE1	6.5.2011	10	0,07	0,01	2,09	0,34	0,00	29,91	0,21	1,00
CSE1	6.5.2011	20	0,15	0,04	1,11	0,40	0,00	7,50	0,37	1,00
CSE3	6.5.2011	5	0,15	0,02	2,75	0,32	0,00	18,44	0,47	1,00
CSE3	6.5.2011	10	0,06	0,01	2,35	0,26	0,00	37,19	0,24	1,00
CSE3	6.5.2011	20	0,1	0,02	2,41	0,22	0,00	23,19	0,46	1,00
CSE4	6.5.2011	5	0,05	0,08	0,01	0,12	0,00	0,20	0,44	1,00
CSE4	6.5.2011	10	0,02	0,03	0,07	0,10	0,00	3,89	0,16	1,00
CSE4	6.5.2011	20	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00
CSE5	6.5.2011	5	0,06	0,24	0,00	0,02	0,00	0,00	3,08	1,00
CSE5	6.5.2011	10	0,05	0,11	0,06	0,06	0,00	1,13	0,80	1,00
CSE5	6.5.2011	20	0,06	0,10	0,00	0,12	0,00	0,00	0,49	1,00
CSE6	6.5.2011	5	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00
CSE6	6.5.2011	10	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00
CSE6	6.5.2011	20	0,00	0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00
CNE1	6.5.2011	5	0,05	0,09	0,00	0,20	0,00	0,00	0,25	1,00
CNE1	6.5.2011	10	0,02	0,07	0,03	0,07	0,00	1,32	0,36	1,00
CNE1	6.5.2011	20	0,04	0,11	0,00	0,09	0,00	0,00	0,45	1,00
CNE3	6.5.2011	5	0,07	0,13	0,00	0,11	0,00	0,00	0,68	1,00
CNE3	6.5.2011	10	0,06	0,16	0,00	0,07	0,00	0,00	0,84	1,00
CNE3	6.5.2011	20	0,15	0,33	0,00	0,14	0,00	0,00	1,06	1,00
CNE4	6.5.2011	5	0,05	0,07	0,00	0,13	0,00	0,00	0,41	1,00
CNE4	6.5.2011	10	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00
CNE4	6.5.2011	20	0,07	0,15	0,03	0,14	0,00	0,41	0,51	1,00
CNW1	6.5.2011	5	0,14	0,01	3,77	0,22	0,00	26,21	0,66	1,00
CNW1	6.5.2011	10	0,21	0,02	3,28	0,48	0,08	15,87	0,43	0,71
CNW1	6.5.2011	20	1,37	0,14	2,44	0,30	0,18	1,78	4,58	0,88
CNW3	6.5.2011	5	0,1	0,02	1,75	0,16	0,00	17,79	0,59	1,00
CNW3	6.5.2011	10	0,1	0,02	1,63	0,26	0,00	16,15	0,39	1,00
CNW3	6.5.2011	20	0,27	0,04	1,41	0,46	0,12	5,13	0,60	0,70
CNW4	6.5.2011	5	0,15	0,01	3,83	0,33	0,00	25,79	0,45	1,00
CNW4	6.5.2011	10	0,13	0,02	3,62	0,28	0,00	27,90	0,47	1,00
CNW4	6.5.2011	20	0,5	0,03	3,66	0,73	0,00	7,30	0,69	1,00
CSW1	6.5.2011	5	0,08	0,11	0,05	0,23	0,00	0,66	0,37	1,00
CSW1	6.5.2011	10	0,04	0,09	0,02	0,23	0,00	0,45	0,16	1,00
CSW1	6.5.2011	20	0,23	0,31	0,03	0,17	0,00	0,12	1,32	1,00
CSW3	6.5.2011	5	0,03	0,18	0,00	0,04	0,00	0,12	0,84	1,00
CSW3	6.5.2011	10	0,04	0,22	0,00	0,05	0,00	0,00	0,72	1,00
CSW3	6.5.2011	20	0,03	0,19	0,00	0,05	0,00	0,00	0,57	1,00
CSW4	6.5.2011	5	0,05	0,24	0,00	0,06	0,00	0,00	0,78	1,00
CSW4	6.5.2011	10	0,08	0,26	0,00	0,10	0,00	0,00	0,81	1,00
CSW4	6.5.2011	20	0,03	0,18	0,00	0,05	0,00	0,00	0,58	1,00

---

Pomoćna tablica 4. Hidrografski parametri, fekalni koliformi (FK), fekalni streptokoki (FS), heterotrofne bakterije (HB) i specifična ugradnja timidina (specTIM) u vodenom stupcu uvale Valdibora.

Postaja	Dubina	Datum	Temp	Sal	HB/l	FK/100ml	FS/100ml	sTDR(zmol/l/cell)
M0	0m	25.8.2014	23,11	31,18	5315330400	12800	6500	2,38
M0	5m	25.8.2014	24,09	35,84	2628224800	500	1000	1,91
M1	0m	25.8.2014	24,13	35,88	3338809000	1100	690	4,02
M1	5m	25.8.2014	24,13	35,96	600517250	340	60,00	5,89
K*	0m	25.8.2014	24,21	35,92	2481700000	190	380	12,63
K*	5m	25.8.2014	24,16	35,97	681200000	180	110,00	6,66
M2	0m	25.8.2014	24,42	36,00	1247871500	10	72	3,51
M2	5m	25.8.2014	24,16	35,98	613341667	10	17,00	7,33
VB	0m	25.8.2014	24,21	35,99	354623000	7	1	6,36
VB	5m	25.8.2014	24,13	35,99	263522462	5	1,00	22,89
K1	0m	25.8.2014	24,54	35,89	308815385	2	0	26,89
K1	5m	25.8.2014	24,15	35,97	241353929	2	0,00	27,60
G0	0m	25.8.2014	24,10	35,70	618917500	2700	2700	10,10
G0	5m	25.8.2014	24,10	36,01	456660750	200	100,00	9,59
G1	0m	25.8.2014	24,18	35,99	714821833	0	5	9,77
G1	5m	25.8.2014	24,15	36,01	343471333	6	0,00	6,60
G2	0m	25.8.2014	24,29	36,02	590719714	0	2	8,29
G2	5m	25.8.2014	24,16	36,03	673114600	0	0,00	9,42
B0	0m	25.8.2014	24,10	35,70	1003650000	9300	5200	13,44
B0	5m	25.8.2014	24,10	36,01	618917500	3200	4500,00	14,13
B1	0m	25.8.2014	24,33	36,03	631184333	59	127	20,20
B1	5m	25.8.2014	24,15	36,01	440769625	15	24,00	11,46
B2	0m	25.8.2014	24,36	36,04	579886667	54	46	16,89
B2	5m	25.8.2014	24,19	36,02	558220571	0	28,00	22,28
F	0m	25.8.2014	24,49	35,99	328500000	14	7	34,33
F	5m	25.8.2014	24,22	36,65	277676500	9	7	24,26
OB	0m	25.8.2014	24,20	35,81	351600000	2	2	5,14
BP	0m	25.8.2014	24,27	35,93	560100000	42	12	
BP	5m	25.8.2014	24,12	35,98	613200000	12	8,00	
FP	0m	25.8.2014	24,46	35,88	341600000	25	18	
FP	5m	25.8.2014	24,34	36,66	349200000	10	10,00	
M0	0m	26.2.2015	12,73	34,69	5680659000	7400	6900	0,76
M0	5m	26.2.2015	11,10	35,85	540059000	176	58	5,71
M1	0m	26.2.2015	11,22	36,87	442275100	145	362	6,62
M1	5m	26.2.2015	10,82	37,82	409489200	4	48	5,47
M2	0m	26.2.2015	10,74	37,84	439375670	2	42	8,01
M2	5m	26.2.2015	10,70	37,92	431569500	2	13	7,13

---

VB	0m	26.2.2015	10,23	37,29	408151000	2	38	10,39
VB	5m	26.2.2015	10,41	37,76	398114500	2	17	4,53
K1	0m	26.2.2015	10,62	37,76	374696000	1	12	7,53
K1	5m	26.2.2015	10,60	37,82	305961180	1	1	9,44
G0	0m	26.2.2015	10,00	37,24	460340800	1210	1130	7,03
G0	5m	26.2.2015	10,74	34,85	430231300	50	58	10,61
G1	0m	26.2.2015	10,40	37,20	416849300	180	33	11,13
G1	5m	26.2.2015	10,62	37,88	506285660	2	1	7,99
G2	0m	26.2.2015	10,41	37,89	336557300	1	47	13,80
G2	5m	26.2.2015	10,50	37,83	535280000	2	20	7,33
B0	0m	26.2.2015	11,31	35,45	1243187800	1700	1120	2,22
B0	5m	26.2.2015	11,24	36,85	1156204800	1420	1310	3,43
B1	0m	26.2.2015	10,93	37,62	710584200	10	180	2,04
B1	5m	26.2.2015	10,81	37,88	588808000	8	45	10,22
B2	0m	26.2.2015	10,71	37,86	360198830	3	29	10,40
B2	5m	26.2.2015	10,73	37,86	437424125	8	1	9,42
F	0m	26.2.2015	10,63	37,82	419023870	4	2	8,50
F	5m	26.2.2015	10,63	37,84	340571900	3	7	15,17
OB	0m	26.2.2015	10,31	37,83	337059120	1	2	9,60
BP	0m	26.2.2015	10,82	37,84	310020000	2	2	
BP	5m	26.2.2015	10,76	37,74	310200000	1	1	
FP	0m	26.2.2015	10,68	37,79	410000000	1	1	
FP	5m	26.2.2015	10,69	37,81	320100000	1	1	

---

Pomoćna tablica 5. Steroli i njihovi omjeri u površinskim sedimentima (0-5 cm) uvale Cuvi, Valdibore i južne luke, u dubljim sedimentima (5-10 cm) uvale Cuvi, u partikulatnom materijalu otpadnih voda prije (BRB) i nakon (ARB) obrade u sustavu za pročišćavanje (STP) „Cuvi“ i u partikulatu otpadnih voda tvornice za preradu ribe u Valdibori (FCD). Koncentracije u sedimentu su izražene u  $\mu\text{g/g dw}$  a za partikulatni material u  $\mu\text{g/L}$ . COP – koprostanol, eCOP – epikoprostanol, bONE – koprostanone, CHL – kolesterol, CHNOL – kolestanol, aONE – kolestanon, b-SIT – beta sitosterol,  $\Sigma$  – ukupni steroli, omjer stanola – (COP/COP+CHNOL), omjer stanona – (bONE/bONE+aONE).

Postaja	Sloj	COP	eCOP	bONE	CHL	CHNOL	aONE	b-SIT	$\Sigma$	COP/ $\Sigma$	COP/CHL	eCOP/COP	Omjer stanola	Omjer stanona
STP	BRB	1256,02	55,24	132,55	709,87	145,46	5,02	189,38	2956,43	0,43	1,77	0,04	0,90	0,96
	ARB	1162,16	53,03	130,70	632,26	138,28	0,00	157,20	2687,52	0,43	1,84	0,05	0,89	1,00
SE1	0-5	5,47	0,40	1,62	1,80	2,14	0,83	1,62	22,08	0,25	3,05	0,07	0,72	0,66
	5-10	0,69	0,15	0,22	0,47	0,89	0,16	0,48	4,77	0,15	1,48	0,22	0,44	0,57
SE3	0-5	3,60	0,34	0,97	1,73	1,76	0,59	0,57	13,19	0,27	2,08	0,09	0,67	0,62
	5-10	0,55	0,21	0,18	0,21	1,05	0,22	0,28	4,21	0,13	2,59	0,39	0,34	0,45
SE4	0-5	1,77	0,18	0,58	12,01	0,74	0,25	1,67	21,00	0,08	0,15	0,10	0,71	0,70
	5-10	0,21	0,15	0,12	0,62	0,37	0,17	2,57	5,68	0,04	0,34	0,73	0,36	0,41
SE5	0-5	0,95	0,23	0,39	2,91	0,44	0,21	1,14	8,46	0,11	0,33	0,25	0,68	0,65
	5-10	0,50	0,73	0,15	3,56	0,89	0,16	0,77	9,08	0,06	0,14	1,45	0,36	0,50
SE6	0-5	0,29	0,12	0,10	0,99	0,20	0,00	0,37	2,53	0,11	0,29	0,43	0,59	1,00
	5-10	0,07	0,15	0,11	0,16	0,28	0,03	0,17	1,19	0,06	0,44	2,11	0,20	0,79
SW1	0-5	7,58	0,90	2,09	4,76	2,43	0,87	3,90	32,68	0,23	1,59	0,12	0,76	0,71
	5-10	0,50	0,95	0,21	0,85	0,80	0,19	0,75	6,67	0,07	0,59	1,91	0,38	0,52
SW3	0-5	3,99	0,48	1,18	3,01	1,63	0,52	1,44	17,33	0,23	1,33	0,12	0,71	0,69
	5-10	0,82	0,31	0,25	0,51	0,77	0,18	0,36	4,76	0,17	1,60	0,38	0,52	0,58
SW4	0-5	0,87	0,36	0,28	0,87	0,38	0,19	0,41	5,00	0,17	1,00	0,41	0,70	0,60
	5-10	0,30	0,31	0,13	0,36	0,44	0,14	0,28	2,97	0,10	0,83	1,03	0,41	0,50
NE1	0-5	13,23	0,84	3,11	5,24	3,83	1,05	3,31	43,02	0,31	2,53	0,06	0,78	0,75
	5-10	0,80	0,13	0,02	0,56	0,36	0,04	0,24	2,52	0,32	1,43	0,70	0,69	0,33
NE3	0-5	2,83	0,25	0,76	0,94	0,82	0,27	0,51	9,13	0,31	3,01	0,09	0,78	0,74
	5-10	0,67	0,19	0,21	0,45	0,55	0,07	0,22	3,12	0,22	1,50	0,28	0,55	0,75
NE4	0-5	0,47	0,04	0,15	0,20	0,11	0,00	0,47	1,83	0,25	2,34	0,09	0,81	1,00
	5-10	0,18	0,04	0,22	0,24	0,44	0,05	0,99	3,06	0,06	0,74	0,06	0,29	0,81
NW1	0-5	39,28	2,22	11,10	8,73	10,83	3,16	4,31	111,95	0,35	4,50	0,06	0,78	0,78
	5-10	0,61	0,27	0,21	0,46	0,41	0,21	0,42	3,34	0,18	1,32	0,44	0,60	0,50
NW3	0-5	12,56	0,70	4,05	2,87	3,59	1,36	0,80	34,16	0,37	4,38	0,06	0,78	0,75
	5-10	1,08	0,18	0,36	0,33	0,77	0,30	0,37	5,64	0,19	3,32	0,17	0,58	0,54
NW4	0-5	4,64	1,42	1,45	1,89	1,77	0,75	0,61	15,65	0,30	2,46	0,31	0,72	0,66
	5-10	0,43	0,12	0,12	0,21	0,83	0,15	0,27	3,27	0,13	2,08	0,28	0,34	0,44
RV001	0-5	0,07	0,09	0,00	0,38	0,19	0,10	0,18	1,25	0,05	0,18	1,28	0,26	0,00
	5-10	0,02	0,07	0,00	0,12	0,11	0,02	0,15	0,64	0,04	0,18	3,23	0,17	0,00

FCD		2,16	5,30	10,56	1019,19	38,71	54,51	247,83	1542,70	0,001	0,002	2,45	0,05	0,16
M0	0-5	1,90	0,90	1,43	3,51	1,86	0,95	0,90	14,97	0,13	0,54	0,47	0,51	0,60
M1	0-5	3,70	1,08	3,39	12,17	3,49	1,87	2,36	36,90	0,10	0,30	0,29	0,51	0,64
M2	0-5	0,41	0,42	0,29	1,07	0,37	0,23	0,73	5,72	0,07	0,38	1,03	0,53	0,56
VB	0-5	0,10	0,38	0,00	0,79	0,17	0,00	0,43	3,79	0,04	0,13	3,75	0,37	0,00
B0	0-5	1,21	0,34	0,33	0,45	0,38	0,14	0,49	5,30	0,23	2,69	0,28	0,76	0,70
B1	0-5	0,20	0,25	0,03	0,37	0,14	0,03	0,58	2,58	0,08	0,53	1,27	0,58	0,48
B2	0-5	0,43	0,49	0,30	1,34	0,49	0,22	1,27	6,98	0,06	0,32	1,14	0,47	0,57
K1	0-5	0,12	0,28	0,09	0,69	0,17	0,06	0,42	3,23	0,04	0,18	2,25	0,42	0,57
FIG	0-5	0,10	0,24	0,00	0,30	0,14	0,00	0,43	2,33	0,04	0,33	2,48	0,42	0,00
G1	0-5	1,91	1,29	1,54	2,38	1,46	0,64	4,96	21,13	0,09	0,80	0,68	0,57	0,71
G2	0-5	0,32	0,55	0,40	0,67	0,41	0,17	1,15	6,31	0,05	0,47	1,75	0,44	0,71
L1	0-5	0,22	0,30	0,00	0,62	0,25	0,00	0,53	2,80	0,08	0,35	1,36	0,46	0,00
L2	0-5	0,63	0,35	0,23	1,23	0,43	0,00	2,08	6,41	0,10	0,51	0,57	0,59	1,00
L3	0-5	0,09	0,08	0,00	0,28	0,13	0,00	0,26	2,28	0,07	0,32	0,89	0,42	0,00

Pomoćna tablica 6. Sanitarna kvaliteta i granulometrijski sastav (%) površinskih sedimenata (0-5 cm) u uvali Cuvi, Valdibori i južnoj luci i dubljih (5-10 cm) sedimenta u uvali Cuvi: FG - sitni šljunak (4 – 8 mm), VFG - vrlo sitni šljunak (2 – 4 mm), VCSA - vrlo grubi pijesak (1 – 2 mm), CSA - grubi pijesak (0.5 – 1 mm), MSA - srednji pijesak (0.25 – 0.5 mm), FSA - sitni pijesak (0.125 – 0.25 mm), VFSA - vrlo sitni pijesak (0.063 – 0.125 mm), VCSI - vrlo grubi prah (0.032 – 0.063 mm), CSI - grubi prah (0.016 – 0.032 mm), MSI - srednji prah (0.008 – 0.016 mm), FSI - sitni prah (0.004 – 0.008 mm), VFSA - vrlo sitni prah (0.001 – 0.004 mm), CL - glina (< 0.001 mm). Tip sedimenta je definiran prema Folku (1954). Fekalni koliformi/100g sedimenta (FK) i Fekalni streptokoki/100g sedimenta (FS).

Postaja	Sloj	FG	VFG	VCSA	CSA	MSA	FSA	VFSA	VCSI	CSI	MSI	FSI	VFSA	CL	Tip sedimenta	FK	FS
SE1	0-5	0,00	0,25	0,40	0,65	1,00	3,30	9,83	20,39	26,35	13,42	6,78	6,12	11,51	(g)sM	2200	1300
	5-10	0,00	0,10	0,30	1,00	1,80	4,30	13,27	16,24	24,01	13,38	7,57	6,71	11,34	(g)sM	60	940
SE3	0-5	0,00	0,10	0,40	1,40	0,70	1,60	10,37	23,28	24,47	12,17	8,52	6,15	10,84	(g)sM	2200	1300
	5-10	0,00	0,70	0,40	1,20	1,10	4,50	17,18	24,12	22,73	9,50	6,52	4,25	7,80	(g)sM	90	270
SE4	0-5	0,00	0,10	0,40	1,10	0,90	2,10	13,88	23,93	22,95	10,10	7,26	6,06	11,24	(g)sM	310	330
	5-10	0,00	0,10	0,30	0,80	0,60	1,70	12,23	19,81	23,90	12,45	8,24	6,44	13,44	(g)sM	170	110
SE5	0-5	0,00	0,10	0,30	1,30	1,00	2,30	23,52	18,91	20,88	11,66	7,61	4,94	7,49	(g)sM	120	170
	5-10	0,00	4,00	0,20	0,90	0,70	3,50	13,21	18,74	21,56	11,74	7,07	6,04	12,35	(g)sM	60	110
SE6	0-5	3,30	6,30	12,30	10,85	7,50	9,15	14,42	14,71	7,95	3,68	3,04	2,76	4,04	gmS	70	80
	5-10	0,35	7,40	13,50	13,45	8,20	8,00	13,34	12,28	9,30	3,67	2,92	2,20	5,37	gmS	50	20
SW1	0-5	0,00	0,20	0,75	1,50	2,55	3,80	13,03	24,08	25,81	7,65	4,72	5,29	10,63	(g)sM	4900	1400
	5-10	0,00	0,20	0,55	0,55	0,75	2,00	8,41	22,51	24,86	12,30	8,09	6,44	13,34	(g)sM	40	0
SW3	0-5	0,00	0,50	0,60	0,70	0,60	1,80	13,03	19,74	21,96	12,40	9,50	6,74	12,43	(g)sM	1700	900

---

	5-10	0,30	0,25	0,60	0,75	1,35	6,85	10,83	20,02	21,60	10,18	6,65	6,60	14,03	(g)sM	900	140
SW4	0-5	0,25	0,65	0,65	0,90	1,10	2,20	11,76	22,97	21,08	10,55	7,82	7,02	13,03	(g)sM	1700	330
	5-10	0,00	0,20	0,60	0,65	1,00	3,55	10,42	19,47	23,05	13,42	8,37	6,30	12,97	(g)sM	140	0
NE1	0-5	0,00	0,40	0,50	3,80	2,10	4,50	21,97	23,36	17,93	7,55	6,12	3,96	7,80	(g)sM	5400	1200
	5-10	0,20	0,10	0,50	0,75	1,00	2,50	10,26	27,13	24,01	9,94	6,65	5,15	11,88	(g)sM	900	330
NE3	0-5	1,65	5,15	7,05	7,85	7,80	6,35	13,65	17,33	12,33	5,95	4,52	3,57	6,81	gM	1800	270
	5-10	0,85	6,55	9,00	9,55	8,25	6,80	13,13	11,41	12,67	6,20	3,53	4,45	7,59	gmS	330	50
NE4	0-5	0,65	5,75	21,40	18,70	13,65	8,25	8,41	5,13	5,44	3,72	2,93	2,37	3,60	gmS	700	110
	5-10	1,05	7,50	17,15	19,05	13,15	10,30	8,77	23,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	gmS	170	50
NW1	0-5	1,60	1,35	2,00	3,50	3,15	9,25	19,94	20,36	16,95	6,88	4,84	3,18	7,06	(g)sM	5400	1100
	5-10	0,30	0,50	0,65	0,95	1,25	2,90	11,32	28,08	24,48	9,61	5,56	4,25	10,20	(g)sM	230	80
NW3	0-5	0,00	0,30	0,20	0,50	0,70	2,90	17,96	14,63	22,88	13,65	9,41	6,71	10,15	(g)sM	2200	1100
	5-10	0,00	0,40	0,40	0,60	1,30	5,40	15,79	16,95	24,26	11,61	6,29	6,03	10,96	(g)sM	20	50
NW4	0-5	0,00	0,00	0,30	0,70	0,80	2,80	15,19	16,39	22,39	13,36	9,32	7,11	11,64	sM	1200	210
	5-10	0,00	0,20	0,40	0,60	1,50	3,40	14,20	17,64	24,13	13,46	6,56	5,38	12,54	(g)sM	70	110
VB	0-5	0,70	1,03	1,23	2,00	1,77	2,53	8,60	26,16	25,61	8,97	5,41	4,76	11,21	(g)mS	490	220
B0	0-5	2,14	3,56	15,46	27,44	27,90	13,00	3,30	2,11	1,49	0,76	0,64	0,80	1,39	gS	3500	1400
B1	0-5	1,82	2,40	19,18	32,56	14,42	11,30	6,83	4,37	2,86	1,15	0,92	0,87	1,32	(g)mS	500	600
B2	0-5	0,00	0,70	0,87	1,50	2,23	4,03	13,02	25,08	23,78	9,11	6,42	4,18	9,07	(g)sM	170	220
G1	0-5	5,28	5,74	7,44	7,60	9,16	22,42	18,15	9,47	5,86	2,56	1,95	1,68	2,68	gmS	330	210
G2	0-5	0,00	0,40	0,80	1,43	2,93	3,07	12,21	21,21	25,35	9,81	6,39	5,21	11,18	(g)sM	260	170
K1	0-5	2,60	5,71	17,96	43,04	16,47	3,49	1,69	1,41	1,63	1,17	1,24	1,26	2,32	gS	350	300
M0	0-5	7,29	6,49	27,63	29,39	11,81	7,47	2,33	1,10	1,65	1,09	0,92	0,78	2,05	gS	5400	2800
M1	0-5	2,37	1,37	3,57	6,43	9,40	18,37	31,71	12,27	6,13	2,38	1,89	1,49	2,63	(g)mS	700	2200
M2	0-5	3,23	1,37	3,97	5,30	4,60	5,27	15,79	27,88	17,16	4,56	2,47	2,47	5,95	(g)sM	500	340
L1	0-5	3,16	1,10	14,90	31,32	20,50	14,72	3,67	2,24	1,82	1,20	1,20	2,72	1,47	(g)mS	1700	220
L2	0-5	3,04	3,48	10,00	10,78	16,44	36,42	10,19	2,95	1,71	0,92	0,88	0,92	2,27	gmS	1100	130
L3	0-5	2,07	1,90	7,30	9,17	7,37	11,40	28,47	14,90	5,88	2,46	2,14	2,26	4,70	(g)mS	340	130

---

---

## 11. Životopis

Paolo Paliaga rođen je 23. ožujka 1980. u Puli. Osnovnu školu i prve dvije godine gimnazije pohađao je u Rovinju. Zadnje dvije godine srednje škole završio je u Duinu (Italija) na međunarodnoj školi "United World College of the Adriatic" gdje je stekao međunarodnu maturu. Diplomirao je znanosti o okolišu na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Trstu 2006. s diplomskim radom "Radon u vodama istarske županije i regije Friuli Venezia Giulia". Zaposlen je kao stručni suradnik od listopada 2008. do prosinca 2010. u Centru za Istraživanje mora Instituta Ruđer Bošković u Rovinju. Od siječnja 2011. prelazi u status znanstvenog novaka u laboratoriju za morsku mikrobnu ekologiju pod mentorstvom dr.sc. Mirjane Najdek Dragić i dr.sc. Dragice Fuks.

Pohađao je razne međunarodne škole i radionice poput "Međunarodne škole konzervacijske biologije" (Rovinj, 2012.) i "Petog međunarodnog tečaja mikrobne ekologije" (Venecija, 2014). Održao je predavanja pod naslovom "Uzorkovanje i motrenje bakterija, flagelata i cijanobakterija u moru" u sklopu zajedničke ljetne škole *BlueGenics & CoreShell* (Rovinj, 2014.). Od 2009. održava vježbe iz kolegija Mikrobiologija na preddiplomskim studiju Znanosti o moru pulskog sveučilišta.

Sudjelovao je na nekoliko domaćih i međunarodnih projekata. Od 2008. do 2009. radio je na projektu implementacije monitoringa kvalitete mora u istarskom zapadnom priobalju (projekt WICOS). Od 2008. do 2013. sudjelovao je na projektu "Struktura i fiziologija bakterijske zajednice u frontalnim zonama sjevernog Jadrana". Bio je sudionik na projektu "Raznolikost i funkcija pikoplanktona duž trofičkih gradijenata u Sjevernom Jadranu" od 2010. do 2011. Tijekom 2011. i 2012. bio je uključen u bilateralnom znanstvenom projektu s Institutom za morsku biologiju iz Kotora (Crna Gora) pod nazivom "Molekularna i fiziološka bakterijska raznolikost trofičkih gradijenta jadranskog mora". Od 2011. do 2014. sudjelovao je na projektu hrvatske zaklade za znanost "Bioraznolikost i biotehnoška karakterizacija bakterija jadranskog mora" (projekt BABS). Tijekom 2013. i 2014. radio je na stručnom projektu "Preliminarna studija utjecaja fekalnog zagađenja i organske tvari iz otpadnih voda na rovinjski akvatorij: podmorski ispust Cuvi u Rovinju". Od studenog 2014. vodi stručni projekt u suradnji sa Hrvatskim Vodama pod nazivom "Utjecaj otpadnih voda grada Rovinja i tvornice za preradu ribe "Mirna" na akvatorij sjeverne luke Rovinja".

Glavna područja interesa su mu ekologija morskih bakterija i proučavanje utjecaja fekalnog onečišćenja na morski ekosustav.

---

### 11.1. Popis objavljenih znanstvenih radova u cc časopisima

1. Najdek, Mirjana; Paliaga, Paolo; Šilović, Tina; Batistić, Mirna; Garić, Rade; Supić, Nastjenjka; Ivančić, Ingrid; Ljubimir, Stijepo; Korlević, Marino; Jasprica, Nenad; Hrustić, Enis; Dupčić Radić, Iris; Blažina, Maria; Orlić, Sandi.

Picoplankton community structure before, during and after convection event in the offshore waters of the southern Adriatic Sea. // *Biogeosciences*. 11 (2014) ; 2645-2659 (članak, znanstveni).

2. Gašparović, Blaženka; Godrijan, Jelena; Frka, Sanja; Tomažić, Igor; Penezić, Abra; Marić, Daniela; Djakovac, Tamara; Ivančić, Ingrid; Paliaga, Paolo; Lyons, Daniel; Precali, Robert; Tepić, Nataša.

Adaptation of marine plankton to environmental stress by glycolipid accumulation. // *Marine environmental research*. 92 (2013) ; 120-132 (članak, znanstveni).

3. Orlić, Sandi; Najdek, Mirjana; Supić, Nastjenjka; Ivančić, Ingrid; Fuks, Dragica; Blažina, Maria; Šilović, Tina; Paliaga, Paolo; Godrijan, Jelena; Marić, Daniela.

Structure and variability of microbial community at transect crossing a double gyre structure (north-eastern Adriatic Sea). // *Aquatic microbial ecology*. 69 (2013) ; 193-203 (članak, znanstveni).

4. Fuks, Dragica; Ivančić, Ingrid; Najdek, Mirjana; Lučić, Davor; Njire, Jakica; Godrijan, Jelena; Marić, Daniela; Šilović, Tina; Paliaga, Paolo; Blažina, Maria; Precali, Robert; Orlić, Sandi.

Changes in the planktonic community structure related to trophic conditions: the case study of the northern Adriatic Sea. // *Journal of marine systems*. 96/97 (2012) ; 95-102 (članak, znanstveni).

5. Ivančić, Ingrid; Fuks, Dragica; Najdek, Mirjana; Blažina, Maria; Devescovi, Massimo; Šilović, Tina; Paliaga, Paolo; Orlić, Sandi.

Long-term changes in heterotrophic prokaryotes abundance and growth characteristics in the northern Adriatic Sea. // *Journal of marine systems*. 82 (2010) , 4; 206-216 (članak, znanstveni).

### 11.2. Popis objavljenih znanstvenih radova u drugim časopisima

1. Najdek, Mirjana; Iveša, Ljiljana; Paliaga, Paolo; Blažina, Maria; Čelig, Ana.

Changes in the fatty acid composition of *Fucus virsoides* J. Agardh in response to the type of substratum. // *Acta Adriatica*. 55 (2014) , 1; 19-30 (članak, znanstveni).

2. Marković, Sandra; Paliaga, Paolo; Kljajić, Zoran; Najdek-Dragić, Mirjana; Orlić, Sandi.

Identification and quantification of microbial community by CARD-FISH method in Boka Kotorska Bay. // *Studia marina*. 26 (2013) , 1; 83-98 (članak, znanstveni).

---

### **11.3. Popis sažetaka u zbornicima skupova**

1. Korlević, Marino; Ionescu, Danny; Paliaga, Paolo; Šilović, Tina; Amann, Rudolf; Najdek, Mirjana; Orlić, Sandi. Deep Ocean microbial communities in the South Adriatic Pit // *14th International Symposium on Microbial Ecology, The Power of the Small - The Book of Abstracts*. Copenhagen, 2012. (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni).

### **11.4. Popis neobjavljenih sudjelovanja u zbornicima skupova**

1. Paliaga, Paolo; Šilović, Tina; Mikac, Barbara; Ušić, Ugo; Nerlović, Vedrana; Borčić, Adriana. Utjecaj otpadnih voda na bentoske zajednice - od mikro- do makroorganizama // . (poster, neobjavljeni rad, znanstveni).

2. Šilović, Tina; Paliaga, Paolo; Matošević, Ksenija. Utjecaj otpadnih voda na bakterijske zajednice u vodenom stupcu // . (poster, neobjavljeni rad, znanstveni).