



INSTITUT RUĐER BOŠKOVIĆ

STUDIJA UTJECAJA OTPADNIH VODA GRADA ROVINJA I TVORNICE ZA
PRERADU RIBE "MIRNA" NA AKVATORIJ SJEVERNE LUKE ROVINJA (UVALA
VALDIBORA)

HRVATSKE VODE

2015.

Naručitelj: HRVATSKE VODE
pravna osoba za upravljanje vodama
Ulica grada Vukovara 220, 10000 ZAGREB

Izvršitelj: INSTITUT RUĐER BOŠKOVIĆ
Centar za Istraživanje Mora
G. Paliaga 5, 52210 Rovinj

Broj ugovora: 15-002/14 Klasa: 325-01/14-10/128 Urbroj:374-1-7-14-5.

Naslov: STUDIJA UTJECAJA OTPADNIH VODA GRADA ROVINJA I TVORNICE ZA PRERADU RIBE "MIRNA" NA AKVATORIJ SJEVERNE LUKE ROVINJA (UVALA VALDIBORA)

Voditelj studije: dr. sc. Paolo Paliaga, dipl. ing. znanosti o okolišu., znanstveni novak

Autori:

Dr.sc.Paolo Paliaga, dipl. ing. znanosti o okolišu, asistent znanstveni novak

Dr. sc. Mirjana Najdek Dragić, dipl. ing. kemije, znanstvena savjetnica

Dr. sc. Ingrid Ivančić, dipl. ing. kemije, viša znanstvena suradnica

Dr.sc. Liljana Iveša, dipl. ing. biol, znanstvena suradnica

Igor Felja, dipl. ing, geol. asistent znanstveni novak

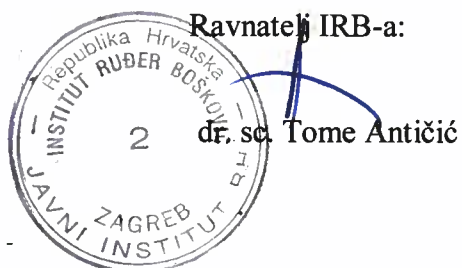
Ugo Ušić, mag. biol. asistent znanstveni novak

Ksenija Matošević, dipl. ing. kemije, stručna suradnica

Voditelj studije:


dr. sc. Paolo Paliaga

Ravnatelj IRB-a:



Predstojnik CIM-a:

dr.sc. Renato Batel



U Rovinju, 27. listopada 2015.

Sadržaj

Sažetak istraživanja.....	4
1. Uvod.....	5
2. Metodika rada	7
2.1. Lokacije i termini mjerenja	7
2.2. Parametri istraživanja i metode	9
3. Analiza rezultata	16
3.1. Opći hidrografski uvjeti	16
3.2. Sanitarna kvaliteta mora	20
3.3. Enzimatske aktivnosti i organska tvar u vodenom stupcu	23
3.4. Mikrobna zajednica u vodenom stupcu	30
3.4.1. Heterotrofne bakterije	30
3.4.2. Bakterijska proizvodnja	32
3.4.3. Cijanobakterije	35
3.4.4. Heterotrofni nanoflagelati	37
3.5. Granulometrijski sastav i redoks potencijal sedimenta	39
3.6. Organska tvar u sedimentu	40
3.7. Steroli u sedimentu.....	42
3.8. Sanitarna kvaliteta sedimenta	46
3.9. Ekološko stanje priobalja u Uvali Valdibora na osnovi biološkog elementa kvalitete makroalge	47
4. Zaključci i preporuke	50
4.1. Smjerovi širenja i doseg fekalnog onečišćenja.....	50
4.2. Procjene rizika ispuštanja otpadnih voda za ljudsko zdravlje	51
4.3. Utjecaj opterećenja organskom tvari na ekosustav mora	51
4.4. Ekološko stanje prema CARLIT metodi.....	52
4.5. Preporuke naručitelju za daljnje postupanje.....	52
5. Popis literature	54
6. Aneks.....	58

Sažetak istraživanja

U ovoj studiji procijenjen je utjecaj gradskih i industrijskih otpadnih voda na akvatorij sjeverne luke grada Rovinja. U tu svrhu provedena je sanitarna kontrola mora, karakterizacija organske tvari i brzina njene razgradnje, kao i procjena trofičkog stanja i distribucija makroalgi na području cijele uvale Valdibora. Uzorkovanja vodenog stupca provedena su jednom zimi i jednom ljeti, dok je sediment analiziran jednokratno na mreži od 16 postaja. Stanje na području pod utjecajem otpadnih voda uspoređeno je s prirodnim uvjetima u akvatoriju Rovinja na osnovu dugoročnih mjerenja na referentnoj postaji koja nije bila pod direktnim utjecajem gradskog onečišćenja.

U djelu uvale Valdibora izloženom utjecaju ispusta tvornice za preradu ribe razine fekalnog onečišćenja bile su usporedive s onima oko glavnog kanalizacijskog ispusta grada Rovinja, unatoč deset puta manjoj količini ispuštenih otpadnih voda. Sanitarna kvaliteta mora je također bila nezadovoljavajuća kraj ispusta bolničkog naselja i povremeno kraj gradske tržnice.

U uvalu zabilježena je velika količina partikulatnog i otopljenog organskog materijala koji je značajno utjecao na brojnost i aktivnost mikrobne zajednice na tom području. Brojnost heterotrofnih bakterija u krugu od 120 m oko ispusta prelazila je granice prirodnih varijacija za rovinjsko priobalno more dok su cijanobakterije i heterotrofni nanoflagelati imali relativno nisku brojnost. Brzina dijeljenja bakterijskih stanica i proizvodnja proteina bila je izrazito niska. S druge strane enzimatska aktivnost mikrobne zajednice bila je izrazito visoka, ali ipak nedovoljno brza da razgradi unesenu organsku tvar. Stoga dolazi do značajnog taloženja organske tvari na morskome dnu s posljedicom stvaranja izraženih anoksičnih uvjeta u sedimentu koji pogoduju preživljavanju fekalnih bakterija i dijagenetskom procesu nastanka koprostanola iz kolesterola. Ukupno stanje okoliša uvale Valdibora, prema CARLIT metodi (baziranoj na zajednicama makroalgi) procijenjeno je kao dobro.

1. Uvod

Priobalna područja izložena su velikom broju utjecaja, kako prirodnih tako i antropogenih. Na području Jadrana je, kao i na cijelom Mediteranu, u posljednjim desetljećima deterioracija priobalnog mora ljudskom djelatnošću postala značajan problem zbog rastuće urbanizacije koja je dovela do unosa zagađivala i opterećenja okoliša organskom tvari. Otpadne vode donose u more razne tvari poput: pesticida, deterdženata, teških metala, suspendiranih čestica, hranjivih soli i veliku količinu fekalnih mikroorganizma ljudskog i životinjskog porijekla (Gonzalez-Fernandez i sur., 2010). Unosom patogena u morsku okolinu povećava se mogućnost širenja infekcija i bolesti direktno kroz morsku vodu i sediment ili indirektno kroz prehrambeni lanac. Također, onečišćenje otpadnim vodama narušava gospodarsko-estetsku vrijednost onečišćenog područja i ugrožava morski ekosustav. Otpadne vode koje su inače bogate organskim i anorganskim tvarima mogu uzrokovati promjene u veličini, strukturi, proizvodnji i funkciji autotrofne i heterotrofne mikrobne zajednice prihvatnog mora i na taj način poremetiti funkcioniranje cijelog morskog priobalnog ekosustava (Cavari i Colwell, 1988).

Osim mikrobiološkog onečišćenja, unos prekomjerne količine organske tvari (OM) može značajno utjecati na morski okoliš i voditi do povećanja produktivnosti te modificirati odnose unutar prehrambenog lanca (McLusky i Elliott, 2004). Zbog toga je od velike važnosti poznavanje efikasnosti razgradnje i recikliranja organske tvari. Biološko recikliranje organske tvari započinje njezinim korištenjem i razgradnjom od strane mikroorganizama. U morskim ekosustavima je veliki dio OM podložan bakterijskoj razgradnji, ali zbog kompleksnog sastava/prevelikih molekula bakterije je ne mogu izravno koristiti. Stoga prvo dolazi do razgradnje makromolekula pomoću enzima smještenih na vanjskoj opni stanice mikroorganizama (izvanstanični ili ekstracelularni enzimi). Izvanstanična razgradnja organskih polimera temeljni je prvi korak u korištenju organske tvari, te je važno poznavati kinetiku kao i sastav enzima koji u tome sudjeluju. Vrijeme enzimatske razgradnje smatra se mjerom recikliranja i dostupnosti organske tvari za potrebe heterotrofnih mikroorganizama (Manini i sur., 2003; Caruso i sur., 2005), te daljnji prijenos kroz trofički lanac. Također govori nam i o sposobnosti promatranog ekosustava da apsorbira unesenu tvar. Poznavanje tih procesa ključno je jer kontrolira potrošnju kisika i regeneraciju hranjivih soli (Goñi i sur., 2003), procesa koji izravno utječu na pojave kao što su eutrofikacija i promjene u sastavu životnih zajednica u plitkim priobalnim područjima (Boyes i Elliott, 2006).

Za priobalne gradove kao što su Rovinj, gdje je turizam jedna od najvažnijih ekonomskih djelatnosti, očuvanje visoke kvalitete priobalnog mora jedan od strateških temelja razvoja. Sjeverna luka grada (Uvala Valdibora) izložena je ispuštanju gradskih i industrijskih kanalizacijskih voda. Neugodni mirisi i vidljiva prisutnost onečišćenja česta su pojava pogotovo na jugoistoku uvale pokraj glavnog gradskog parkirališta gdje se ispuštaju otpadne vode tvornice za preradu ribe i na obalnom potezu kraj gradske tržnice. Dodatno, direktno ispuštanje kanalizacijskih voda iz bolničkog naselja na sjevernoj strani uvale unutar obalnog pojasa predviđeno za kupanje i rekreaciju predstavlja ozbiljan rizik za zdravlje kupaca. Prema tome od temeljne je važnosti procijeniti stanje okoliša u cijeloj uvali kako bi se na osnovu dobivenih podataka mogle što racionalnije poduzeti adekvatne mjere očuvanja kvalitete okoliša što uključuje osiguranje sanitarnih uvjeta.

2. Metodika rada

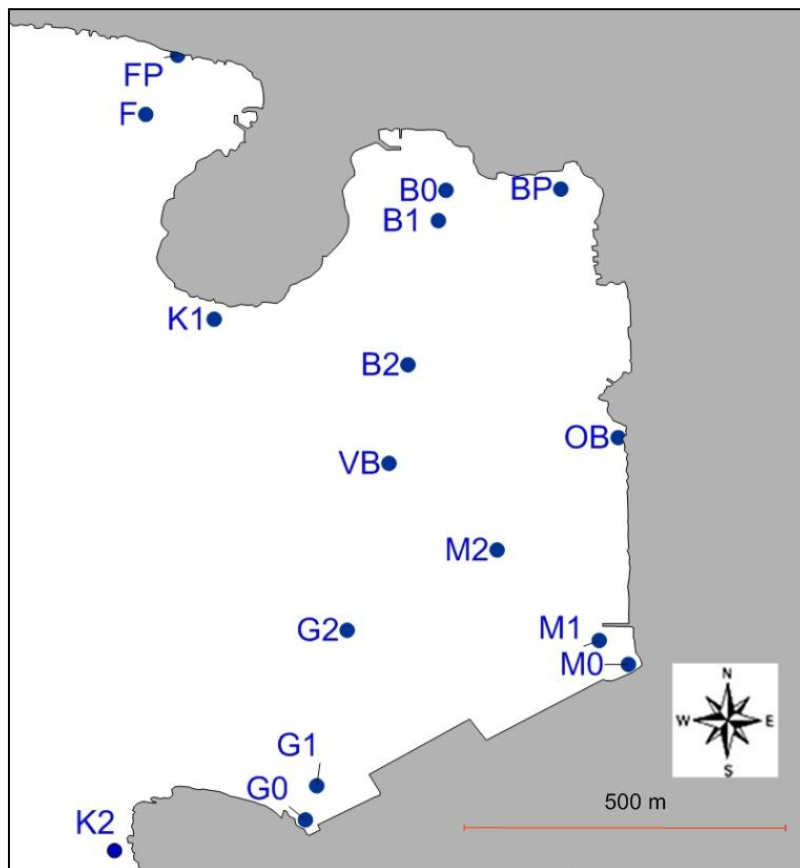
2.1. Lokacije i termini mjerenja

Uvala Valdibora smještena na sjevernoj strani grada Rovinja, proteže se od starogradske jezgre do ortopedske bolnice "Martin Horvat". Površina uvale iznosi oko 1,3 km² a dubine se kreću između 10 m i 18 m u većem dijelu uvale. Morsko dno je relativno homogeno, sastavljeno uglavnom od pijeska i mulja, 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 m³/mesečno) 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 m³ 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 1. Područje istraživanja s označenim ispuštima otpadnih i oborinskih voda

U uvali Valdibora uzorci vode su prikupljeni tijekom veljače i srpnja 2015. godine na dvije dubine (0 m i 5 m), dok su uzorci sedimenta prikupljeni jednokratno u studenom 2014. Mapiranje makroalgi provedeno je jednokratno duž cijele obale istraženog područja krajem listopada 2014. Uzorkovanje je provedeno na 16 lokacija smještenih kod kanalizacijskih (G0 i B0) i industrijskog ispusta (M0), te na udaljenostima od 50 m (G1, B1 i M1) i 300 m (G2, B2, M2) od ispusta u smjeru sredine uvale. Dodatno su prikupljeni uzorci sa postaje K1 i K2 koje su služile kao kontrole, sa postaje OB (samo na 0 m) gdje se slijevaju oborinske vode, u uvali Valdalisio (F i FP), kraj plaže bolničkog naselja (BP) i u sredini uvale (postaja VB). Za analizu sanitarne kvalitete mora prikupljeni su i uzorci vode na plažama kraj bolničkog naselja (BP) i u uvali Valdalisio (FP).



Slika 2. Područje istraživanja s označenim postajama uzorkovanja tijekom 2014.-2015. godine.

2.2. Parametri istraživanja i metode

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 liofilizirani. Krstarenja su obavljena istraživačkom brodicom "Burin".

Osnovni hidrografski uvjeti

Temperatura, salinitet i kisik određeni su koristeći CTD (engl. Conductivity, Temperature, Depth) sondu (SeaBird Electronic SBE 25).

Otopljeni organski ugljik (DOC)

Uzorci su filtrirani su kroz Whatman GF/F filtre (promjer pora 0.7 μm) žarene na 400 °C i konzervirani do mjerenja dodatkom HgCl_2 (0.1ml koncentracije 2g l⁻¹ u 22 ml filtrata). Analize su provedene unutar mjesec dana od uzimanja uzoraka. DOC je određen pomoću TOC-VCPH (Shimadzu) carbon analyzer-a s platinskim i silicijevim katalizatorom, uz nedisperzivni infracrveni (NDIR) detektor za određivanje CO_2 .

Partikulatni organski ugljik (POC)

Za određivanje partikulatne organske tvari filtrirana je 1 l uzorka na žarenim Whatman GF/F filtrima koji su do analize čuvani na -80°C. POC je određen pomoću čvrstog modula SSM-5000A priključenog na Shimadzu TOC-VCPH carbon analyzer, kalibriranog s glukozom.

Sadržaj organske tvari u sedimentu

Za određivanje količine organske tvari u sedimentu korištena je metoda žarenja (Robertson, 2011). Liofilizirani suhi sedimenti su precizno izvagani, premješteni u porculanske lončice te žareni 16 sati u mufolnoj peći na temperaturi od 375 °C. Nakon žarenja sedimenti su ponovno izvagani te je iz razlike u težini prije i poslije žarenja izračunat postotak organske tvari u svakom uzorku.

Granulometrijski sastav sedimenta

Analiza granulometrijskog sastava sedimenta određena je 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) prema standardnoj proceduri (Micromeritics, 2002). Podaci dobiveni jednom i drugom tehnikom su spojeni kako bi se dobio kontinuirani raspon veličine zrna. Sedimenti su klasificirani prema Folku (1954) temeljem omjera udjela šljunkovite, pjeskovite i muljevite frakcije.

Redoks potencijal u sedimentu

Redoks potencijal izmjeren je odmah na brodu nakon uzorkovanja pomoću Pt i ArgentanTM (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 tehnikom vertikalnog umetanja elektrode izmjerenjen redox potencijal za svaki centimetar u stupcu sedimenta do dubine od 10 cm (Hinchey i Schaffner, 2005).

Analiza sterola u sedimentu

Za analizu sterola korišteni su slijedeći standardi: koprostanol (COP, 5 β -cholestan-3 β -ol), epikoprostanol (eCOP, 5 β -cholestan-3 α -ol), kolesterol (CHL, Cholest-5-en-3 β -ol), kolestanol (DCHL, 3 β -hydroxy-5 α -cholestane), stigmasterol (SROL, 3 β -hydroxy-24-ethyl-5,22-cholestadiene), β -sitosterol (b-SIT, 24 β -Ethylcholesterol), stigmastanol (SNOL, 24 α -ethyl-5 α -cholestan-3 β -ol), 5 α -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 μ m, 47 mm) koji sadrže suspendirani partikulat, stavljeni su u staklene epruvete od 50 ml s dodatkom kloro-oktadekana i 5 α 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°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×0.25 mm×0.25 µm; 5% Phenyl – 95% Dimethylpolysiloxane). Kao plin nosilac korišten je helij 6.0. Postavke plinskog kromatografa za sterole su bile: početna temperatura - 150 °C (1 minuta), brzina zagrijavanja - 20 °C/minuti, konačna temperatura - 310 °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.

Sanitarna kakvoća 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 µm, 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°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 °C. Filtri na kojima su bile vidljive crvene kolonije premješteni su u petrijevke s hranjivom podlogom bile aesculin agar za potvrdno testiranje. Podloge s filtrima inkubirane su 2 sata na temperaturi od 44,5 °C. Kolonije koje su poprimile tamnu boju ili 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.

Brojnosti heterotrofnih bakterija, cijanobakterija i nanoflagelata

Uzorci volumena 20 ml fiksirani su formaldehidom (konačna konc. 2% v/v) i čuvani u hladnjaku do daljnje obrade. Za brojanje bakterija poduzorci volumena 2ml obojeni su s 4',6'-

diamino-2fenilindolom (DAPI, Sigma) u konačnoj koncentraciji 5 µg/ml (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). Za bojanje nanoflagelata i cijanobakterija poduzorci volumena 5-10 ml obojeni su na isti način kao za bakterije i filtrirani na crnim polikarbonatnim filtrima (Whatman, Nuclepore, 0.4 µm, 25 mm). Na epifluorescentnom mikroskopu stanice zadržane na filtru izbrojane su koristeći UV svjetlo za nanoflagelate i zeleno svjetlo za cijanobakterije.

Ukupna prokariotska proizvodnja

U tubice volumena 2 ml u kojima je 3H-označeni timidin (specifične aktivnosti ~80 Ci mmol⁻¹, konačne koncentracije 10 nM) ili 3H-označeni leucin (specifične aktivnosti >140 Ci mmol⁻¹, 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% trikloroctene 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 mjeren je u replikatu uz jednu slijepu probu u koju je dodana TCA prije inkubacije. Proizvodnja bakterija izražena je kao ukupna u pmol l⁻¹ h⁻¹ i specifična po bakterijskoj stanici zmol cell⁻¹ h⁻¹.

Enzimatske aktivnosti

Enzimatske aktivnosti određivane su fluorimetrijski pomoću fluorogenih supstrata pri koncentracijama zasićenja prema metodama Hoppe (1983) i Hoppe i sur. (1988). Prije određivanja uzorci su profiltrirani kroz mrežicu od 200 µm da bi se uklonio zooplankton i onemogućila predacija fitoplanktona i bakterija. Za određivanje **aktivnosti alkalne fosfataze** (APA; razgrađuje organske fosforne spojeve) korišten je metilumbeliferil fosfat završne koncentracije u uzorku 50 µmol l⁻¹. **Aktivnosti α-D i β-D glukozidaze** (α- i β- GLU; razgrađuju polisaharide) određivane su pomoću 4-metilumbeliferil-α -D-glukozid i 4-metilumbeliferil -β -D-glukozid završne koncentracije 25 µmol l⁻¹. **Aktivnosti aminopeptidaze** (AMA; razgrađuje proteine) određivane su pomoću L-leucin-4-

metilkumarinil-7-amid završne koncentracije $250 \mu\text{mol l}^{-1}$. Za određivanje APA i α - i β - GLU korištena je ekscitacija od 365 nm i emisija na 460 nm, dok je za AMA korištena ekscitacija od 380 nm i emisija na 440 nm. Enzimatske aktivnosti su određivane odmah nakon prikupljanja uzoraka. Uzorci su nakon dodatka supstrata inkubirani (oko 1 h) u mraku na *in situ* temperaturi i pH. Za izračunavanje **vremena razgradnje** organske tvari, enzimatske aktivnosti mjerene su na 6-8 koncentracija supstrata ($0.5-50 \mu\text{mol l}^{-1}$ za APA; $0.5-25 \mu\text{mol l}^{-1}$ za α - i β - GLU, te $1-250 \mu\text{mol l}^{-1}$ za AMA). Polusaturacijska konstanta (K_m) i maksimalna aktivnost (V_{max}) za pojedine enzime izračunati su Lineweaver–Burk-ovom linearizacijom Michaelis Menten-ove krivulje. Vrijeme razgradnje (turnover time; T) izračunato je kao K_m / V_{max} (Labry et al. 2005).

CARLIT metoda

CARLIT metoda se zasniva na pregledavanju i bilježenju pojave i brojnosti dominantnih zajednica makroalgi u gornjem infralitoralu hridinastog obalnog pojasa iz gumene brodice (Ballesteros i sur., 2007; Asnaghi i sur., 2009). Zajednice makroalgi (Tablica 2) i geomorfološki čimbenici obrađenih sektora obale (Tablica 3), direktno se ucrtavaju u grafički prikaz – kartu (nautičke, zračne ili satelitske snimke). Grafički prikaz mora biti u mjerilu koje omogućuje lako snalaženje u prostoru na terenu i bilježenje zajednica te geomorfoloških čimbenika (mjerilo karte 1:10000 ili 1:5000).

CARLIT metoda je do sada uspješno primijenjena u Kataloniji (Španjolska), gdje se koristi već od 2001. godine. U Italiji se koristi od 2004. godine, u Francuskoj od 2006. godine i u Hrvatskoj od 2009. godine. Prva preliminarna istraživanja CARLIT metode u istarskom priobalju su provedena tijekom proljeća 2011. (travanj, svibanj i lipanj mjesec), u vrijeme maksimuma vegetacije makroalgi, uz zapadnu obalu Istre i to u priobalju Umaga, Novigrada, Poreča, Limskog kanala, Rovinja, Barbarige, Fažane, Nacionalnog parka Brijuni i u pulskoj luci. Od 2012 do 2015. godine kartiranje zajednica makroalgi je nastavljeno na širem području zapadne i istočne obale Istre.

Rezultati primjene CARLIT metode izraženi su u obliku EQR (Ecological quality ratio) vrijednosti (Tablica 1) prema sljedećoj formuli:

$$EQR = \frac{\sum \frac{EQ_{ssi} \times l_i}{EQ_{rsi}}}{\sum l_i}$$

gdje je:






i – geomorfološki relevantna situacija (GRS)

EQ_{ssi} – ekološka kvaliteta (EQ) za situaciju i

EQ_{rsi} – ekološka kvaliteta (EQ) u referentnom području za situaciju i

l_i – duljina obale za situaciju i

Tablica 1. Naziv, raspon i boja za označavanje razreda ekološkog stanja za primjenu CARLIT indeksa.

Ekološko stanje	EQR	Boja
Vrlo dobro	> 0,75 – 1	
Dobro	> 0,60 – 0,75	
Umjereno	> 0,40 – 0,60	
Loše	> 0,25 – 0,40	
Vrlo loše	0 – 0,25	

Tablica 2. Popis i opis zajednica makroalgi i njihovih razina osjetljivosti (SL – Sensitivity Level).

Zajednica	Opis zajednice	Razina osjetljivosti (SL)
Cystoseira spicata 3	Neprekidan pojas vrste <i>Cystoseira amentacea</i> var. <i>spicata</i>	20
Cystoseira crinitophylla	Populacije vrste <i>Cystoseira crinitophylla</i>	20
Cystoseira crinita	Populacije vrste <i>Cystoseira crinita</i>	20
Cystoseira corniculata	Populacije vrste <i>Cystoseira corniculata</i>	20
Cystoseira foeniculacea	Populacije vrste <i>Cystoseira foeniculacea</i>	20
Trotoar	Organogene tvorbe vrste <i>Lithophyllum byssoides</i> i drugih koralinskih algi (trotoar)	20
Cystoseira barbata	Populacije vrste <i>Cystoseira barbata</i> bez drugih svojti roda <i>Cystoseira</i>	16
Cystoseira spicata 2	Nakupine vrste <i>Cystoseira amentacea</i> var. <i>spicata</i>	15
Cystoseira compressa	Populacije vrste <i>Cystoseira compressa</i> bez drugih svojti roda <i>Cystoseira</i>	12
Cystoseira spicata 1	Rijetki pojedinačni talusi vrste <i>Cystoseira amentacea</i> var. <i>spicata</i>	10
Fotofilne alge	Zajednica fotofilnih algi uz prevladavanje rodova <i>Padina/Dictyota/Dictyopteris/Taonia/Halopteris</i>	10
Corallina	Zajednica u kojoj prevladavaju vrste <i>Corallina elongata</i> i/ili <i>Haliptilon virgatum</i>	8
Mytilus	Zajednica u kojoj prevladava vrsta <i>Mytilus galloprovincialis</i>	6
Zelene alge	Zajednica u kojoj prevladavaju svojte rodova <i>Ulva/Enteromorpha/Cladophora</i>	3
Cijanobakterije	Pojas cijanobakterija	1

Tablica 3. Popis geomorfoloških čimbenika i njihovih kategorija.

Geomorfološki čimbenik	Kategorija
Morfologija obale	visoka obala niska obala blokovi
Podloga	vapnenac, breča, pješčenjak metamorfna stijena, dolomit
Nagib	horizontalni: 0-30° subvertikalni: 30-60° vertikalni: 60-90° Prevjes
Orijentacija obale	Sjever, sjeveroistok, istok, jugoistok jug, jugozapad, zapad, sjeverozapad
Tip obale	Prirodna Umjetna
Struktura podloge	Hrapava Glatka
Izloženost (udaljenost prema najbližoj obali)	0 - 500 m 500 – 1000 m >1000 m

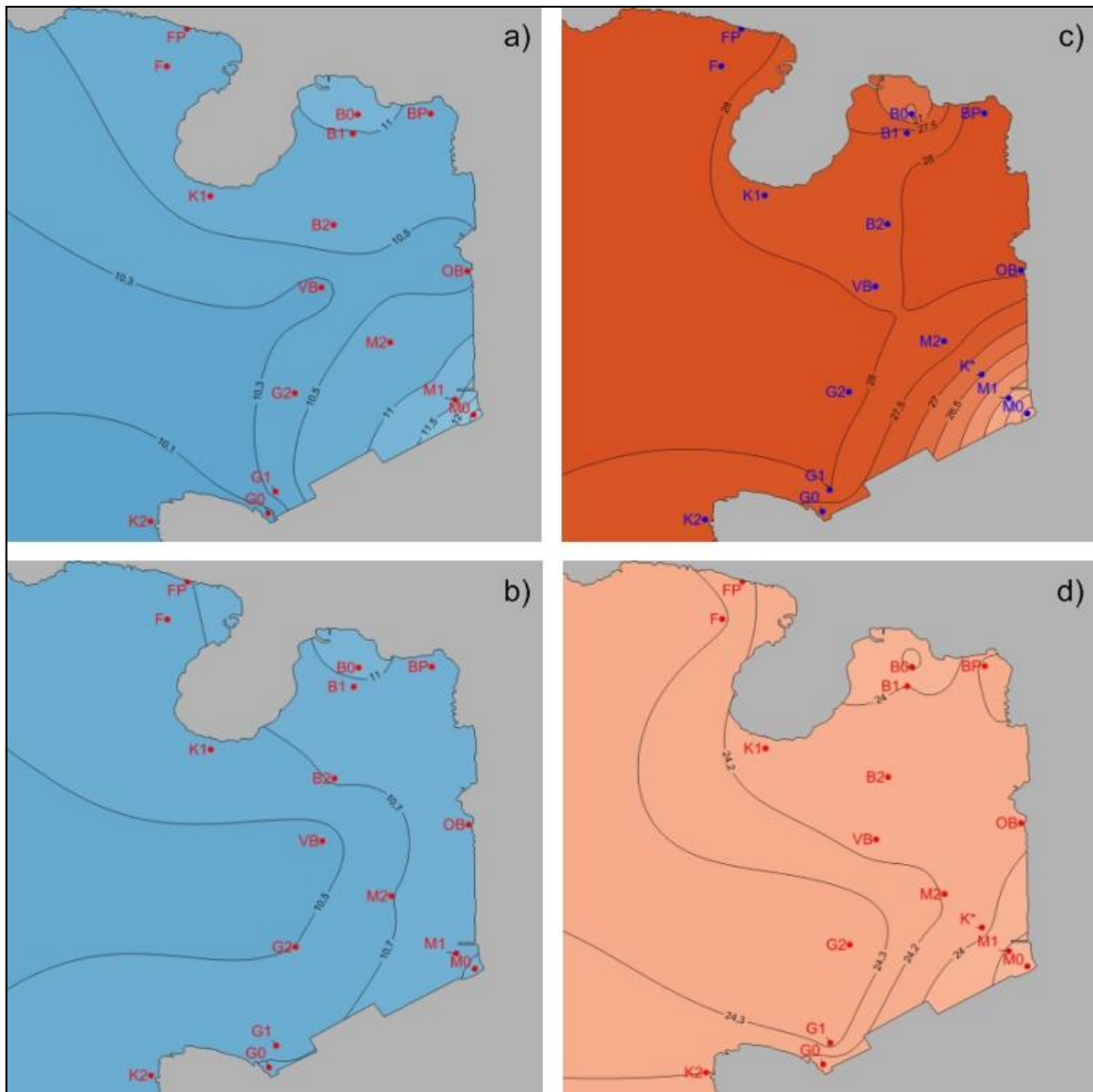
3. Analiza rezultata

3.1. Opći hidrografski uvjeti

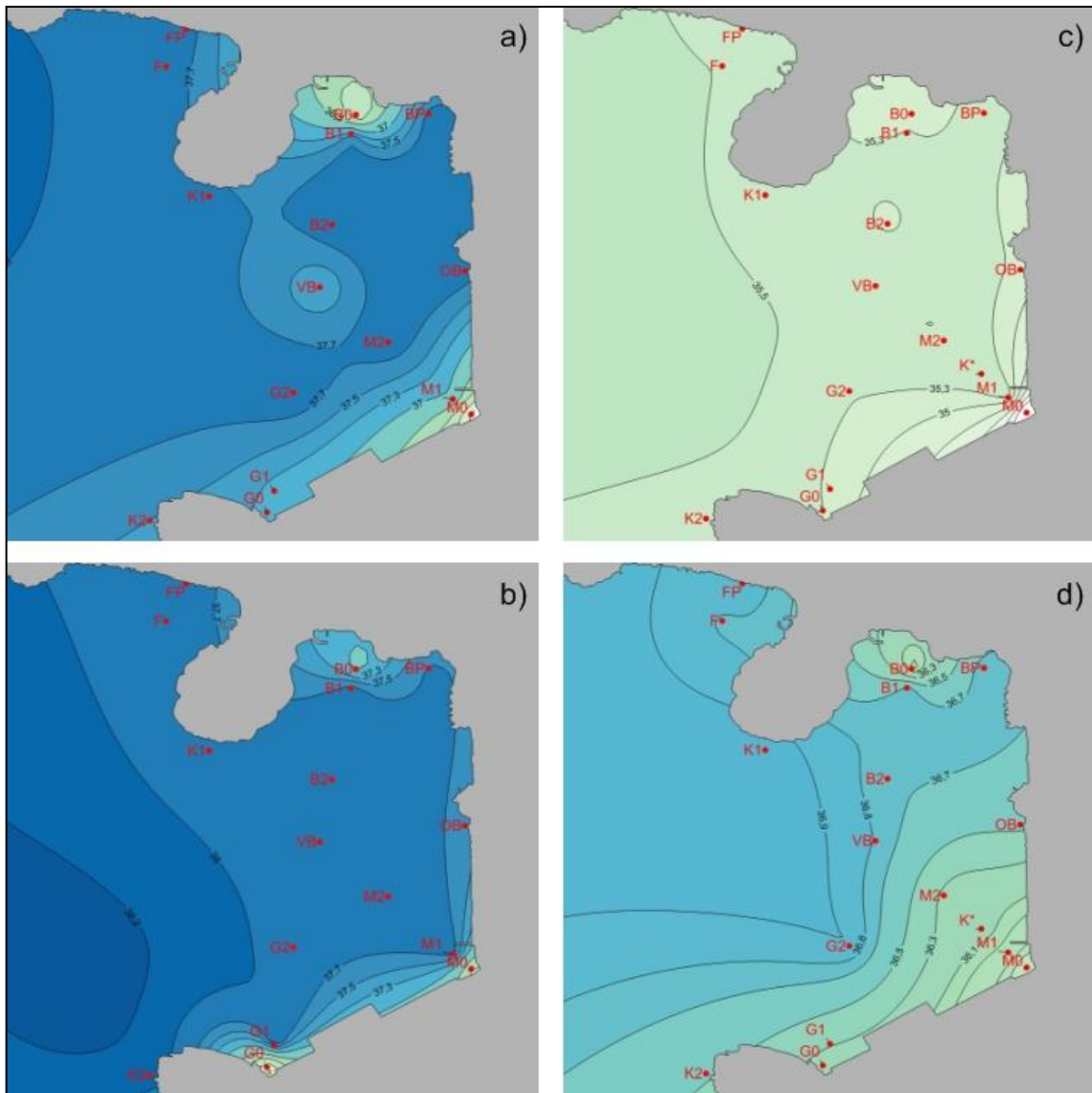
Vrijednosti temperature i saliniteta u vodama uvale Valdibora bile su tipične za istočno priobalje sjevernog Jadrana. Na tom području u toplijem dijelu godine dolazi do zagrijavanja površine mora i smanjivanja gustoće vode što otežava miješanje sa dubljim slojevima. S vremenom debljina sloja koji se zagrijava postepeno se povećava zbog donosa topline iz atmosfere a istovremeno se povećava razlika u gustoći površinskih i dubokih slojeva. U lipnju topli sloj iznosi nekoliko metara dok u rujnu može obuhvatiti cijeli vodeni stupac (do 30 m dubine). Istovremeno, ljeti dolazi do smanjivanja vrijednosti saliniteta u površinskom sloju mora najviše zbog utjecaja voda rijeka zapadne i sjeverne obale sjevernog Jadrana. Tijekom jeseni dolazi do hlađenja vodenog stupca pa površinska voda postaje teža i tone. Na taj način aktivira se proces konvektivnog miješanja koji vodi ujednačavanju i smanjivanju temperature u cijelom vodenom stupcu. Tijekom zime more je izotermno i dodatno se hladi. U proljeće, kada se zrak počinje grijati, opisani ciklus se ponavlja (Jeftić i Degobbis, 1978).

U zimskom razdoblju 2015. temperature mora u uvali Valdibora (Slika 3 a) i b)) kretale su se oko $10,7^{\circ}\text{C}$. U vodenom stupcu vladala je vertikalna izotermija s uniformnim vrijednostima saliniteta koje su u prosjeku iznosile 37,40 (Slika 4 a) i b)). Međutim kraj kanalizacijskih ispusta, salinitet je bio snižen, pogotovo kod ispusta tvornice za preradu ribe (34,69), a temperature više za 1°C do 2°C .

Tijekom ljeta 2015. temperature mora su se kretale oko $27,39^{\circ}\text{C}$ u površinskom sloju dok su na 5m u prosjeku iznosile $24,03^{\circ}\text{C}$ i $23,87^{\circ}\text{C}$ na 15 m dubine. Prema tome, dio vodenog stupca zahvaćen onečišćenjem bio je karakteriziran generalno visokim temperaturama i umjerenom razlici između površine i dubljih slojeva. Salinitet je također bio ujednačen sa blagim povećanjem od površine (35,12) prema većim dubinama, te je iznosio u prosjeku 36,46 na 5 m i 36,94 na 15 m. Horizontalna distribucija saliniteta je pokazala smanjenje saliniteta u unutarnjem dijelu uvale na 0 m i na 5 m dubine. Na području industrijskog ispusta na postaji M0, temperatura u površinskom sloju je bila niža za 3°C u odnosu na ostatak uvale, dok je salinitet bio značajno niži pogotovo na površini gdje je iznosio 31,18. Sniženje saliniteta registrirano je i na 5 m dubine ispred kanalizacijskog ispusta kod bolničkog naselja (B0).



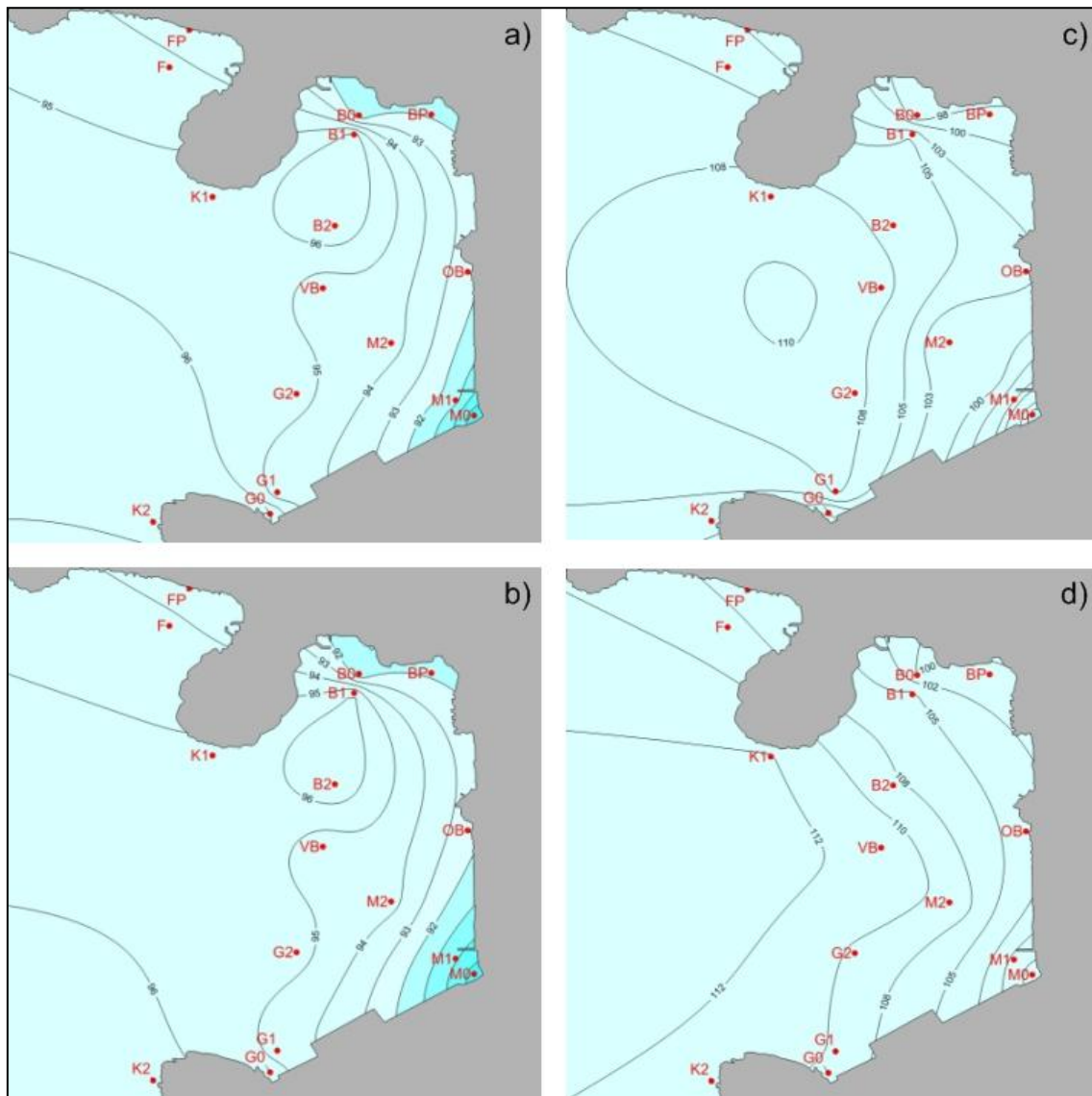
Slika 3. Raspodjela temperature tijekom zime na (a) 0 m i (b) 5m i tijekom ljeta na (c) 0 m i (d) na 5m.



Slika 4. Raspodjela saliniteta tijekom zime na (a) 0 m i na (b) 5m i tijekom ljeta na (c) 0 m i (d) na 5m.

Kod proučavanja promjene sadržaja kisika kao parametar se koristi zasićenje kisikom jer se time eliminiraju utjecaji temperature i saliniteta na topivost ovog plina. Vrijednosti više od 100% ukazuju na prisutnost mikroskopskih mjehurića kisika, oslobođenih u procesu fotosinteze, koji određeno vrijeme lebde u vodenom stupcu prije nego što se oslobode u atmosferu (Jeftić i Degobbis, 1978).

Sadržaj kisika, odnosno zasićenje kisikom (Slika 5.) u istraženom području uglavnom je bio visok s vrijednostima zasićenja između 88 i 109 %. Ljeti je zasićenje kisikom bilo veće u odnosu na zimu, zbog intenzivnije fitoplanktonske aktivnosti. Najniže koncentracije kisika zabilježene su na području oko industrijskog ispusta tvornice za preradu ribe zbog unosa organske tvari i njene degradacije u moru. Saturacija kisikom na tom području je bila bliska donjoj granici tipičnih prirodnih vrijednosti za rovinjsko priobalno more (Tablica 4.).



Slika 5. Raspodjela zasićenja kisikom tijekom zime na (a) 0 m i (b) 5m i tijekom ljeta na (c) 0 m i (d) na 5m.

Tablica 4. Raspon (R) i prosječne vrijednosti (\bar{x}) za temperaturu (T), salinitet (S) i zasićenje kisikom (O_2) na referentnoj postaji RV001 za razdoblje 1970.-2010.

	srpanj-kolovoz		veljača			
	iznad termokline		ispod termokline		vodeni stupac	
	R	\bar{x}	R	\bar{x}	R	\bar{x}
T ($^{\circ}$ C)	19.12-26.98	23.56	14.63-22.98	19.51	8.30-11.83	9.67
S	33.35-38.3	37.00	37.14-38.50	38.00	37.27-38.63	38.00
O_2 (%)	98-163	109	82-114	1.01	94-119	101

3.2. Sanitarna kvaliteta mora

Otpadne vode gradske i industrijske kanalizacije ulazeći u more bez ikakvog tretmana unose ostatke ribljeg i fekalnog materijala, a time i znatan broj alohtonih mikroorganizama i organske tvari. S namjerom da se utvrdi koliko je opterećenje i rasprostranjenost ovih otpadnih materijala analiziran je broj bakterija, indikatora fekalnog onečišćenja: fekalni koliformi i fekalni streptokoki. Procjena stanja okoliša napravljena je prema Pravilniku o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 87/2010) koje se ispuštaju u površinske vode a koje se koriste za kupanje i rekreaciju. U Tablici 2b, Pravilnika, granične vrijednosti su za koliformne bakterije fekalnog porijekla (FK) 500 CFU 100 ml⁻¹ a za streptokoke fekalnog porijekla (FS) 200 CFU 100 ml⁻¹.

Najveće koncentracije fekalnih indikatora (Slike 7. i 8.) 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. Razlog tome povezan je s nižim salinitetom i blago povišenom temperaturom ispuštenih voda.

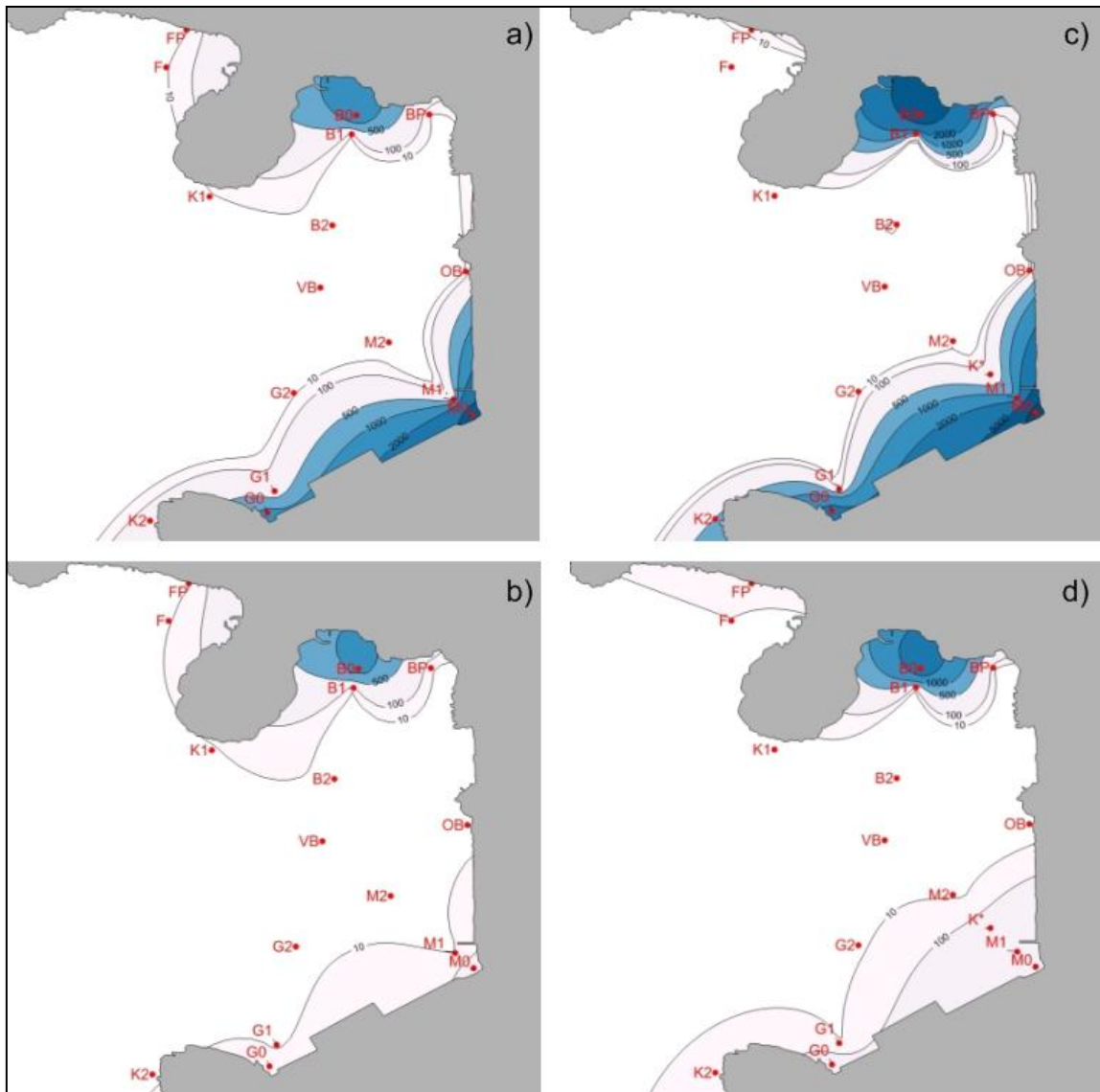
S druge strane na postaji B0 gdje se otpadne vode ispuštaju na 9 m dubine onečišćenje je bilo slično u cijelom vodenom stupcu. Na 50 m udaljenosti od gradskih ispusta (G1 i B1) razina onečišćenja je bila reda veličine manja i u većini slučajeva ispod propisanih granica. Samo su na postaji M1 na 50 m od industrijskog ispusta zabilježene visoke razine onečišćenja u ljetnom razdoblju na površini mora. 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. Koncentracije fekalnih bakterija na kontrolnoj postaji K1 na rtu Muča koji se nalazi na udaljenosti od 1 km od industrijskog ispusta tvornice za preradu ribe i na 500

m od ispusta bolničkog naselja bile su jako niske tijekom svih uzorkovanja. Slični rezultati su izmjereni u uvali Valdaliso i na postaji K2 gdje je more visoke kvalitete i podobno za kupanje.

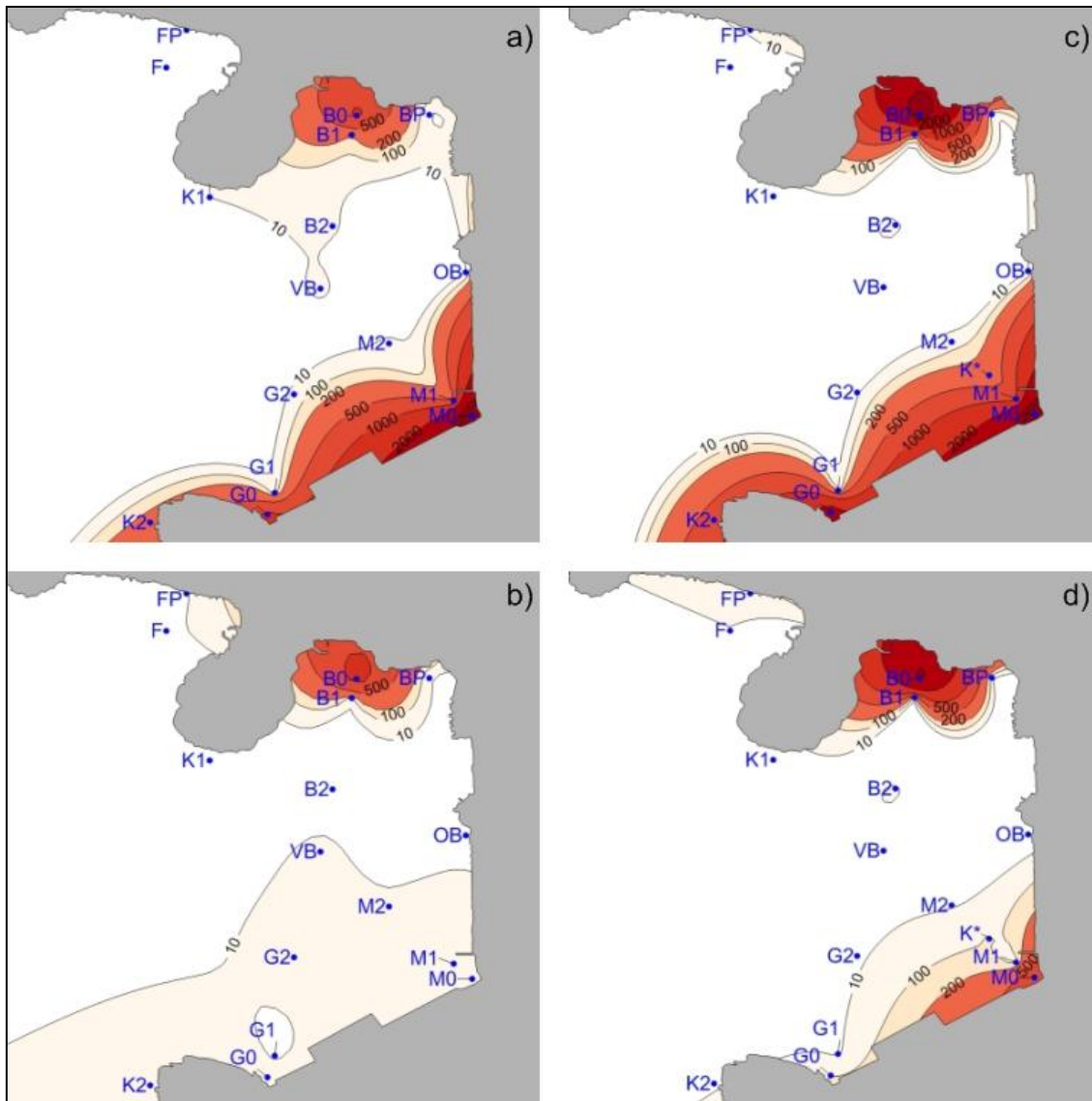
Važno je naglasiti da osim ljudskog doprinosa fekalnih bakterija u uvali Valdibora, postoje i prirodni izvori. Među njima u prvom redu treba naglasiti prisutnost populacije od nekoliko stotina galebova koji se stalno zadržavaju na području u okolici industrijskog ispusta (Slika 6.). Galebov je izmet izuzetno bogat s fekalnim bakterijama (Noblet i sur., 2004), pogotovo koliformima, a budući da u prosjeku galebovi ispuštaju svoj otpad oko 50 puta u jednom danu, njihov doprinos onečišćenju najvjerojatnije nije zanemariv.



Slika 6. Onečišćenje na području ispusta tvornice za preradu ribe "Mirna" i autohtona populacija galebova.



Slika 7. Distribucija fekalnih koliforma u vodenom stupcu tijekom zime na (a) 0 m i na (b) 5m i tijekom ljeta na (c) 0 m i (d) na 5m. Područja na kojima koncentracija fekalnih koliforma prelazi granične vrijednosti označena su gradacijom plave boje.



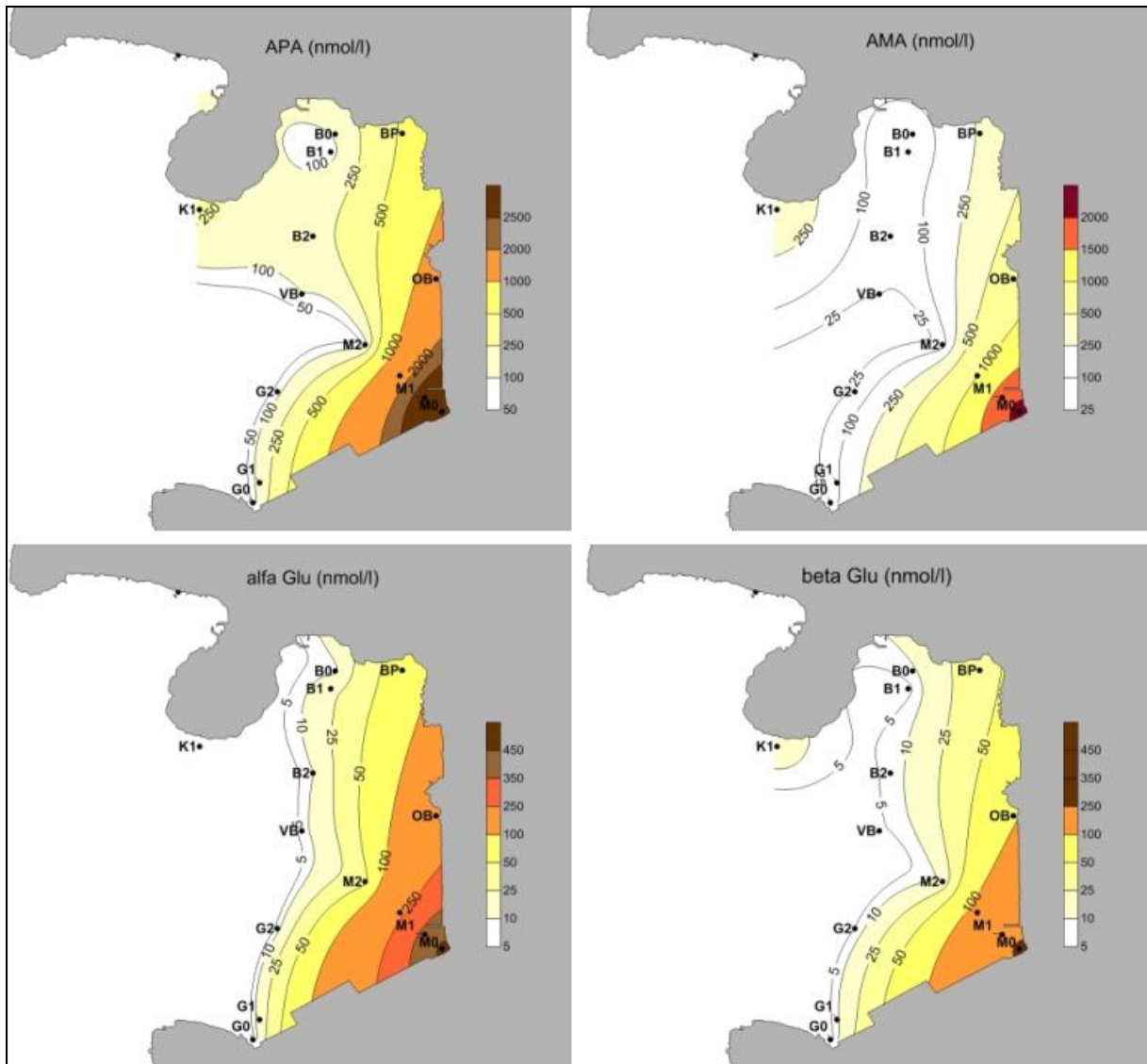
Slika 8. Distribucija fekalnih streptokoka u vodenom stupcu tijekom zime na (a) 0 m i na (b) 5m i tijekom ljeta na (c) 0 m i (d) na 5m. Područja na kojima koncentracija fekalnih streptokoka prelazi granične vrijednosti označena su gradacijom narančasto crvene boje.

3.3. Enzimatske aktivnosti i organska tvar u vodenom stupcu

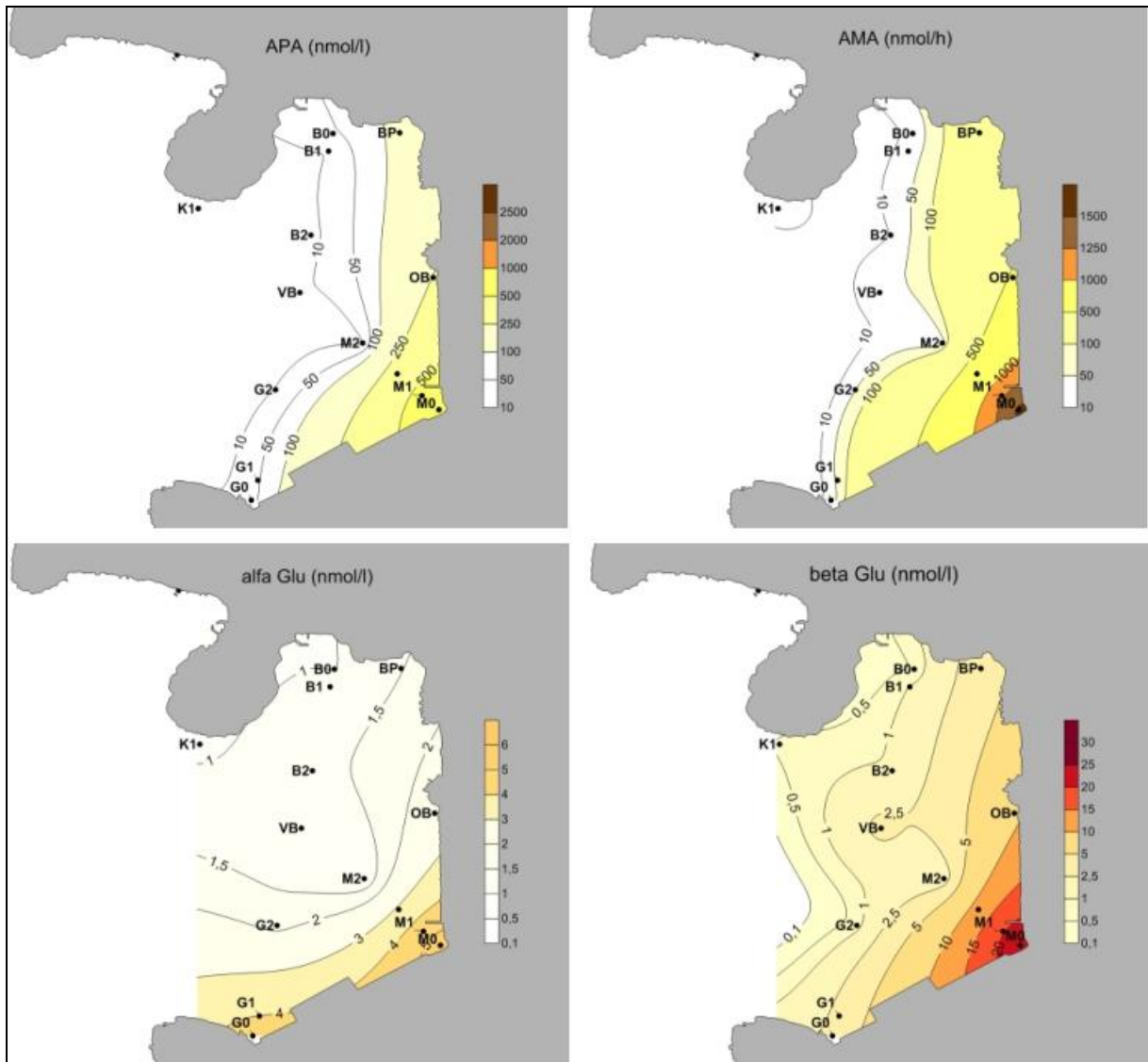
Na područjima koja su izložena antropogenom unosu organske tvari od velike je važnosti poznavanje efikasnosti razgradnje i recikliranja unesene tvari. Izvanstanična razgradnja organskih polimera važan je prvi korak u razgradnji organske tvari te je važno poznavati kinetiku kao i sastav enzima koji u tome sudjeluju. Vrijeme razgradnje dobiveno mjerenjem enzimatskih aktivnosti smatra se mjerom recikliranja i dostupnosti organske tvari za potrebe mikroorganizama (Manini i sur., 2003; Caruso i sur., 2005), njen daljnji prijenos kroz trofički lanac te nam govori o sposobnosti promatranog ekosustava da apsorbira unesenu

tvar. U uvali Valdibora mjerene su aktivnosti enzima koji razgrađuju organske fosforne estere (alkalna fosfataza), proteine (aminopeptidaza), svježe proizvedene lako razgradljive polisaharide (α glukozidaza), te „stare“ teže razgradljive polisaharide (β glukozidaza).

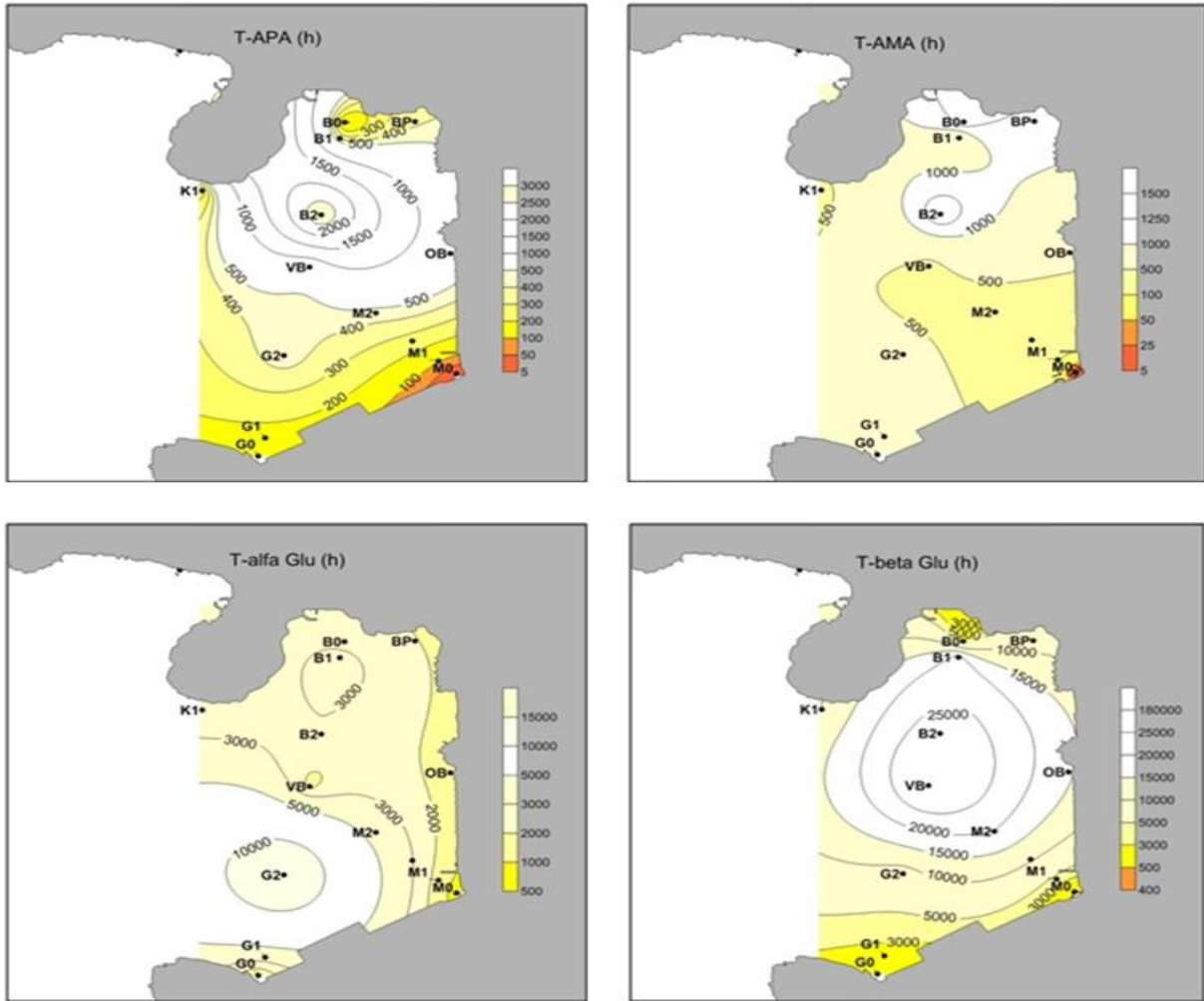
Najviše vrijednosti enzima su izmjerene tijekom ljeta. U srpnju su na području ispusta Mirne (M0) zabilježene izrazito visoke vrijednosti enzimatskih aktivnosti (fosfataza 3725 $\text{nmol l}^{-1} \text{h}^{-1}$; aminopeptidaza 2186 $\text{nmol l}^{-1} \text{h}^{-1}$; α glukozidaza 471 $\text{nmol l}^{-1} \text{h}^{-1}$; β glukozidaza 265 $\text{nmol l}^{-1} \text{h}^{-1}$). To ukazuje da je dolazilo do brze razgradnje unešene organske tvari. Vrijeme razgradnje organskog fosfora (1.1 h), proteina (7 h) i polisaharida s α glikozidnom vezom (9 h) bilo je znatno kraće od razgradnje polisaharida s β glikozidnom vezom (57 h). Ispred ispusta su enzimatske aktivnosti bile visoke i na 5 m, gdje je također zabilježena brza razgradnja organske tvari. Na udaljenosti od 300 m od ispusta tvornice Mirna su vrijednosti bile za do dva reda veličine niže i slične uobičajenim vrijednostima za nezagađeno područje, a vrijeme razgradnje znatno duže. U veljači su enzimatske aktivnosti bile niže nego tijekom ljeta zbog znatno niže temperature. Međutim kraj ispusta tvornice Mirna izmjerene su visoke aktivnosti fosfataze (737 $\text{nmol l}^{-1} \text{h}^{-1}$), aminopeptidaze (1547 $\text{nmol l}^{-1} \text{h}^{-1}$) i β -glukozidaze (25 $\text{nmol l}^{-1} \text{h}^{-1}$), dok su aktivnosti α -glukozidaze bile niske (6 $\text{nmol l}^{-1} \text{h}^{-1}$). To ukazuje da je na području ispusta enzimska razgradnja organske tvari važna i tijekom zime. Vrijeme razgradnje organskog fosfora i proteina iznosilo je oko 5-6 h, dok je vrijeme razgradnje polisaharida iznosilo 383-544 h. Na ostalom području su enzimatske aktivnosti bile niske, i za više od reda veličine niže nego na M0. Vrijeme razgradnje organske tvari bilo je znatno duže: za organski fosfor do 2941 h, proteine do 1469 h, za polisaharide do 181876 h.



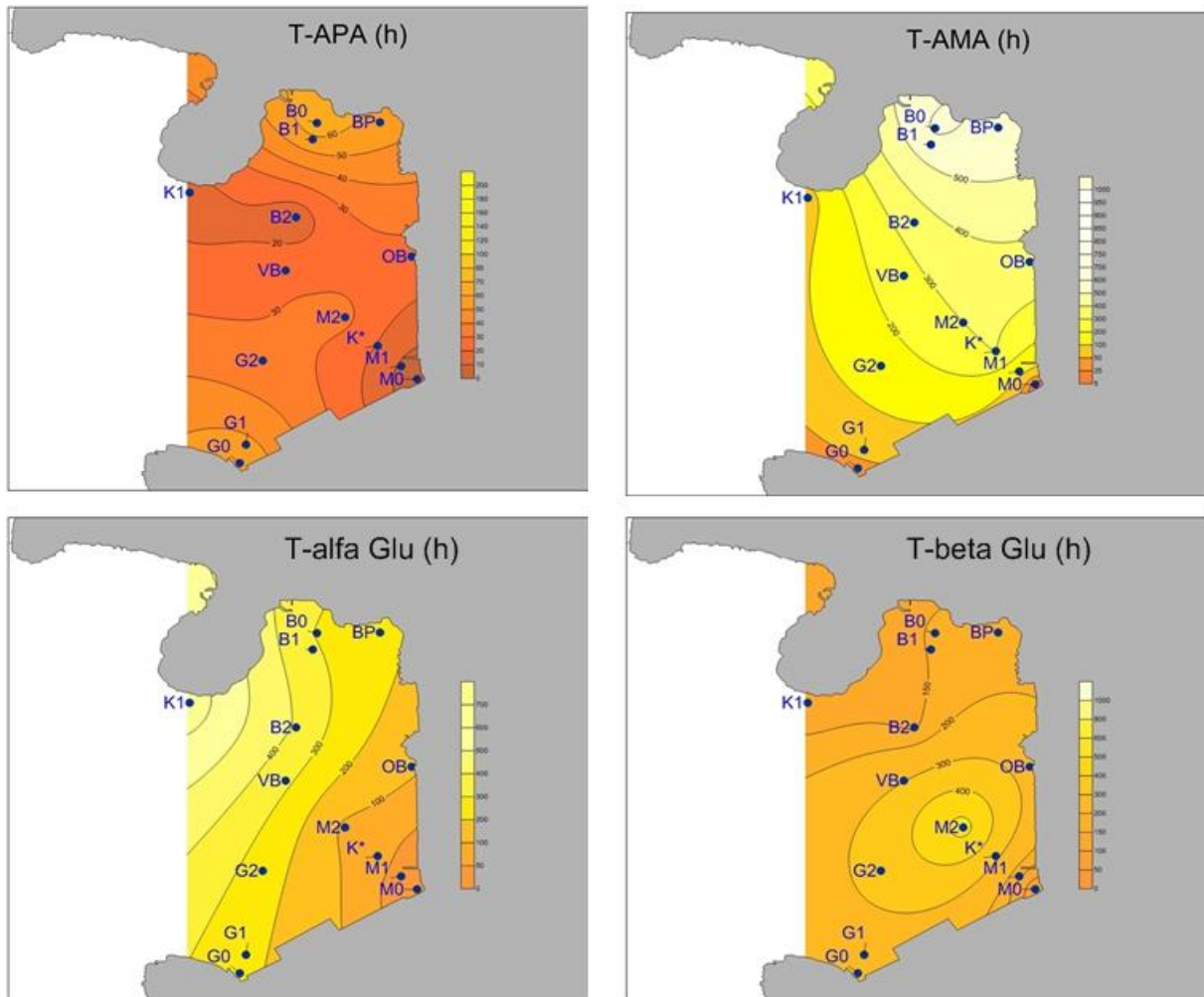
Slika 9. Distribucija koncentracija enzima (nmol l^{-1}) (alkalna fosfataza-APA, alfa-glukozidaza-alfa Glu., beta-glukozidaza-beta Glu, aminopeptidaza-AMA) tijekom srpnja 2015. u površinskim vodama uvala Valdibora.



Slika 10. Distribucija koncentracija enzima (nmol l^{-1}) (alkalna fosfataza-APA, alfa-glukozidaza-alfa Glu, beta-glukozidaza-beta Glu, aminopeptidaza-AMA) tijekom veljače 2015. u površinskim vodama uvala Valdibora.

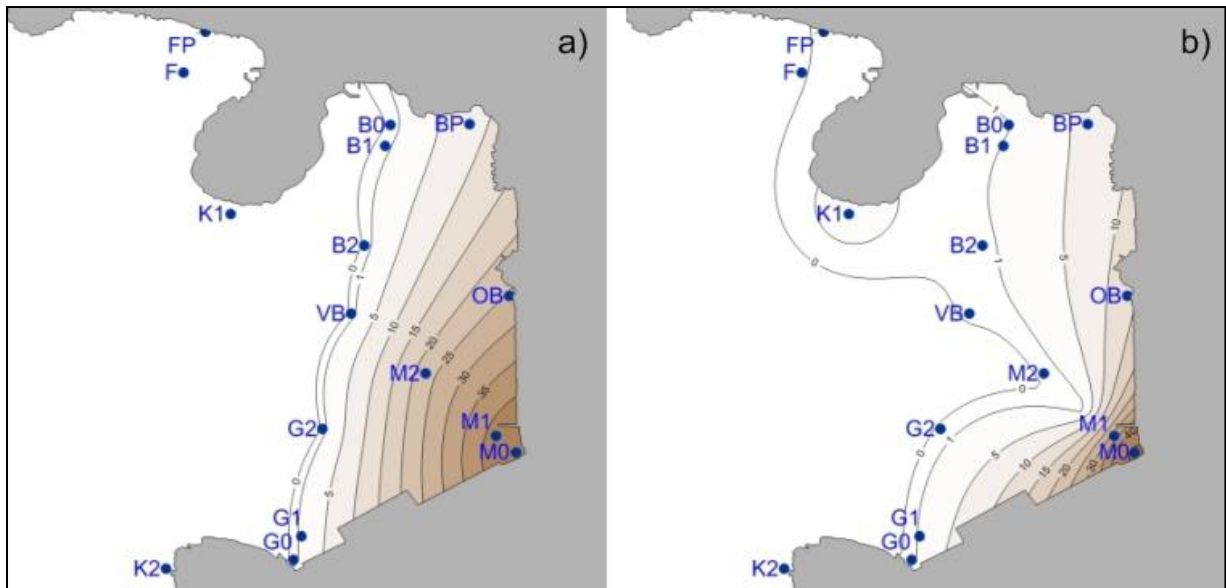


Slika 11. Distribucija vremena (h) razgradnje organskog fosfora (T-APA), proteina (T-AMA) i polisaharida (T-alfa GLU i T-beta GLU) tijekom veljače 2015. u površinskim vodama uvala Valdibora.

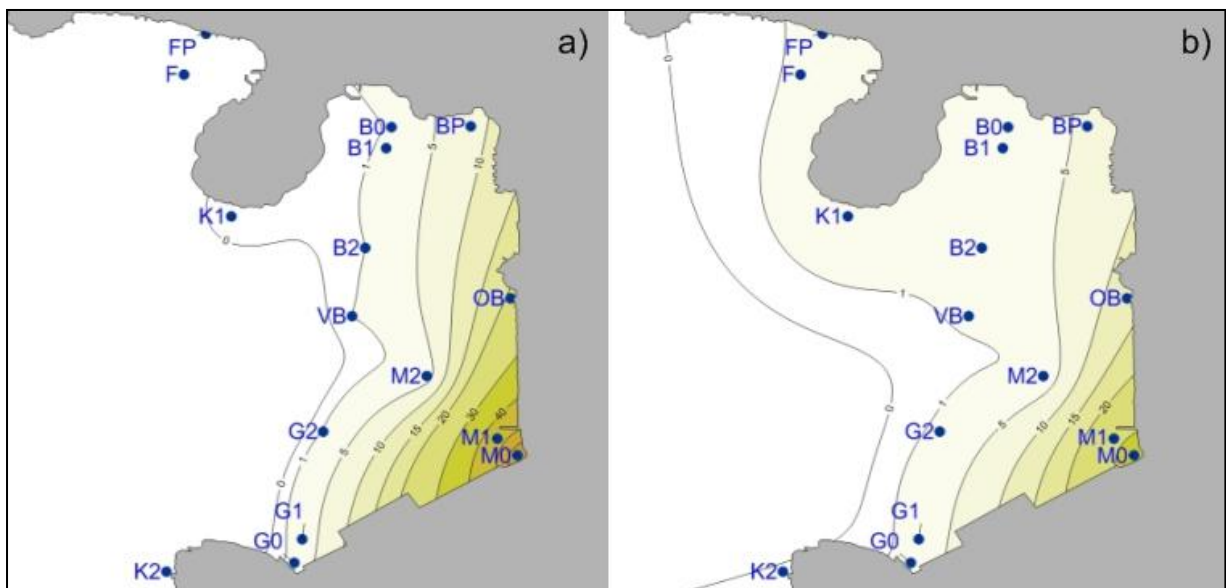


Slika 12. Distribucija vremena razgradnje (h) organskog fosfora (T-APA), proteina (T-AMA) i polisaharida (T-alfa GLU i T-beta GLU) tijekom srpnja 2015. u površinskim vodama uvale Valdibora.

Partikularni organski ugljik (POC) i otopljeni organski ugljik (DOC) su mjera organske tvari prisutne u ekosustavu. Na području ispusta tvornice Mirna su izrazito visoke koncentracije POCa zabilježene tijekom veljače (53.98 mg l^{-1}) i srpnja (48.59 mg l^{-1}), bez značajnije razlike između sezona. Tu su zabilježene i izrazito visoke vrijednosti DOCa ($34.67\text{-}58.95 \text{ mg l}^{-1}$) u obje sezone. Te vrijednosti su do dva reda veličine više od uobičajenih za istočno područje sjevernog Jadrana (Tablica 3; Frka i sur., 2011, Marić i sur., 2013). Na ostalom području uvale Valdibora su vrijednosti (POC; DOC) za dva reda veličine niža nego ispred ispusta Mirne i tipične za nezagađeno područje rovinjskog akvatorija (Tablica 3; Frka i sur., 2011, Marić i sur., 2013). To znači da Mirna ispušta velike količine organske tvari koju ni visoka enzimatska aktivnost ne uspijeva razgraditi.



Slika 13. Raspodjela partikulatnog organskog ugljika (POC mg l^{-1}) u površinskim vodama uvale Valdibora a) tijekom veljače 2015. i b) tijekom srpnja 2015.



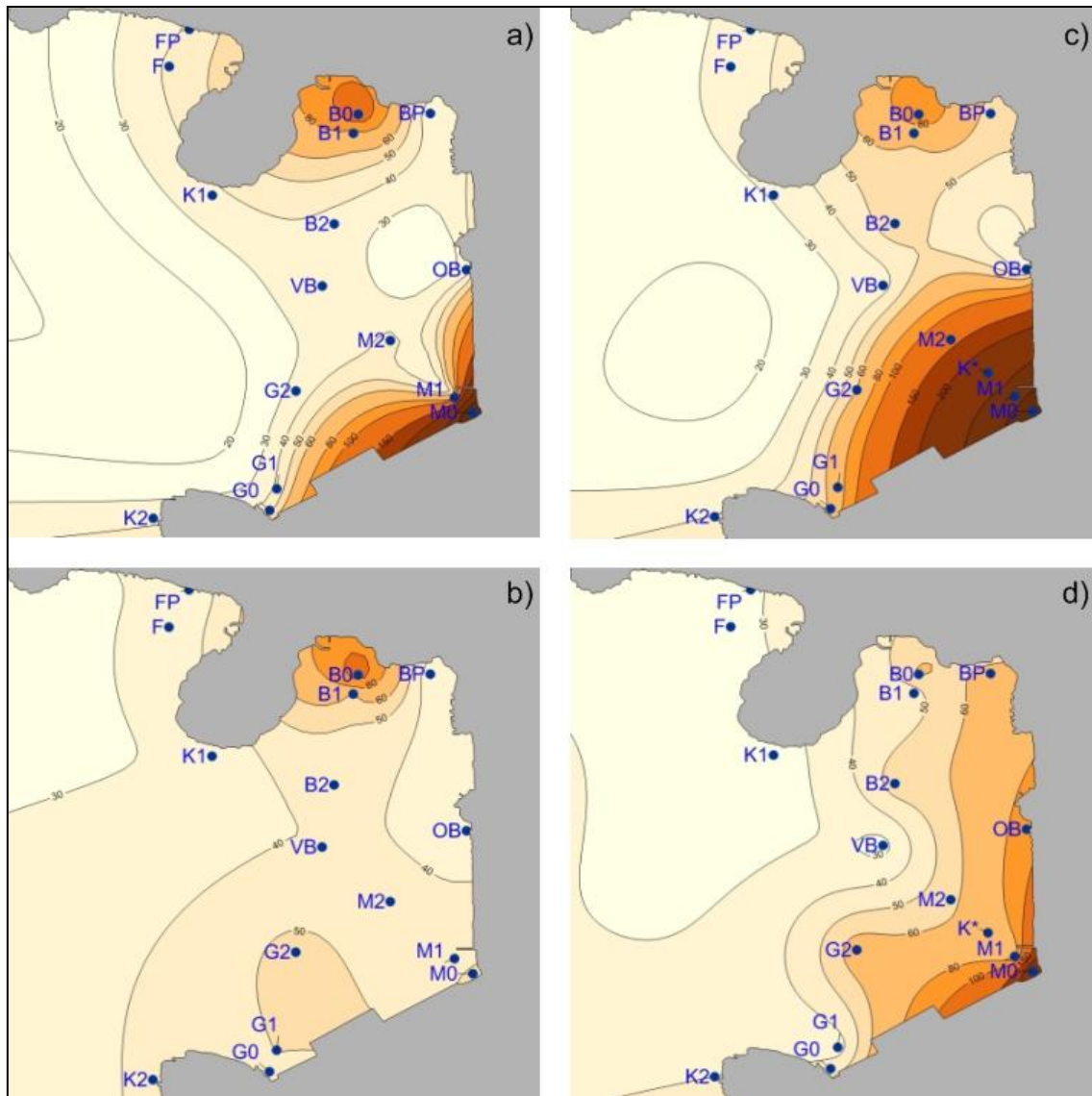
Slika 14. Raspodjela otopljenog organskog ugljika (DOC mg l^{-1}) u površinskim vodama uvale Valdibora a) tijekom veljače 2015. i b) tijekom srpnja 2015.

3.4. Mikrobna zajednica u vodenom stupcu

3.4.1. Heterotrofne bakterije

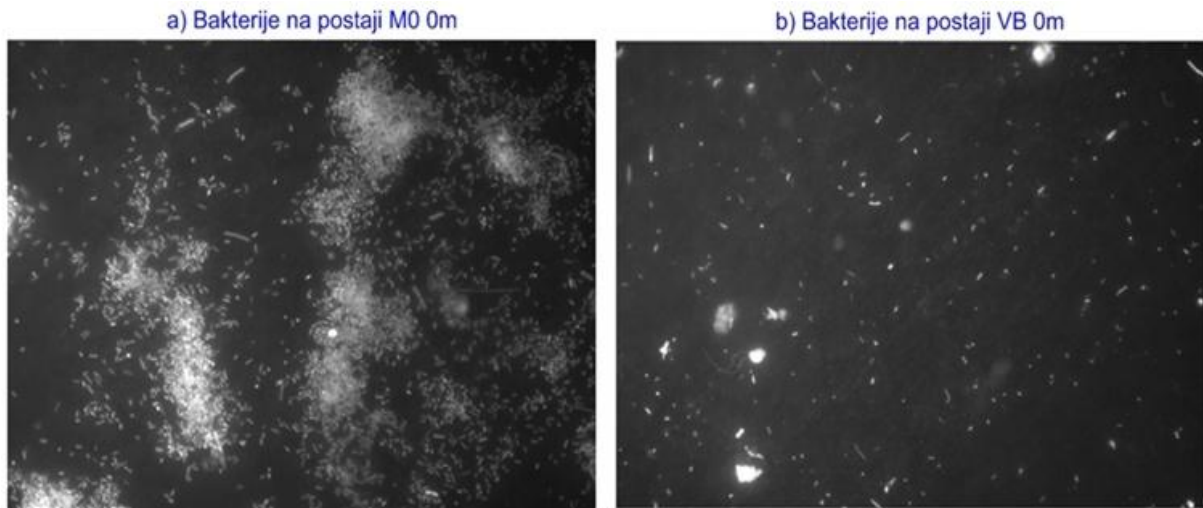
Heterotrofne bakterije su najbrojnija komponenta morskih mikrobnih zajednica (Sanders i sur., 1992). One su sveprisutne u moru te imaju temeljnu ulogu u kruženju nutrijenata u hranidbenim mrežama (Azam, 1998). Bakterije brzo odgovaraju na promjene u okolišu, stoga mogu poslužiti kao dobar pokazatelj perturbacija u morskom ekosustavu (Cavari i Colwell, 1988).

U onečišćenom obalnom pojasu uvale 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 9.) 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 brojnosti su izrazito visoke i prelaze granice prirodnih varijacija brojnosti bakterija u rovinjskom priobalju (Tablica 5.). Na postaji M2 na 300 m od industrijskog ispusta brojnost 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 brojnosti 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 15. Raspodjela heterotrofnih bakterija (broj bakterijskih stanica $l^{-1} \cdot 10^{-7}$) tijekom zime na (a) 0 m i (b) 5 m i tijekom ljeta na (c) 0 m i (d) na 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 16.). 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.



Slika 16. Heterotrofne bakterije pod epifluorescentnim mikroskopom s povećanjem od 1000X. a) na postaji M0 (0 m) kod industrijskog ispusta i b) u sredini uvale Valdibora (0 m) na 600 m od industrijskog ispusta.

3.4.2. Bakterijska proizvodnja

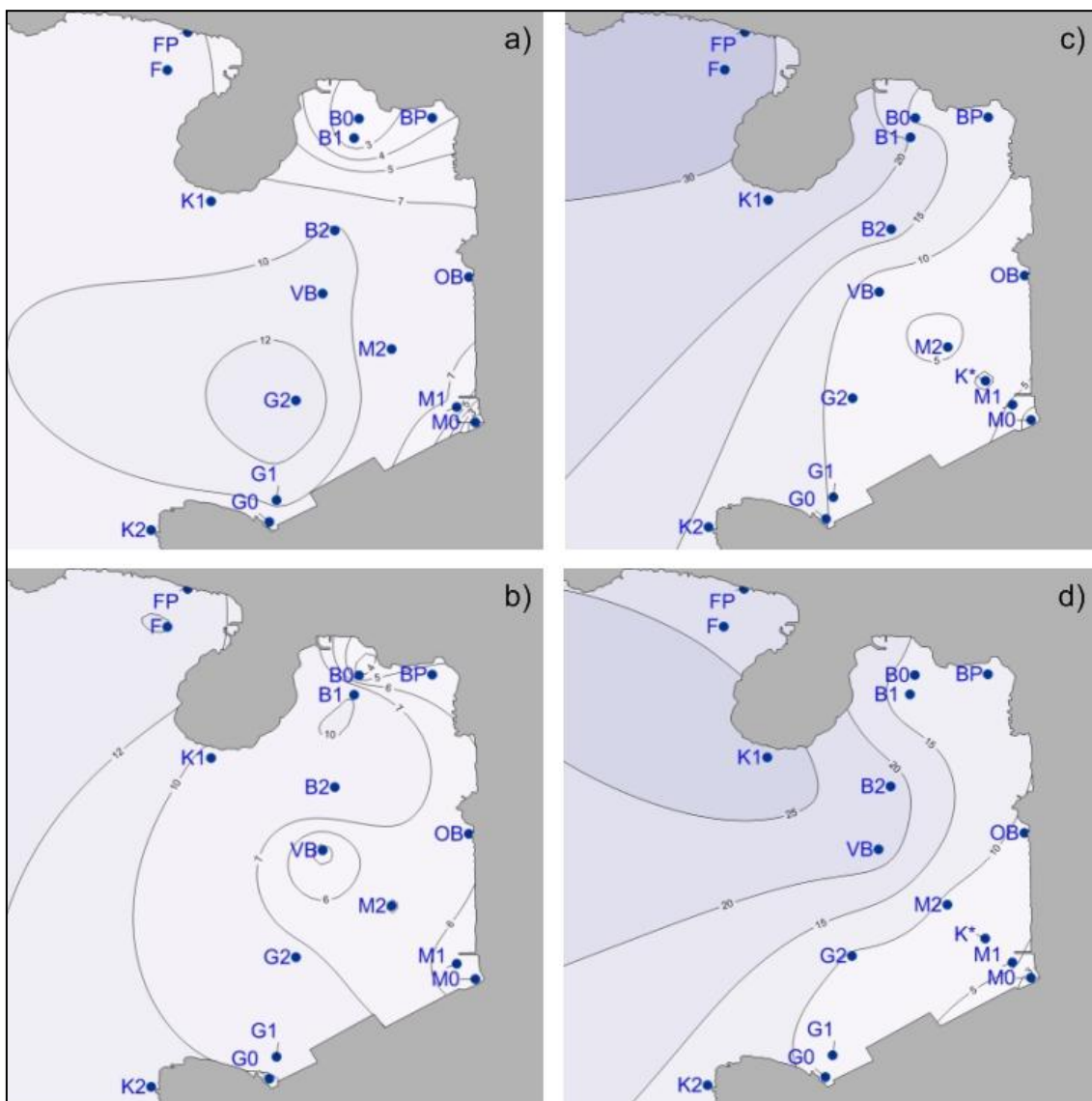
Ugradnja timidina služi kao pokazatelj sinteze DNA bakterijskih stanica i povezana je sa njihovom stopom replikacije (Shiah i Ducklow, 1997). Specifična stopa ugradnje timidina (Slika 17.), bila je statistički značajno niža na postajama (M0, M1, G0, G1 B0, B1) u blizini kanalizacijskih i industrijskih 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 brojnosti bakterija i specifične stope ugradnje timidina ($R=-0,37$, $p=0,007$). U zimskom razdoblju bakterijska proizvodnja je bila niža u odnosu na ljeto u cijeloj uvali. Najniže razine izmjerene su na postaji M0 (1 zmol/cell/h tijekom zime i 2 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 što ukazuje da je stopa bakterijske replikacije bila izrazito spora. Takve vrijednosti su uobičajene pri visokim brojnostima bakterija i označavaju da se one nalaze blizu gornje razine nosivosti sustava. Usporedbom s dugoročnim podacima o specifičnoj ugradnji timidina u sjevernom Jadranu (Tablica 5.) vrijednosti izmjerene u uvali Valdibora su bile uobičajene u ljetnom razdoblju i relativno niske zimi u cijelom akvatoriju.

Tablica 5. 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 ($\cdot 10^7 \text{ cell l}^{-1}$) ^a	37,5-242,8	115,9	30,4-186,6	91,5	30,6-162,2	87,8
sTdR ($\text{zmol cell}^{-1}\text{h}^{-1}$) ^b	11-125	87	14-129	87	32-563	221

^a-razdoblje mjerenja 1990.-2013.

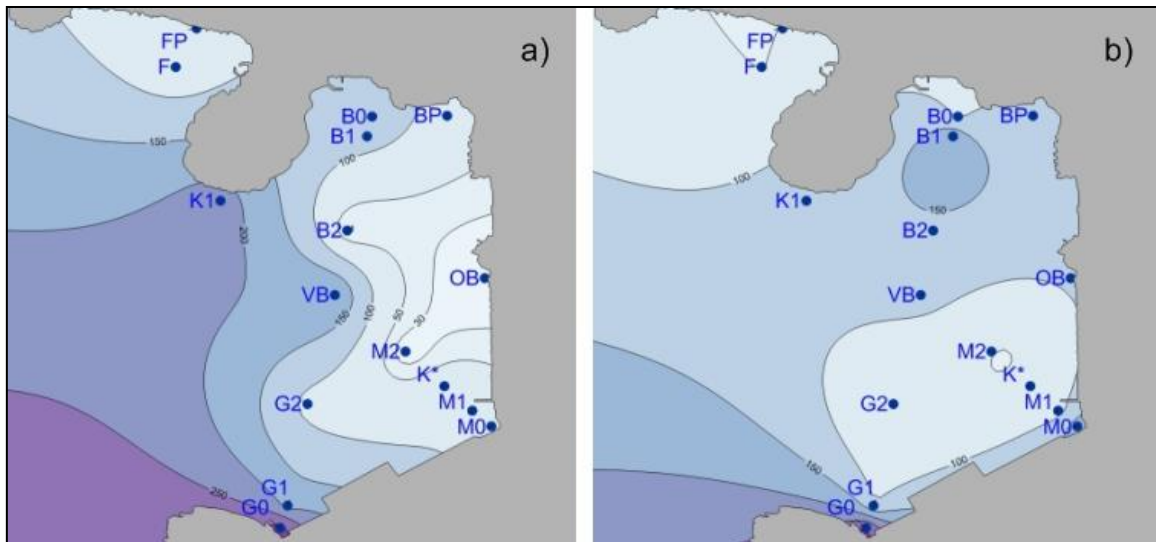
^b-razdoblje mjerenja 1990.-2007.



Slika 17. Raspodjela specifične ugradnje timidina (zmol/cell/h) u Valdibori tijekom zime na (a) 0 m i (b) 5m i tijekom ljeta na (c) 0 m i (d) na 5m.

Ugradnja leucina povezana je s proizvodnjom proteina, tj. povećanjem biomase bakterijske stanice (Shiah i Ducklow, 1997). Proteini su jedna od važnijih skupina makromolekula u bakterijskoj stanici koji čine oko 50% bakterijske suhe težine (Ingraham i sur., 1983). Slično kao za specifičnu stopu ugradnje timidina, specifična stopa ugradnja leucina bila je niža na području oko industrijskog ispusta i generalno u cijelom južnom i istočnom akvatoriju uvale (Slika 18.). Iako je bilo očekivano da će bakterijska ugradnja leucina biti visoka na području ispusta zbog obilja organske tvari ta situacija nije zabilježena.

U sličnoj studiji koju su proveli Gast i sur., 1999. na otoku Curacao (Južna Amerika) također je zabilježena niža bakterijska proizvodnja u onečišćenim vodama fekalnog porijekla u odnosu na čisto more. Autori su pretpostavili da je većina lako razgradivih organskih molekula bila rapidno konzumirana već unutar kanalizacijskog sustava te da je u more izlazila voda sa visokim udjelom refraktorne otopljene organske tvari koja zahtjeva puno više vremena za razgradnju. Takva interpretacija bi mogla objasniti istovremeno visoku brojnost registriranih bakterija a istovremeno njihovu nisku produktivnost u uvali Valdibora. Najvjerojatnije je većina bakterija na području industrijskog ispusta alohtonog porijekla, odnosno dolazi iz procesa obrade ribljeg materijala unutar tvornice gdje su uvjeti za njihov rast i razmnožavanje bili jako povoljni. Na 5 m dubine specifična ugradnja leucina je bila manja u odnosu na površinu ali je pratila sličan trend prostorne distribucije. Na područjima koji nisu bili pod utjecajem otpadnih voda razina proizvodnje bakterijskih proteina je bila dosta visoka za rovinjsko priobalje i slična onima u zapadnom dijelu sjevernog Jadrana. Takve vrijednosti su najvjerojatnije pokazatelj utjecaja voda iz rijeke Po, koje su bogate nutrijentima i lako razgradive organske tvari koje se često šire prema zapadnoj obali Istre u toplijem dijelu godine.



Slika 18. Raspodjela specifične ugradnje leucina na istraživanim postajama tijekom ljeta 2015 na (a) 0 m (b) 5 m.

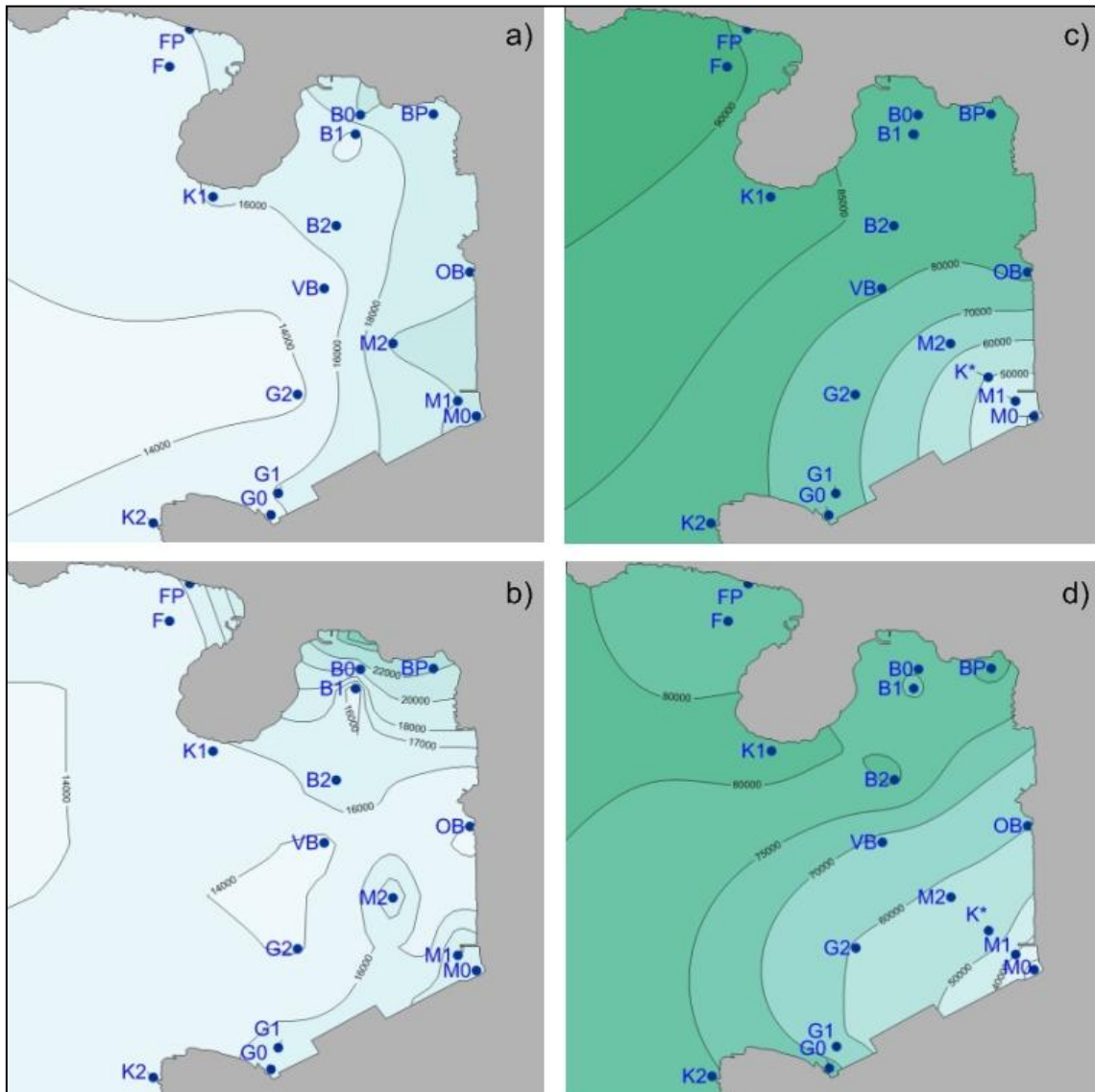
3.4.3. Cijanobakterije

Cijanobakterije spadaju u autotrofne prokariote i važni su indikatori eutrofikacije u slatkovodnim i morskim sustavima. Njihova se brojnost može značajno povećati zbog unosa hranjiva pogotovo u toplijem dijelu godine kada je vodeni stupac stratificiran, pri visokom intenzitetu sunčevog svjetla i niskoj turbulenciji mora. U određenim uvjetima cijanobakterije mogu osloboditi toksine koje mogu ugroziti ljude i životinje. Gustoća im se u morskoj vodi prosječno kreće u rasponu od 10^2 do 10^5 stanica ml^{-1} (Waterbury i Stanier, 1981) i procijenjeno je da u oligotrofnim vodama njihovo učešće u primarnoj proizvodnji iznosi od 60 do 80% (Sherr i Sherr, 2000).

U vodama uvale Valdibora prosječna brojnost cijanobakterija (Slika 19.) tijekom zime bila je 16.850 ml^{-1} što je bilo oko 4 puta manje u odnosu na ljeto (69.684 ml^{-1}). Takve su sezonske razlike uobičajene u rovinjskom akvatoriju kao i izmjerene koncentracije cijanobakterija (Tablica 6.). Razlike u brojnosti cijanobakterija u zimskom i u ljetnom razdoblju na površini mora i na 5 m dubine nisu bile izražene. U veljači, brojnost cijanobakterija pokazala je blago povećanje u unutrašnjem djelu uvale, pogotovo oko kanalizacijskog ispusta bolničkog naselja najvjerojatnije zbog unosa hranjivih tvari. Minimalno povećanje je registrirano i na južnoj strani uvale na potezu između industrijskog ispusta i starogradske jezgre.

Tijekom srpnja 2015. uočen je suprotan trend, sa značajnim smanjenjem brojnosti cijanobakterija za 2 do 3 puta u krugu od 120 m (postaja K*) oko industrijskog ispusta. Velika

količina suspendiranog masnog partikulata koja se zadržavala u tom dijelu uvale tijekom većeg dijela dana značajno je smanjila prozirnost mora i količinu raspoloživog svjetla koji je neophodan za fotosintezu. Prema tome navedeni rezultati upućuju na to da sastav otpadnih voda iz tvornice za preradu ribe ima negativan utjecaj na rast i razmnožavanje cijanobakterija, ali da su generalno izmjerene vrijednosti u cijeloj uvali bile uobičajene i nisu ukazale na eutrofikaciju vodenog stupca.



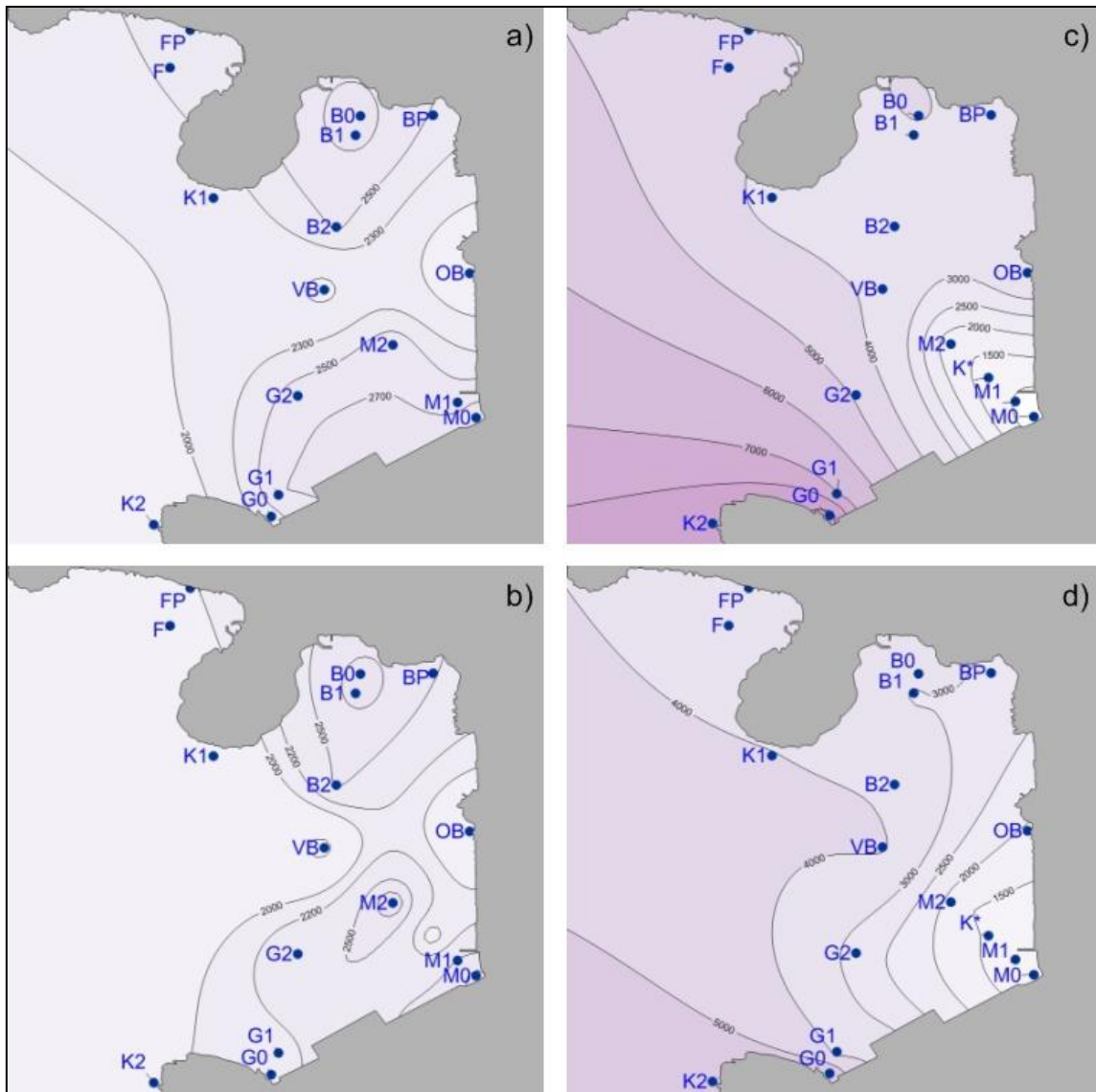
Slika 19. Raspodjela cijanobakterija (broj bakterijskih stanica ml^{-1}) tijekom zime na (a) 0 m i (b) 5m i tijekom ljeta na (c) 0 m i (d) na 5m.

3.4.4. Heterotrofni nanoflagelati

Heterotrofni nanoflagelati su skupina jednostaničnih eukariotskih organizama veličine od 2 do 20 μm koji predstavljaju najznačajnije predatore bakterija, cijanobakterija i pikoplanktonskih algi (Šolić i Krstulović, 1994). Poput heterotrofnih bakterija oni su sveprisutni u moru a njihova je uloga u ekosustavu važna jer omogućava prijenos tvari i energije, koje se recikliraju u mikrobnom krugu ili proizvode fotosintezom cijanobakterija i pikoeukariota, prema višim karikama hranidbene mreže.

U vodama uvale Valdibora brojnost heterotrofnih nanoflagelata (Slika 20.) tijekom ljeta bila je oko 1,5 puta veća u odnosu na zimu kao što je i uobičajeno u prirodnim uvjetima. Zimi su nanoflagelati imali sličnu distribuciju na 0 m i na 5 m s blagim povećanjem oko kanalizacijskog ispusta bolničkog naselja i oko postaje M2 na 300 m od industrijskog ispusta. Tijekom srpnja 2015., broj nanoflagelata je bio znatno snižen u krugu od 300 m oko ispusta tvornice za preradu ribe pogotovo u površinskom sloju mora. Na 5 m dubine također je registrirano smanjenje brojnosti nanoflagelata ali ipak blažeg intenziteta. Dobiveni su rezultati bili neočekivani budući da su heterotrofne bakterije, jedan od glavnih pljenova nanoflagelata, bile prisutne u izuzetno velikom broju baš na području zahvaćenom industrijskim onečišćenjem.

Prema drugim istraživanjima (Sommarunga i Kandolf, 2014), velika prisutnost suspendiranih mineralnih čestica otežava prehranu nanoflagelata i vodi k smanjenju njihove brojnosti. Međutim, u slučaju industrijskog ispusta većina je materijala bila organskog porijekla, odnosno sastavljena od masnoće i ostataka ribe. Budući da nanoflagelati imaju generalno razvijenu sposobnost lijepljenja na organski materijal u moru i da se hrane bakterijama koje žive na tim česticama, iznenađuje činjenica da su oni detektirani u tako malom broju. Najvjerojatnije je sastav organskog partikulata iz industrijskih otpadnih voda, koji se razlikuje od tipičnog morskog, inhibirao naseljavanje heterotrofnih nanoflagelata na partikulat, i na taj način otežavao njihovu ishranu bakterijama. S druge strane kod gradskih ispusta broj nanoflagelata pokazao je blago povećanje, sugerirajući da su pri onim koncentracijama i onoj vrsti unesenog materijala vladali pogodniji uvjeti za njihov rast. S izuzetkom područja pod direktnim utjecajem industrijskog ispusta brojnost heterotrofnih nanoflagelata i njihova sezonska dinamika bila je u skladu sa tipičnim vrijednostima izmjerenim na referentnoj postaji RV001 za koju postoji dugogodišnji niz mjerenja (Tablica 6.).



Slika 20. Raspodjela heterotrofnih nanoflagelata (broj bakterijskih stanica ml⁻¹) tijekom zime na (a) 0 m i (b) 5m i tijekom ljeta na (c) 0 m i (d) na 5m.

Tablica 6. Raspon i prosječne brojnosti cijanobakterija i heterotrofnih nanoflagelata u površinskom sloju mora na referentnoj postaji RV001 za razdoblje 1990.-2014.

Sezona	Prosjek Cijanobakterija/ml	Raspon Cijanobakterija/ml	Prosjek HNF/ml	Raspon HNF/ml
zima	14.986	3.514 - 77.553	1.294	89 - 8919
ljetno	47.641	4.250-157.054	4.887	113 - 30476

3.5. Granulometrijski sastav i redoks potencijal sedimenta

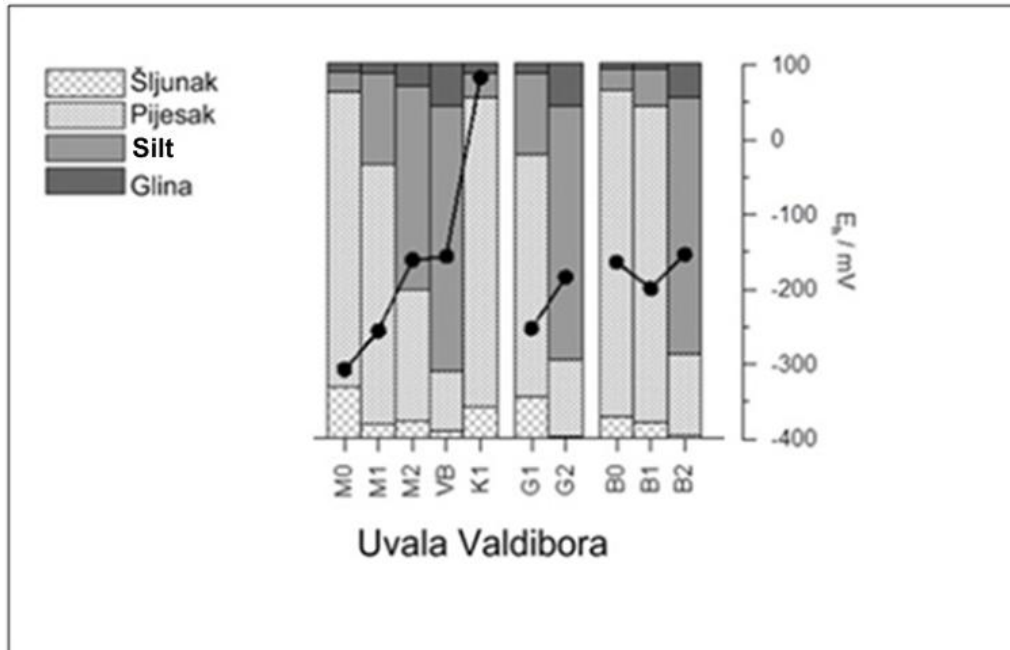
Tipovi sedimenta određeni su pomoću klasifikacije prema Folku (1954) na temelju udjela šljunka, pijeska i mulja (glina+silt). Analiza veličine zrna je pokazala da je struktura sedimenta sastavljena većinom od pijeska. Postaje bliže obali, kao što je bilo očekivano imale su veći udio šljunka i pijeska, pogotovo na lokacijama M0, G1, K1 i B0. Udaljavanjem od obale količina šljunka i pijeska se postepeno smanjivala pa je tipologija sedimenta prelazila iz pijeska u mulj u pojasu između 50 i 300 m od obale. U središnjem dijelu uvale registriran je veći postotak gline i silta (mulj) kod postaja VB i B2 (Tablica 7).

Tablica 7. Granulometrija sedimenta u uvali Valdibora

Postaja	Karakterizacija sedimenta	% Šljunka	%Pijeska	%Silta	%Gline
M0	<i>šljunkoviti pijesak</i>	13,8	78,6	5,6	2
M1	<i>umjereno šljunkovito muljeviti pijesak</i>	3,7	69,5	24,2	2,6
M2	<i>umjereno šljunkovito pješčani mulj</i>	4,6	34,9	54,5	6
VB	<i>umjereno šljunkovito pjeskoviti mulj</i>	1,7	16,1	70,9	11,2
K1	<i>šljunkoviti pijesak</i>	8,3	82,6	6,7	2,3
B0	<i>šljunkoviti pijesak</i>	5,7	87,1	5,8	1,4
B1	<i>umjereno šljunkovito muljeviti pijesak</i>	4,2	84,3	10,2	1,3
B2	<i>umjereno šljunkovito pjeskoviti mulj</i>	0,7	21,7	68,5	9,1
F	<i>umjereno šljunkovito muljeviti pijesak</i>	4,2	79,2	15,6	1
G1	<i>šljunkovito muljeviti pijesak</i>	11	64,8	21,5	2,7
G2	<i>umjereno šljunkovito pjeskoviti mulj</i>	0,4	20,4	68	11,2

Uzorci iz uvale Valdibora imali su izraženi negativan redoks potencijal već na dubini od 1-2 cm, što ukazuje na prisutnost oksičnih uvjeta samo u površinskom dijelu sedimenta. Jedini izuzetak je registriran na postaji K1 gdje su vrijednosti redoks potencijala bile pozitivne do dubine od 10 cm. Najvjerojatnije udaljenost postaje K1 od svih antropogenih izvora organskog materijala i sastav sedimenta na toj poziciji koji je bio bogat šljunkom i pijeskom omogućio je znatnu difuziju kisika unutar sedimenta.

Prosječne vrijednosti redoks potencijala (Eh) (Slika 21.) 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.



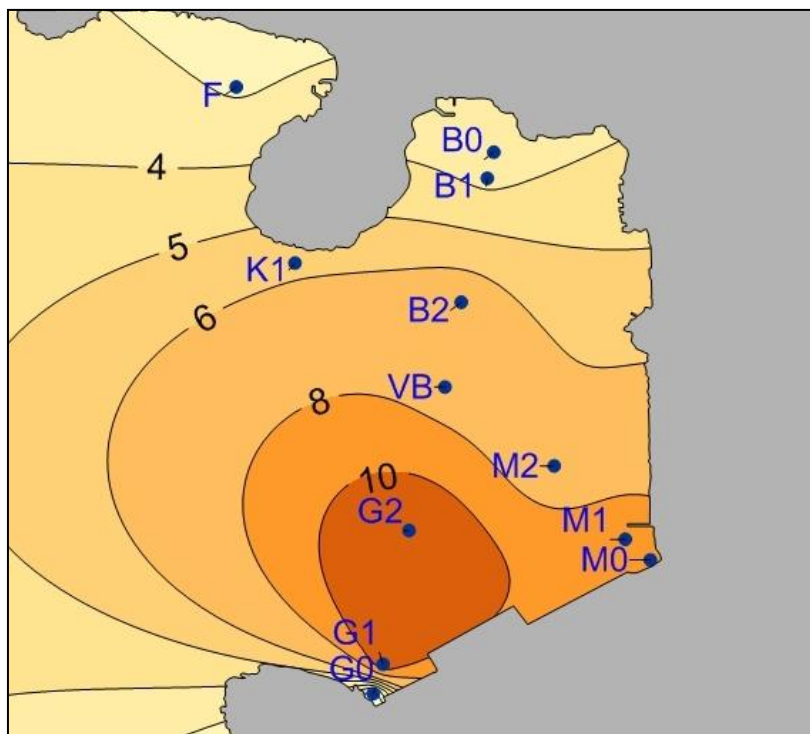
Slika 21. Granulometrijski sastav sedimenta i prosječan redoks potencijal na postajama u uvali Valdibora.

3.6. Organska tvar u sedimentu

Morski sedimenti predstavljaju završni spremnik za organsku tvar koja se proizvode u eufotičkoj zoni ili dolazi u more putem rijeka, atmosfere i ljudskih aktivnosti. Stupanj akumulacije organske tvari u morskim sedimentima koreliran je s primarnom proizvodnjom autotrofnih organizama, stopom sedimentacije i količinom unesenih terigenih i antropogenih materijala. U sjevernom Jadranu, postotak sadržaja organske tvari u sedimentima pokazuje značajne prostorne razlike, s najvećim razinama kraj ušća rijeke Po (do 1,5%), dok je prosječan raspon organskog materijala ispred zapadne obale Istre između 0,7 i 0,8% suhe tvari (Faganeli i sur., 1994). Sedimenti u uvali Valdibora sadržavali su od 3 do 12% organske tvari. Takve su vrijednosti jako visoke za Jadran i slične su onima registriranim u brazilskim mangrovama (od 4% do 7% organske tvari) (Sanders i sur., 2012) ili u sedimentima estuarija na otoku Borneo (oko 7% organske tvari) (Hossain i sur., 2014). Prema istraživanjima provedenih od strane Hossaina i sur.(2014) sedimenti koji sadrže manje od 4% organske tvari

smatraju se siromašnima a oni sa više od 5% kategoriziraju se kao obogaćeni organskom tvari.

Stoga je veći dio sedimenata u uvali Valdibora bio bogat organskom tvari, pogotovo u jugozapadnom dijelu kraj starogradske jezgre (Slika 22.). Prisutnost izvora industrijskog organskog onečišćenja koji se već oko 120 godina intenzivno slijeva na južnoj strani uvale i utjecaj otpada i otpadnih voda staroga grada koje se u tom dijelu uvale ispuštaju stoljećima predstavljaju glavni razlog obogaćenja organskom tvari istraženog područja. Granulometrijski sastav sedimenta je svakako utjecao na postojanost organskog materijala i na njegovu distribuciju unutar uvale. Kraj staroga grada (G1 i G2) prevladava veći udio sitno zrnate frakcije u odnosu na postaje ispred tvornice za preradu ribe (M0 i M1), stoga ono je područje bilo pogodnije za akumulaciju i zadržavanje organske tvari. Dodatno, područje kraj industrijskog ispusta je plitko (oko 5m) i jako izloženo valovima zbog čega dolazi do česte resuspenzije sedimenta koja ubrzava procese oksidacije organske tvari. Valja napomenuti da značajne količine organske tvari unutar sedimenta pospješuju kemijsku i biološku potrošnju kisika i na taj način stvaraju negativni redoks potencijal. U takvim uvjetima razgradnja organske tvari veoma je spora, stoga se očekuje njeno dugotrajno zadržavanje u sedimentima uvale.



Slika 22. Raspodjela organske tvari (% suhe tvari) u površinskom sedimentu uvale Valdibora

3.7. Steroli u sedimentu

Koprostanol (COP) i povezani steroli 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). Prosječna osoba svakodnevno izluči oko jedan gram koprostanola (Walker i sur., 1982) koji može završiti u moru putem kanalizacijskog sustava. 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 i srodnih sterola u sedimente gdje se u anaerobnim uvjetima mogu dugoročno očuvati (Isobe i sur., 2002). U literaturi, osim apsolutne koncentracije koprostanola koristi se omjer koprostanola i ukupnih sterola koji pruža korisne informacije o stupnju onečišćenja u sustavima gdje postoje različiti izvori organske tvari (Noblet i sur., 2004). Vrijednosti omjera koprostanola i ukupnih sterola $>6\%$ označavaju prisutnost fekalne kontaminacije. Također, omjer stanola, (koprostanol/(koprostanol+kolestanol)) omogućava identifikaciju prisutnosti fekalanog materijala u sedimentu. Vrijednosti $> 0,7$ upućuju na fekalno porijeklo organskog materijala.

Nakon odlaganja u okoliš ili tijekom obrade otpadnih voda koprostanol se može pretvoriti u svoj epimerni oblik, epikoprostanol (eCOP), proizvod anaerobne mikrobne razgradnje. Stoga se omjer epikoprostanola i koprostanola koristi za procjenu stupnja obrade otpadnih voda ili starost fekalnog materijala u okolišu (Martins i sur., 2007; Mudge i Seguel, 1999). Generalno, vrijednosti omjera eCOP/COP $<0,2$ označavaju neobrađeni ili vrlo recentni otpadni materijal dok su razine veće od 0,8 znak efikasne obrade ili starog materijala (Martins i sur. 2007).

U površinskim sedimentima uvale Valdibora ukupni steroli i koprostanol varirali su između 2,33 - 36,90 $\mu\text{g/g}$ suhe tvari i 0,09-3,70 $\mu\text{g/g}$ suhe tvari. U unutrašnjem dijelu uvale koncentracije koprostanola bile su iznad razine od 0,1 $\mu\text{g/g}$ suhe tvari koja se smatra kao referentna za nekontaminirana urbana priobalna područja (Kelly 1995, Carreira i sur., 2004). Najviše razine koprostanola (Slika 23. a)) registrirane su na postaji M1, na 50 m od industrijskog ispusta zbog taloženja i akumulacije masnog materijala iz tvornice za preradu ribe. Na postaji M0 kod samog industrijskog ispusta zbog turbulencije vodenog stupca, pličine mora i grubo zrnatog sastava sedimenta, akumulacija ispuštenog materijala bila je otežana. Kod gradskih ispusta koncentracija koprostanola također je bila povećana u odnosu

na ostale postaje. U svakom slučaju maksimalne razine koprostanola u Valdibori bile su ispod koncentracije od 9 $\mu\text{g/g}$ suhe tvari, koja se smatra pokazateljem značajne fekalne kontaminacije (Nichols i Leeming, 1991). Usporedbom sa drugim istraživanjima, vidi se da su izmjerene koncentracije koprostanola bile slične onima pronađenim u sedimentima pokraj naseljenih područja u Indokini (1,4 – 15,5 $\mu\text{g/g}$ suhe tvari, Isobe i sur., 2002) i u kontaminiranim sedimentima Venecijanske lagune (0,2 – 41 $\mu\text{g/g}$ suhe tvari, Shervin i sur. 1993).

Omjer koprostanola i ukupnih sterola (Slika 23. d)) bio je visok (0,23) samo na postaji B0 koja je bila usporediva s onečišćenim postajama u uvali Cuvi pod utjecajem glavnog gradskog kolektora kanalizacije. Na svim drugim postajama u Valdibori omjeri koprostanola i ukupnih sterola bili su niski i ukazali su na prisutnost umjerene fekalne kontaminacije u obalnom pojasu do 300 m od obale. Vrijednosti omjera stanola (Slika 23.c)) također su potvrdile prisutnost ljudskog fekalnog onečišćenja samo na području oko ispusta bolničkog naselja.

Koprostanol je dominirao među sterolima samo na postaji B0 dok je kolesterol bio glavni sterol na ostalim postajama (VB, B2, K1, M0, M1 i M2) (Slika 23. b)) ili je imao slične koncentracije kao betasitosterol.

Betasitosterol koji generalno ima porijeklo iz kopnenih biljaka dominirao je profilom sterola na postajama B1, G1 i G2. Izmjerene koncentracije betasitosterola u uvali Valdibora bile su slične onima na obalama središnjeg Čilea (0,01-2,01 $\mu\text{g/g}$) (Saavedra i sur., 2014) na područjima pod utjecajem rijeka, industrije papira i otpadnih voda. Ovi podaci potvrđuju važan kopneni doprinos organske tvari u sedimentima uvale.

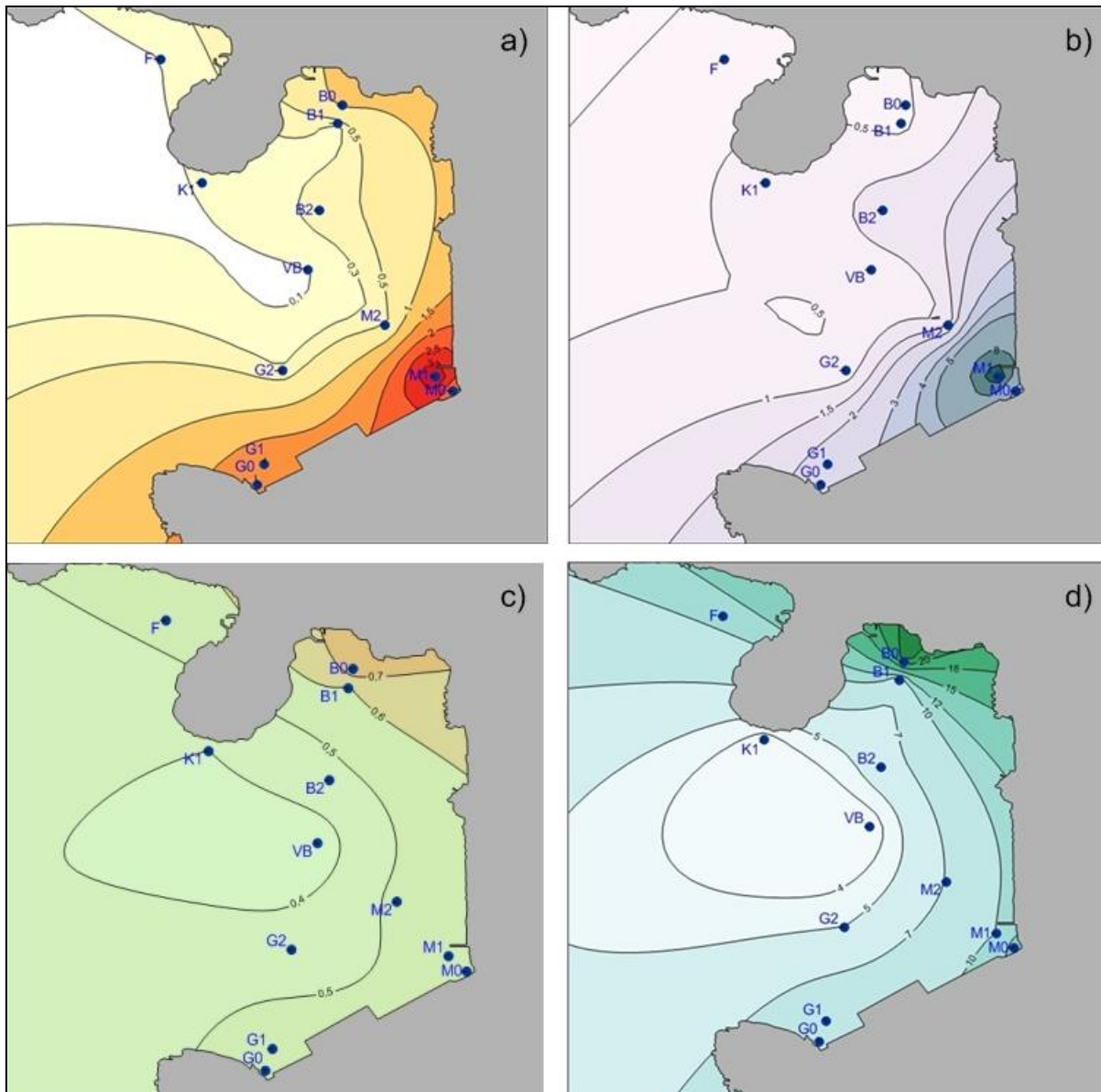
Profil sterola izvornih otpadnih (Tablica 8.) voda iz tvornice za preradu ribe pokazao je da one sadrže izrazito visoku koncentraciju kolesterola, i značajnu koncentraciju betasitosterola. Ove se vode znatno razlikuju od gradskih kanalizacijskih otpadnih i sadržavaju malu količinu koprostanola što ukazuje na niski sadržaj ljudskog fekalnog materijala.

Vrijednosti omjera eCOP/COP (Tablica 8.) u sedimentima su se kretale u rasponu od 0,29 do 3,75. Budući da otpadne vode nisu bile tretirane, ovi omjeri nam govore isključivo o starosti organskog materijala u sedimentu. Na postajama M0, M1 i B0 vrijednosti omjera su bile relativno niske. Prema tome na ovim lokacijama fekalni organski materijal je imalo relativno recentno porijeklo. Na postaji G1 vrijednosti omjera su ukazale na povremenu prisutnost fekalnog materijala dok se na ostalim lokacijama radilo o starim tragovima onečišćenja.

UTJECAJ OTPADNIH VODA - UVALA VALDIBORA

Tablica 8. Steroli i njihovi omjeri u površinskim sedimentima (0-5 cm) uvale i u partikulatnom materijalu otpadnih voda tvornice za preradu ribe u Valdibori (ISP). Koncentracije u sedimentu su izražene u $\mu\text{g/g}$ dw a za partikulatni material u $\mu\text{g/L}$. COP – koprostanol, eCOP – epikoprostanol, CHL – kolesterol, CHNOL – kolestanol, b-SIT – beta sitosterol, Σ – ukupni steroli, omjer stanola – (COP/COP+CHNOL).

Postaja	COP	eCOP	CHL	CHNOL	b-SIT	Σ	COP/ Σ	COP/ CHL	eCOP/ COP	Omjer stanola
ISP	2,16	5,3	1019,19	38,71	247,8	1542,7	0,001	0,002	2,45	0,05
M0	1,9	0,9	3,51	1,86	0,9	14,97	0,13	0,54	0,47	0,51
M1	3,7	1,08	12,17	3,49	2,36	36,9	0,1	0,3	0,29	0,51
M2	0,41	0,42	1,07	0,37	0,73	5,72	0,07	0,38	1,03	0,53
VB	0,1	0,38	0,79	0,17	0,43	3,79	0,04	0,13	3,75	0,37
B0	1,21	0,34	0,45	0,38	0,49	5,3	0,23	2,69	0,28	0,76
B1	0,2	0,25	0,37	0,14	0,58	2,58	0,08	0,53	1,27	0,58
B2	0,43	0,49	1,34	0,49	1,27	6,98	0,06	0,32	1,14	0,47
K1	0,12	0,28	0,69	0,17	0,42	3,23	0,04	0,18	2,25	0,42
F	0,1	0,24	0,3	0,14	0,43	2,33	0,04	0,33	2,48	0,42
G1	1,91	1,29	2,38	1,46	4,96	21,13	0,09	0,8	0,68	0,57
G2	0,32	0,55	0,67	0,41	1,15	6,31	0,05	0,47	1,75	0,44



Slika 23. Raspodjela fekalnih sterola i njihovih omjera u sedimentima uvale Valdibora: a) Koprostanol, b) Kolesterol, c) Omjer stanola, d) Omjer koprostanola i ukupnih sterola.

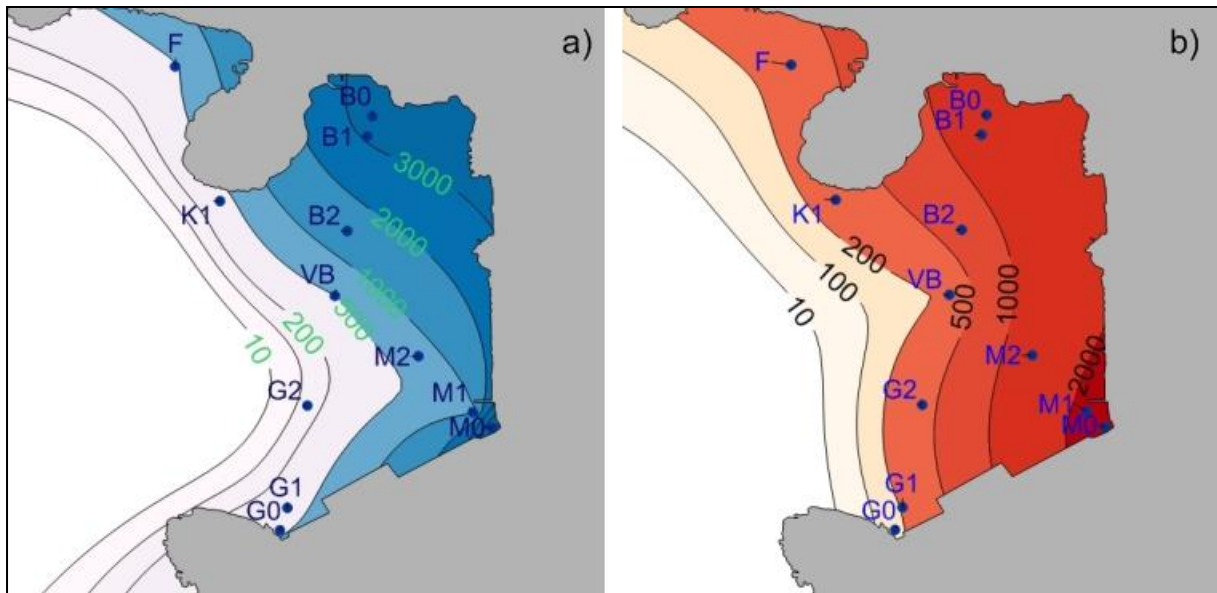
Visoke koncentracije koprostanola (Slika 23. a)) koje su zabilježene na području oko industrijskog ispusta nisu mogle biti ljudskog fekalnog porijekla budući da je u samim izvornim otpadnim vodama tvornice za preradu ribe koncentracija koprostanola bila niska i predstavljala manji udio u ukupnim sterolima. Prema tome ako se uzmu u obzir izrazito negativne vrijednosti redoks potencijala na tom području može se tvrditi da je koprostanol koji je izmjeren na postajama M0 i M1 autohtonog porijekla i zapravo prirodni proizvod dijagenetske redukcije velike količine kolesterola (Slika 23. b)).

3.8. Sanitarna kvaliteta sedimenta

Visoke koncentracije fekalnih bakterija zabilježene su u većem dijelu uvale Valdibora (Slika 24. a) i b)), a pogotovo 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). Takve su vrijednosti usporedive s onima izmjerenih kraj glavnog kanalizacijskog ispusta grada Rovinja u uvali Cuvi i ukazuju na ozbiljnu razinu kontaminacije. Udaljavanjem od izvora otpadnih voda dolazilo je do vidljivog smanjenja u koncentraciji fekalnih bakterija. Usporedbom s razinama fekalnih bakterija u vodenom stupcu može se uočiti da je njihova rasprostranjenost u sedimentu veća. Razlog tome je taj da u sedimentima bakterije su zaštićene od svjetla i predatora a istovremeno imaju pristup velikoj količini organskog materijala koji im omogućava znatno duže preživljavanje (Krstulović i Šolić, 2006).

U slučaju izvornih otpadnih voda tvornice za preradu ribe koncentracija fekalnih koliforma i streptokoka je bila ista (oko $3 \cdot 10^5$ /100 ml). Generalno otpadne vode prehrambenih industrija znaju imati visoke koncentracije fekalnih streptokoka, koje međutim ne moraju biti ljudskog porijekla. Omjer između koncentracije fekalnih koliforma i streptokoka koristi se za dobivanje dodatnih informacija o porijeklu otpadnih voda. U ljudskom fekalnom materijalu ovaj omjer iznosi oko 4 dok su manji omjeri pokazatelji miješanih izvora koji uključuju ljudski i životinjski izmet ili ispiranje zemlje. Omjeri koncentracija fekalnih indikatora u sjevernoj luci grada Rovinja kretali su se u rasponu od 1 do 2 što potvrđuje mješovitu prirodu unesenih otpadnih voda.

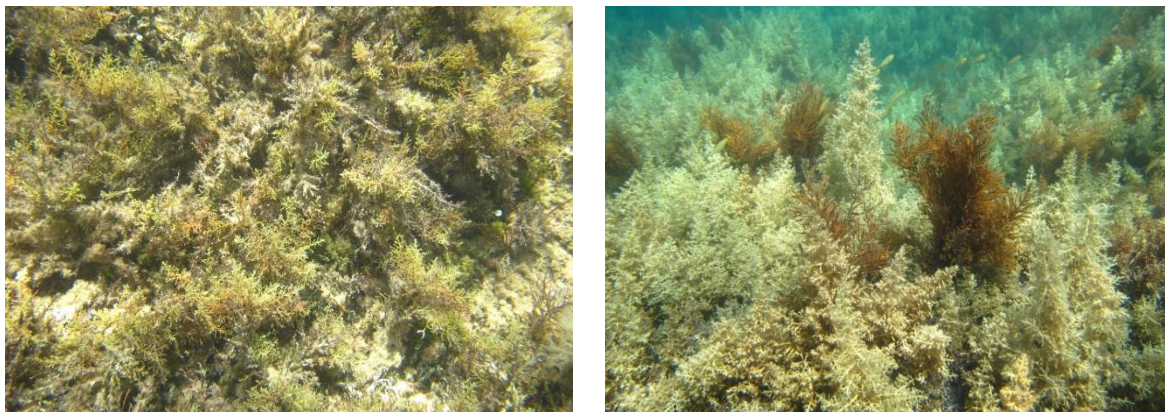
U sedimentima uvale Valdibora nisu zabilježene korelacije između koncentracije ljudskih fekalnih sterola poput koprostanola i bakterijskih indikatora fekalnog onečišćenja. Ovaj podatak potvrđuje mješovito porijeklo fekalnih bakterija u uvali te uključuje ispuštanje industrijskih voda, kanalizacije, ispiranje kopna i doprinos ptičjeg izmeta.



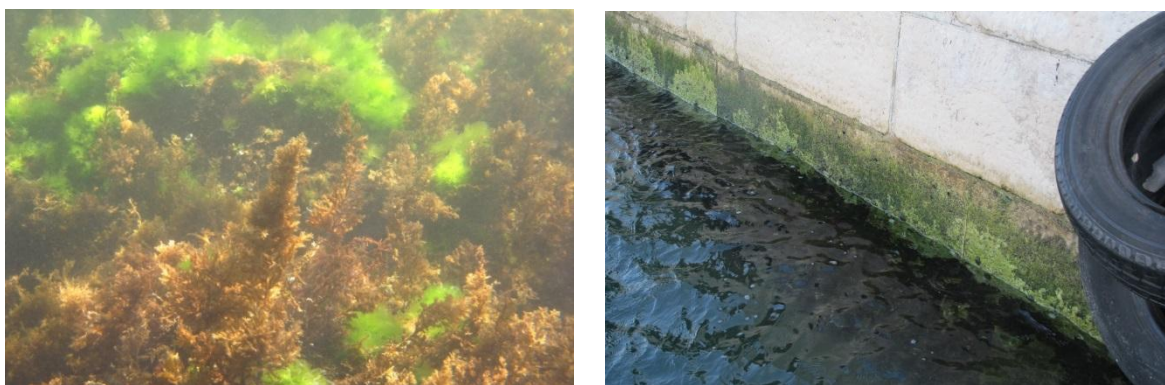
Slika 24. Raspodjela a) fekalnih koliforma i b) fekalnih streptokoka u sedimentu Valdibore.

3.9. Ekološko stanje priobalja u Uvali Valdibora na osnovi biološkog elementa kvalitete makroalge

U priobalju Rovinja kartirana su područja od Uvale Val da Liso do Luke Rovinj (Slike 25-27). Na području izvan antropogenog utjecaja (referentne postaje K1 i K2), dominirala su naselja smeđih algi roda *Cystoseira*, u kojima su prevladavale vrste *C. crinita* i *C. barbata* uz mozaična staništa vrste *C. compressa* te hridinskog ježinca *Paracentrotus lividus*. U područjima pod antropogenim utjecajem na prirodnoj obali (u obalnom pojasu postaje B0 kraj ispusta bolničkog naselja) dominirala su gusta naselja vrste *C. compressa* uz fotofilne alge među kojima su prevladavale vrste rodova *Ulva* i *Cladophora*. Na području industrijskog ispusta (postaja M0) na kamenim blokovima utvrđena je dominacija vrsta roda *Ulva* te pojedinačnih naselja hridinskog ježinca *Paracentrotus lividus*. Nadalje, na vertikalnim zidovima na istoj postaji prevladavale su zelene alge roda *Ulva* i *Cladophora* te školjkaš *Mytilus galloprovincialis*. Na području starog grada pod utjecajem kanalizacijskih ispusta zabilježen je kontinuirani pojas crvene vapnene alge *Corallina elongata* uz mjestimičnu prisutnost vrste *Mytilus galloprovincialis*, koja je bila prvenstveno rasprostranjena na vertikalnim zidovima.



Slika 25. Zajednice makroalgi zabilježene metodom CARLIT u priobalju Rovinja. U područjima izvan antropogenog utjecaja dominirala su naselja smeđe alge *Cystoseira crinita* (lijevo), i naselja vrsta *Cystoseira compressa* i *Cystoseira barbata* (desno).

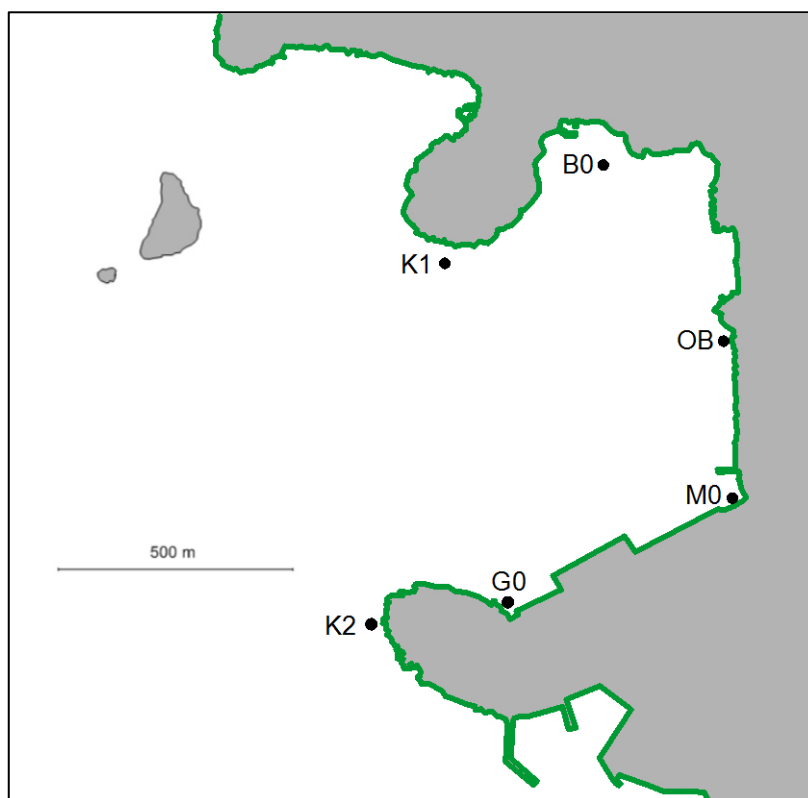


Slika 26. Zajednice makroalgi zabilježene metodom CARLIT na području Rovinja. U područjima pod antropogenim utjecajem dominirala su naselja vrste *Cystoseira compressa* zajedno s zelenim algama roda *Ulva* (lijevo), a na obalnim zidovima prevladavale su zelene alge rodova *Ulva* i *Cladophora* (desno).



Slika 27. Zajednice makroalgi zabilježene metodom CARLIT na području Rovinja. U područjima pod antropogenim utjecajem također su dominirala naselja vrste *Corallina elongata* zajedno s zelenim algama roda *Ulva* (lijevo). U referentnim područjima zabilježena su mozaična naselja hridinskog ježinca *Paracentrotus lividus* (desno).

U kasnu jesen 2014. godine na osnovi provedenog mapiranja makroalgi metodom CARLIT ekološko stanje rovinjskog priobalja od Uvale Val da Liso do Luke Rovinj je ocijenjeno kao **dobro** (Slika 28). Ukupni EQR za priobalje Uvale Valdibora iznosi 0,61. Utvrđena rasprostranjenost zajednica makroalgi u istraženom području upućuje da je utjecaj otpadnih voda na sastav makroalgi minimalan i lokaliziran samo u neposrednoj blizini ispusta.



Slika 28. Procjena ukupnog ekološkog stanja uvale Valdibora dobivena CARLIT metodom.

4. Zaključci i preporuke

Hydrografski uvjeti u vodama uvale Valdibora bili su tipični za istočno priobalje sjevernog Jadrana. Na području kod industrijskog ispusta razina saliniteta je generalno bila niža zbog unosa slatke vode dok je temperatura bila malo viša tijekom zime i malo niža tijekom ljeta također zbog unosa tvorničkih voda. Slična situacija, iako manje izražena, zabilježena je kraj kanalizacijskog ispusta bolničkog naselja. Zasićenje kisikom je također bilo najniže kraj industrijskog i kanalizacijskog ispusta ali uvijek unutar prirodnih varijacija sustava.

4.1. Smjerovi širenja i doseg fekalnog onečišćenja

U uvali Valdibora glavni izvor onečišćenja je ispust tvornice za preradu ribe koji značajno utječe na sanitarnu kvalitetu mora do udaljenosti od 120 m. Na tom području registrirane su visoke razine fekalnog onečišćenja koje su slične onima izmjerenim kraj glavnog gradskog kanalizacijskog ispusta u uvali Cuvi unatoč deset puta manjoj količini ispuštenih otpadnih voda. Prema tome sanitarna kvaliteta vodenog stupca i sedimenta na tom području nije zadovoljavajuća. Iako je profil fekalnih sterola pokazao da industrijske otpadne vode nemaju znatno ljudsko fekalno porijeklo, mikrobiološki sanitarni uvjeti vodenog stupca i sedimenta sugeriraju da je ovo područje potencijalno rizično za ljudsko zdravlje. Treba naglasiti da se na tom području nalazi i brojna populacija galebova koja svojim fiziološkim funkcijama pridonosi pogoršanju sanitarnih uvjeta.

Područje u neposrednoj blizini kanalizacijskog ispusta bolničkog naselja također nije sanitarno ispravno. Na tom dijelu indikatori fekalnog onečišćenja prelaze granične vrijednosti a profili sterola i njihovi omjeri potvrdili su da se radi konkretno o ljudskom fekalnom materijalu. Povremeno onečišćenje javlja se i kraj gradske tržnice zbog direktnog ispuštanja kanalizacijskih voda iz djela starogradske jezgre koji nisu spojeni na glavni gradski kolektor.

Fekalne bakterije u sedimentima pokazale su veću rasprostranjenost u odnosu na vodeni stupac zato što su uvjeti za njihovo preživljavanje znatno pogodniji u tom mediju radi zaštićenosti od svjetla, obilja organske tvari i veće zaštite od predatora. Fekalne bakterije u sedimentu mogu predstavljati rizik za ljudsko zdravlje uglavnom ako dođe do resuspenzije tog materijala uslijed djelovanja valova. Budući da je Valdibora dosta izložena jakim vjetrovima, smatra se da utjecaj resuspenzije fekalnih bakterija povremeno može pogoršati sanitarne uvjete u većem dijelu uvale. Ostale lokacije na kojima je provedeno istraživanje kao na primjer uvala Valdalisio, rt Muča, rt. staroga grada i središnji dio Valdibore pokazale su

dobru ili čak izvrsnu sanitarnu kvalitetu mora. Također kraj kanala oborinskih voda nije zabilježeno pogoršanje sanitarne kvalitete mora.

4.2. Procjene rizika ispuštanja otpadnih voda za ljudsko zdravlje

Indikatori fekalnog onečišćenja pokazali su da u uvali Valdibora postoji rizik za ljudsko zdravlje na 3 lokacije. Najzagađenija lokacija nalazi se u krugu od 120 m oko ispusta tvornice za preradu ribe, slijedi područje oko kanalizacijskog ispusta bolničkog naselja i plaža kraj gradske tržnice.

Područje oko industrijskog ispusta ne koristi se za kupanje i rekreaciju, prema tome kupaći ne dolaze direktno u kontakt s ovim vodama. Međutim, budući da se partikulatni masni materijal iz tih voda može širiti pod utjecajem vjetra po cijeloj uvali, postoji mogućnost da patogeni mikroorganizmi koji se nalaze na tim česticama budu transportirani i na druge lokacije. Dodatno, određeni broj ljudi redovito peca u onečišćenim vodama. Prema tome postoji rizik da se pri konzumaciji takvih riba u slučaju neadekvatne termičke obrade dođe do zaraze nekom bakterijom ili virusom.

Ispust bolničkog naselja nalazi se na 70 m od najbliže plaže. Prema tome, iako na tim plažama nisu zabilježene visoke koncentracije bakterijskih indikatora, postoji ipak rizik da kupaći dođu u kontakt s najrezistentnijim skupinama patogena poput virusa, bakterija koje stvaraju ciste ili jajašca nematoda. Također konzumacija školjkaša iz tog djela uvale mogla bi uzrokovati širenje bolesti probavnog sustava.

Na plaži kraj gradske tržnice javlja se povremeno fekalno onečišćenje. Na tom potezu otpadne vode nekoliko kuća ispuštaju se na nekoliko metara od same plaže. Ovo područje je dio gradske luke pa nije predviđeno kupanje i rekreacija. Međutim nerijetko ljudi peru ruke na toj plaži pri čemu postoji rizik da se zaraze patogenim mikroorganizmima.

4.3. Utjecaj opterećenja organskom tvari na ekosustav mora

Osim opterećenja alohtonim mikroorganizmima uvala Valdibora prima velike količine partikulatne i otopljene organske tvari koje se bez odgovarajućeg tretmana ispuštaju u more. Zbog toga u području u krugu od 300 m oko industrijskog ispusta vladaju neuobičajeni uvjeti obogaćenja organskim materijalom. Kao posljedica toga, brojnost i aktivnost mikrobne zajednice bila je značajno izmijenjena u odnosu na prirodne uvjete. Brojnost heterotrofnih bakterija u onečišćenom području prelazila je granice prirodnih varijacija za rovinjsko

priobalno more i bila je za red veličine veća u odnosu na kontrolne postaje. Pretpostavlja se da je većina zabilježenih bakterija alohtonog porijekla, odnosno da one potječu iz procesa obrade ribe ili njihovih ostataka unutar tvornice te cijevima zajedno sa dijelom ribljih ostataka dospijevaju u more.

Ostale izmjerene komponente mikrobne zajednice pokazale su suprotan trend u odnosu na bakterije, tj. broj cijanobakterija i heterotrofnih nanoflagelata bio je znatno manji na području oko industrijskog ispusta kao posljedica nepovoljnih uvjeta za njihovu fotosintetsku aktivnost i heterotrofnu ishranu.

Enzimatske aktivnosti mikrobne zajednice na području industrijskog ispusta bile su izrazito visoke dok je vrijeme razgradnje organskog materijala bilo relativno kratko ukazujući na značajnu ulogu mikroorganizama u procesima razgradnje organskog materijala. Međutim mikrobna aktivnost nije bila dovoljno brza da razgradi sav uneseni materijal, stoga je zabilježeno znatno taloženje i akumulacija masnog organskog materijala u sedimentima oko industrijskog ispusta. Akumulacijom organske tvari oko ispusta, uključujući i fekalnu, nastali su izuzetno jaki anoksični uvjeti koji su pogodni za dugotrajno očuvanje organske tvari i preživljavanje fekalnih bakterija u sedimentu. Visoke koncentracije organskog materijala u sedimentima uvale mogle bi utjecati i na akumulaciju drugih antropogenih organskih zagađivala poput ugljikovodika koji imaju značajan utjecaj na zdravlje ljudi i ekosustava.

4.4. Ekološko stanje prema CARLIT metodi

Ekološko stanje sjeverne luke grada Rovinja prema CARLIT metodi je okarakterizirano kao dobro. Antropogeni utjecaj na zajednice makroalgi bio je najviše zastupljen na umjetnoj podlozi tj. na obalnim zidovima na području od industrijskog ispusta tvornice za preradu ribe do gradske tržnice, gdje su prevladavale zelene alge roda *Ulva* i *Cladophora*. U prirodnim staništima dominirale su zajednice makroalgi roda *Cystoseira*, koje su karakteristične za područja izvan antropogenog utjecaja.

4.5. Preporuke naručitelju za daljnje postupanje

Preporučuje se redovito praćenje sanitarnih uvjeta, pogotovo tijekom ljeta na područjima koja su pokazala visoke razine onečišćenja (oko ispusta tvornice "Mirna", oko ispusta bolničkog naselja i plaže kraj gradske tržnice). Također treba pratiti sanitarnu kvalitetu na plažama u sjevernom dijelu uvale na širem području oko ispusta bolničkog naselja.

Kako bi se smanjio utjecaj na morski ekosustav potrebno je da se otpadne vode iz tvornice za preradu ribe obrade, pogotovo u pogledu smanjenja sadržaja masnoća i ostataka ribe. Na taj način osim smanjenja antropogenog pritiska na ekosustav i poboljšanja sanitarnih uvjeta pozitivno bi se utjecalo na estetsku komponentu i na smanjenje neugodnih mirisa.

Preporučuje se i ugradnja sustava za pročišćavanje otpadnih voda za bolničko naselje ili njihovo spajanje na glavni gradski kolektor kako bi se poboljšali sanitarni i estetski uvjeti u tom djelu grada. Za područje starog grada preporuča se ili spajanje na glavni gradski kolektor ili izgradnja cijevi koja bi omogućila ispuštanje kanalizacije na većoj udaljenosti od obale.

Budući da je uvala Valdibora stoljećima izložena raznim antropogenim utjecajima i da je sadržaj organske tvari u sedimentima nadprosječno visok, trebalo bi istražiti stupanj onečišćenja organskim zagađivačima poput ugljikovodika koji su često prisutni u lučkim vodama i sedimentima.

5. Popis literature

- Asnaghi, V., Chiantore, M., Bertolotto, R.M., Parravicini, V., Cattaneo-Vietti, R., Moretto, P., Privitera, D., Mangialajo, L. (2009) Implementation of the European Water Framework Directive: Natural variability associated with the CARLIT method on the rocky shores of the Ligurian Sea (Italy). *Marine Ecology an Evolutionary Perspective*, Vol. 30, pp: 505-513.
- Azam, F. (1998) Microbial control of oceanic carbon flux: The plot thickens. *Science*, Vol. 280 no. 5634, pp: 694-696.
- Ballesteros, E., Torras, X., Pinedo, S., García, M., Mangialajo, L., de Torres, M. (2007) A new methodology based on littoral community cartography dominated by macroalgae for the implementation of the European Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 55, pp: 172-180.
- Boyes, S., Elliott, M. (2006) Organic matter and nutrient inputs to the Humber Estuary, England. *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 53, pp: 136–143.
- 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.
- Caruso, G., Monticelli, L., Azzaro, F., Azzaro, M., Decembrini, F., La Ferla, R., Leonardi, M., Zaccone, R. (2005) Dynamics of extracellular enzymatic activities in a shallow Mediterranean ecosystem (Tindari ponds, Sicily). *Marine and Freshwater Research*, Vol. 56, pp: 173–188.
- Cavari, B., Colwell, R.R. (1988) Effect of pollution on the bacterial community structure in the coastal waters of the eastern Mediterranean sea. *Progress in oceanography*, Vol. 21, pp: 147-157.
- Faganeli, J., Pedzic, J., Ogorelec, B., Mišič, M., Najdek, M. (1994) The origin of sedimentary organic matter in the Adriatic. *Continental Shelf Research*, Vol. 14. No. 4, pp: 365-384.
- 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.
- Frka, S., Gašparović, B., Marić, D., Godrijan, J., Djakovac, T., Vojvodić, V., Dautović, J., Kozarac, Z. (2011) Phytoplankton driven distribution of dissolved and particulate lipids in a semi-enclosed temperate sea (Mediterranean): Spring to summer situation. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, Vol. 93, pp: 290-304.
- 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.
- Gast, G.J., Jonkers, P.J., van Duil, F.C., Back, R.P.M. (1999) Bacteria, flagellates and nutrients in island fringing coral reef waters: influence of the ocean, the reef and eutrophication. *Bulletin of marine science*, Vol. 65, pp: 523-538.
- Gonzalez-Fernandez, D., Garrido-Perez, M.C., Nebot-Sanz, E., Sales-Marquez, D. (2010) Fecal pollution in coastal marine sediments from a semi-enclosed deep embayment

- subjected to anthropogenic activities: An issue to be considered in environmental quality management frameworks development. *EcoHealth*, Vol. 7, pp: 473-484.
- Goñi, M.A., Teixeira, M.J., Perkey, D.W. (2003) Sources and distribution of organic matter in a 20 river-dominated estuary (Winyah Bay, SC, USA). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, Vol. 57, pp: 1023–1048.
- Hinchee, E.K., 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.
- Hoppe, H.G., (1983) Significance of exoenzymatic activities in the ecology of brackish water: measurements by means of methylumbelliferyl-substrates. *Marine Ecology Progress Series*, Vol. 11, pp: 299–308.
- Hoppe, H.G., Kim, S.J., Gocke, K. (1988) Microbial decomposition in aquatic environments: combined process of extracellular enzyme activity and substrate uptake. *Applied Environmental Microbiology*, Vol. 54, pp: 784–790.
- Hossain, M. B., Marshall, D. J., Venkatramanan, S. (2014) Sediment granulometry and organic matter content in the intertidal zone of the Sungai Brunei estuarine system, northwest coast of Borneo. *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences*, Vol. 9, pp: 231-239.
- Ingraham, J.L., Maaloe, O., Neihardt, F.C. (1983) Growth of the bacterial cell. Sinauer Assoc., Sunderland Massachusetts.
- 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., Paliaga, P., Matošović, 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.
- Jeftić, Lj., Degobbis, D. (1978) Istraživanje ekološke situacije mora na području grada Poreča - Završni elaborat. Centar za Istraživanje Mora Rovinj, Institut Ruđer Bošković.
- 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.
- Krstulović, N., M. Šolić. (2006) Mikrobiologija mora. Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split. 317 str.
- 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.
- Manini, E., Fiordelmondo, C., Gambi, C., Pusceddu, A., Danovaro, R. (2003) Benthic microbial loop functioning in coastal lagoons: a comparative approach. *Oceanologica Acta*, Vol. 26, pp: 27–38.

- Marić, D., Frka, S., Godrijan, J. Tomažić, I., Penezić, A., Djakovac, T., Vojvodić, V., Precali, R., Gašparović, B. (2013) Organic matter production during late summer–winter period in a temperate sea. *Continental Shelf Research*, Vol. 55, pp: 52-65.
- 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.
- McLusky, D., Elliott, M. (2004) The estuarine ecosystem: Ecology, Threats, and Management. 3rd edition. Oxford University Press.
- Mudge, S.M., Seguel, C.G. (1999) Organic contamination of San Vicente Bay, Chile. *Marine pollution bulletin*, Vol.38, pp: 1011-1021.
- MICROMERITICS (2002) SediGraph 5100 Particle size analysis system operator' manual, Micromeritics Instrument Corporation, Norcross, Georgia.
- 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.
- NN 87/2010 (2010) Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda. Prilog 1., Tablica 2b.
- Noblet, J.A., Young, D.L., Zeng, E.Y., 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.
- Porter, K.G., Feig, Y.S. (1980) The use of DAPI for identification and counting aquatic microflora. *Limnology and oceanography*, Vol. 25, pp: 943-984.
- Robertson, S. (2011) Direct estimation of organic matter by loss of ignition: methods. Simon Fraser University, soil science laboratory.
- Saavedra, L., Quinones, R. A., Becerra, J. (2014) Distribution and sources of phytosterols in coastal and river sediments of south-central Chile. *Latin American Journal of Aquatic Research*, Vol. 42 (1), pp: 61-84.
- 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.
- Sanders, C. J., Smoak, J. M., Waters, M. N., Sanders, L. M., Brandini, N., Patchineelam, S. R. (2012) Organic matter content and particle size modifications in mangrove sediments as responses to sea level rise. *Marine environmental research*, Vol. 77, pp: 150-155.
- Shiah, F.K., 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.
- Smith, D.C., Azam, F. (1992) A simple, economical method for measuring bacterial protein synthesis rates in seawater. *Marine microbial food webs*, Vol. 6, pp: 107-114.

- Sherr, E, Sherr, B. (2000) Marine microbes: an overview. *Microbial ecology of the oceans* pp: 13-46.
- Sherwin, M.R., Van Vleet, E.S., Fossato, V.U., Dolch, F. (1993) Coprostanol (5 β -cholestan-3 β -ol) in lagoonal sediments and mussels of Venice, Italy. *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 26, pp: 501-507.
- Sommaruga R, Kandolf G (2014) Negative consequences of glacial turbidity for the survival of freshwater planktonic heterotrophic flagellates. *Scientific Reports*, Vol. 4, pp: 4113.
- 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., Krstulović, N. (1994) Role of predation in controlling bacterial and heterotrophic nanoflagellate standing stocks in the coastal Adriatic Sea: seasonal patterns. *Marine ecology progress series*, Vol. 114, pp: 219-235.
- 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.
- 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.
- Waterbury, J.B., Stanier, R.J. (1981) Isolation and growth of cyanobacteria from marine and hypersaline environments. *The prokaryotes*. Springer Berlin Heidelberg pp: 221-223.
- 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 II Bacteriological indicator organisms. Long-term Programme for Pollution Monitoring and Research in the Mediterranean Sea (Med/POL Phase II).

6. Aneks

Pomoćna tablica 1. Redoks potencijal (mV) izmjeren na svakom centimetru dubine u sedimentima Valdibore.

Postaja	voda	1 cm	2 cm	3 cm	4 cm	5 cm	6 cm	7 cm	8 cm	9 cm	10 cm
M0	55	-283	-292	-309	-320	-343	-331	-342	-361	-370	-372
M1	69	-114	-285	-291	-299	-300	-319	-324	-333	-338	-340
M2	85	-142	-151	-168	-164	-189	-212	-213	-215	-219	-220
VB	56	-168	-152	-155	-158	-158	-157	-163	-177	-169	-172
K1	120	105	98	82	61	58	43	31	23	15	2
F	62	12	6	-240	-263	-282	-296	-312	-315	-320	-324
G1	-142	-185	-230	-281	-286	-290	-315	-345	-346	-342	-350
G2	-122	-159	-176	-190	-197	-208	-213	-217	-224	-228	-236
B0	5	-46	-72	-185	-254	-270	-283	-302	-315	-345	-362
B1	56	-90	-186	-228	-248	-253	-265	-272	-278	-280	-281
B2	87	-130	-143	-159	-164	-183	-197	-210	-229	-250	-269

Pomoćna tablica 2. Sadržaj organske tvari i koncentracija fekalnih bakterija (FK-fekalni koliformi; FS-fekalni streptokoki) na 100g sedimenta.

Postaja	E (HTRS96/TM)	N (HTRS96/TM)	FK/100g	FS/100g	%Organske tvari
M0	274879	4998029	5400	2800	8,6
M1	274842	4998070	700	2200	9,4
M2	274686	4998260	500	340	6,1
VB	274491	4998486	490	220	7,0
B0	274645	4999159	3500	1400	3,6
B1	274633	4999110	500	600	3,7
B2	274573	4998870	170	220	6,8
K1	274202	4998830	350	300	5,7
F	274026	4999415	490	320	2,9
G1	274304	4997802	330	210	12,2
G2	274363	4998039	260	170	12,2

Pomoćna tablica 3. Koordinate postaja i osnovni hidrografski parametri (temperatura, salinitet i zasićenje kisikom) vodenog stupca za zimsko razdoblje 2015.

Postaja	E (HTRS96/TM)	N (HTRS96/TM)	Dubina	Temp (°C)	Sal	Oxy %
M0	274879	4998029	0m	12,73	34,69	88,20
M0	274879	4998029	5m	11,10	35,85	88,50
M1	274842	4998070	0m	11,22	36,87	91,40
M1	274842	4998070	5m	10,82	37,82	90,14
M2	274686	4998260	0m	10,74	37,84	94,40
M2	274686	4998260	5m	10,70	37,92	94,40
VB	274491	4998486	0m	10,23	37,29	94,40
VB	274491	4998486	5m	10,41	37,76	94,35
K1	274202	4998830	0m	10,62	37,76	95,30
K1	274202	4998830	5m	10,60	37,82	95,10
G0	274291	4997753	0m	10,00	37,24	97,20
G0	274291	4997753	5m	10,74	34,85	96,00
G1	274304	4997802	0m	10,40	37,20	94,31
G1	274304	4997802	5m	10,62	37,88	94,31
G2	274363	4998039	0m	10,41	37,89	95,41
G2	274363	4998039	5m	10,50	37,83	95,41
B0	274645	4999159	0m	11,31	35,45	91,16
B0	274645	4999159	5m	11,24	36,85	91,10
B1	274633	4999110	0m	10,93	37,62	96,60
B1	274633	4999110	5m	10,81	37,88	96,10
B2	274573	4998870	0m	10,71	37,86	96,75
B2	274573	4998870	5m	10,73	37,86	96,75
F	274026	4999415	0m	10,63	37,82	94,20
F	274026	4999415	5m	10,63	37,84	94,20
OB	274934	4998557	0m	10,31	37,83	92,40
BP	274908	4999148	0m	10,82	37,84	92,01
BP	274908	4999148	5m	10,76	37,74	
FP	274115	4999525	0m	10,68	37,79	93,32
FP	274115	4999525	5m	10,69	37,81	
K2	273943	4997774	0m	10,01	37,51	96,10
K2	273943	4997774	5m	10,05	38,10	96,10

Pomoćna tablica 4. Koordinate postaja i osnovni hidrografski parametri (temperatura, salinitet i zasićenje kisikom) vodenog stupca za ljetno razdoblje 2015.

Postaja	E (HTRS96/TM)	N (HTRS96/TM)	Dubina	Temp (°C)	Sal	Oxy %
M0	274879	4998029	0m	24,30	31,70	91,20
M0	274879	4998029	5m	24,09	35,84	97,13
M1	274842	4998070	0m	25,43	35,45	96,20
M1	274842	4998070	5m	24,13	35,96	99,40
K*	274798	4998122	0m	26,51	35,42	
K*	274798	4998122	5m	24,16	35,97	
M2	274686	4998260	0m	27,82	35,49	100,10
M2	274686	4998260	5m	24,16	35,98	109,20
VB	274491	4998486	0m	27,93	35,46	109,10
VB	274491	4998486	5m	24,13	35,99	111,60
K1	274202	4998830	0m	27,84	35,40	109,20
K1	274202	4998830	5m	24,15	35,97	112,10
G0	274291	4997753	0m	27,11	35,30	99,50
G0	274291	4997753	5m	24,10	36,01	109,00
G1	274304	4997802	0m	28,02	35,24	108,90
G1	274304	4997802	5m	24,15	36,01	109,80
G2	274363	4998039	0m	28,19	35,32	108,80
G2	274363	4998039	5m	24,16	36,03	109,60
B0	274645	4999159	0m	26,31	35,10	96,00
B0	274645	4999159	5m	24,15	35,73	99,80
B1	274633	4999110	0m	27,83	35,33	105,00
B1	274633	4999110	5m	24,15	36,01	105,80
B2	274573	4998870	0m	27,93	35,27	107,00
B2	274573	4998870	5m	24,19	36,02	108,30
F	274026	4999415	0m	28,10	35,49	104,30
F	274026	4999415	5m	24,22	36,65	108,70
OB	274934	4998557	0m	28,10	35,21	104,00
BP	274908	4999148	0m	28,47	35,41	97,10
BP	274908	4999148	5m	24,12	35,98	101,20
FP	274115	4999525	0m	28,37	35,37	103,00
FP	274115	4999525	5m	24,34	36,66	105,00
K2	273943	4997774	0m	27,60	35,32	108,00
K2	273943	4997774	5m	24,20	36,51	111,00

Pomoćna tablica 5. Mikrobiološki podaci (HB/L-broj heterotrofnih bakterija/l; CYB/ml-broj cijanobakterija /ml; HNF/ml-broj heterotrofnih nanoflagelata/ml; FK-broj fekalnih koliforma/100 ml; FS-broj fekalnih streptokoka/100ml) i podaci bakterijske proizvodnje (sTdR-specifična ugradnja timidina po stanici; sLeu-specifična ugradnja leucina po stanici) za zimsko razdoblje 2015.

Postaja	E (HTRS96/TM)	N (HTRS96/TM)	Dubina	HB/l	CYB/ml	HNF/ml	FK/ 100ml	FS/ 100ml	sTdR (zmol/l/cell)
M0	274879	4998029	0m	5,68E+09	21543	2902	7400	6900	0,76
M0	274879	4998029	5m	5,4E+08	17500	2755	176	58	5,71
M1	274842	4998070	0m	4,42E+08	19922	2580	145	362	6,62
M1	274842	4998070	5m	4,09E+08	18992	2533	4	48	5,47
M2	274686	4998260	0m	4,39E+08	20343	2653	2	42	8,01
M2	274686	4998260	5m	4,32E+08	17987	2911	2	13	7,13
VB	274491	4998486	0m	4,08E+08	14322	1897	2	38	10,39
VB	274491	4998486	5m	3,98E+08	13307	1354	2	17	4,53
K1	274202	4998830	0m	3,75E+08	16200	2153	1	12	7,53
K1	274202	4998830	5m	3,06E+08	15880	1569	1	1	9,44
G0	274291	4997753	0m	4,6E+08	15432	2380	1210	1130	7,03
G0	274291	4997753	5m	4,3E+08	16324	2123	50	58	10,61
G1	274304	4997802	0m	4,17E+08	16232	2693	180	33	11,13
G1	274304	4997802	5m	5,06E+08	16900	2087	2	1	7,99
G2	274363	4998039	0m	3,37E+08	13489	2602	1	47	13,8
G2	274363	4998039	5m	5,35E+08	13769	2502	2	20	7,33
B0	274645	4999159	0m	1,24E+09	20243	2760	1700	1120	2,22
B0	274645	4999159	5m	1,16E+09	28043	2760	1420	1310	3,43
B1	274633	4999110	0m	7,11E+08	15345	2765	10	180	2,04
B1	274633	4999110	5m	5,89E+08	14455	2765	8	45	10,22
B2	274573	4998870	0m	3,6E+08	17432	2534	3	29	10,4
B2	274573	4998870	5m	4,37E+08	17874	2534	8	1	9,42
F	274026	4999415	0m	4,19E+08	15230	2342	4	2	8,5
F	274026	4999415	5m	3,41E+08	14230	1843	3	7	15,17
OB	274934	4998557	0m	3,37E+08	19543	1576	1	2	9,6
BP	274908	4999148	0m	3,1E+08	22010	2481	2	2	
BP	274908	4999148	5m	3,1E+08			1	1	
FP	274115	4999525	0m	4,1E+08	14201	2360	1	1	
FP	274115	4999525	5m	3,2E+08			1	1	
K2	273943	4997774	0m	3,83E+08	14143	1500	150	210	
K2	273943	4997774	5m	4,26E+08	14300	1802	2	13	

Pomoćna tablica 6. Mikrobiološki podaci (HB/L-broj heterotrofnih bakterija/l; CYB/ml-broj cijanobakterija /ml; HNF/ml-broj heterotrofnih nanoflagelata/ml; FK-broj fekalnih koliforma/100 ml; FS-broj fekalnih streptokoka/100ml) i podaci bakterijske proizvodnje (sTdR-specifična ugradnja timidina po stanici; sLeu-specifična ugradnja leucina po stanici) za ljetno razdoblje 2015.

Postaja	E (HTRS96/TM)	N (HTRS96/TM)	Dubina	HB/l	CYB/ml	HNF/ml	FK/ 100ml	FS/ 100ml	sTdR (zmol/l/cell)	sLeu (zmol/l/cell)
M0	274879	4998029	0m	5,32E+09	38.373	608	12800	6500	2,38	61,20
M0	274879	4998029	5m	2,63E+09	25.490	1.104	500	1000	1,91	175,87
M1	274842	4998070	0m	3,34E+09	45.419	972	1100	690	4,02	63,01
M1	274842	4998070	5m	6,01E+08	39.841	1.097	340	60	5,89	81,21
K*	274798	4998122	0m	2,48E+09	49.352	1.230	190	380	12,63	67,98
K*	274798	4998122	5m	6,81E+08	59.115	1.463	180	110	6,66	54,13
M2	274686	4998260	0m	1,25E+09	63.447	1.640	10	72	3,51	28,03
M2	274686	4998260	5m	6,13E+08	55.825	1.540	10	17	7,33	45,93
VB	274491	4998486	0m	3,55E+08	80.729	3.790	7	1	6,36	164,87
VB	274491	4998486	5m	2,64E+08	68.217	4.118	5	1	22,89	118,99
K1	274202	4998830	0m	3,09E+08	86.990	3.661	2	0	26,89	212,17
K1	274202	4998830	5m	2,41E+08	82.044	4.021	2	0	27,6	121,39
G0	274291	4997753	0m	6,19E+08	78.212	8.239	2700	2700	10,1	284,98
G0	274291	4997753	5m	4,57E+08	75.430	5.899	200	100	9,59	309,79
G1	274304	4997802	0m	7,15E+08	73.650	7.018	0	5	9,77	193,40
G1	274304	4997802	5m	3,43E+08	61.231	3.688	6	0	6,6	102,07
G2	274363	4998039	0m	5,91E+08	73.112	4.912	0	2	8,29	95,30
G2	274363	4998039	5m	6,73E+08	59.200	2.713	0	0	9,42	53,32
B0	274645	4999159	0m	1E+09	81.343	4.213	9300	5200	13,44	123,09
B0	274645	4999159	5m	6,19E+08	75.332	3.285	3200	4500	14,13	91,99
B1	274633	4999110	0m	6,31E+08	79.480	3.417	59	127	20,2	115,18
B1	274633	4999110	5m	4,41E+08	74.095	2.918	15	24	11,46	185,31
B2	274573	4998870	0m	5,8E+08	84.912	3.353	54	46	16,89	48,32
B2	274573	4998870	5m	5,58E+08	80.987	3.772	0	28	22,28	142,49
F	274026	4999415	0m	3,29E+08	91.230	4.516	14	7	34,33	83,45
F	274026	4999415	5m	2,78E+08	77.289	3.516	9	7	24,26	48,94
OB	274934	4998557	0m	3,52E+08	82.937	3.810	2	2	5,14	27,43
BP	274908	4999148	0m	5,6E+08	83.882	3.179	42	12		97,65
BP	274908	4999148	5m	6,13E+08	81.871	2.919	12	8		
FP	274115	4999525	0m	3,42E+08	89.113	4.028	25	18		68,44
FP	274115	4999525	5m	3,49E+08	89.120	4.020	10	10		
K2	273943	4997774	0m	4,1E+08	82.439	9.050	498	514		
K2	273943	4997774	5m	4E+08	76.732	5.432	12	8		

Pomoćna tablica 7. Koncentracije otopljene (DOC) i partikulatne (POC) organske tvari; enzimatske aktivnosti (APA, AMA, α glu i β glu) i vremena razgradnje organske tvari (T_{APA} , T_{AMA} , $T_{\alpha glu}$ i $T_{\beta glu}$) za zimsko razdoblje 2015.

Postaja	Dubina	POC (mg/l)	DOC (mg/l)	APAtot/nmol ⁻¹	T_{APA} /h	α glu/nmol ⁻¹	$T_{\alpha glu}$ /h	β glu/nmol ⁻¹	$T_{\beta glu}$ /h	AMA/nmol ⁻¹	T_{AMA} /h
M0	0m	48,59	58,95	0,737	5,8475	0,006	544	0,025	383	1,548	5,71
M0	5m	0,99	0,16	0,008	556,6000	0,002	3771	0,002	2447	0,030	483,78
M2	0m	23,08	2,54	0,007	454,7600	0,001	4195	0,001	19946	0,032	361,49
VB	0m	0,22	1,05	0,010	631,3600	0,001	1727	0,003	181876	0,045	374,0
K1	0m	0,12	1,00	0,011	140,0000	0,001	1997	0,001	9998	0,031	420,20
G0	0m	0,31	1,53								
G2	0m	0,13	1,12	0,012	463,4600	0,002	15222	0,001	8014	0,048	639,23
B0	0m	0,12	1,21	0,045	72,1180	0,001	2363	0,001	1692	0,018	1439,0
B0	5m	1,02	0,10	0,011	369,250	0,001	3594	0,001		0,026	683,33
B2	0m	0,11	0,97	0,002	2941,1000	0,001	2960	0,001	27544	0,010	1469,80

Pomoćna tablica 8. Koncentracije otopljene (DOC) i partikulatne (POC) organske tvari; enzimatske aktivnosti (APA, AMA, α glu i β glu) i vremena razgradnje organske tvari (T_{APA} , T_{AMA} , $T_{\alpha glu}$ i $T_{\beta glu}$) za ljetno razdoblje 2015.

Postaja	Dubina	POC (mg/l)	DOC (mg/l)	APAtot/nmol ⁻¹	T_{APA} /h	α glu/nmol ⁻¹	$T_{\alpha glu}$ /h	β glu/nmol ⁻¹	$T_{\beta glu}$ /h	AMA/nmol ⁻¹	T_{AMA} /h
M0	0m	34,67	53,98	3725,073	1,1	470,739	9	264,869	57	2186,187	7
M0	5m	1,97	0,83		13,5		8		20		161
M2	0m	1,49	0,27	55,929	32,5	42,057	81	11,731	542	46,121	
VB	0m	1,45	0,27	97,975	28,1	7,370		4,312		26,744	
K1	0m	2,76	2,05	312,026	15,4	3,344	68	16,244	317	429,723	303
G0	0m	1,61	0,43	59,400	58,4	3,506	660	2,452	157	40,321	616
G2	0m	1,52	0,25	72,771	32,3	7,158		5,064		36,459	
B0	0m	1,84	0,88	112,500	68,1	7,627	292	8,743		32,913	
B0	5m	1,56	0,21	64,563	35,7	21,089		3,268		38,548	
B2	0m	1,89	0,54	198,885	13,0	9,647	391	6,338	141	29,070	

Pomoćna tablica 9. Popis zabilježenih zajednica makroalgi i vrste *Mytilus galloprovincialis* u rovinjskom priobalju od Uvale Val da Liso do Luke Rovinj u jesen 2014. godine.

Vrste	K1	B0	OB	M0	G0	K2
<i>Cystoseira crinita</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Cystoseira barbata</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Cystoseira compressa</i>	+	+	+	-	-	+
Fotofilne alge	+	+	+	+	+	+
<i>Corallina</i> spp.	+	+	+	+	+	+
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	-	-	+	+	+	-
<i>Ulva, Cladophora</i> (sa ili bez vrste <i>Mytilus galloprovincialis</i>)	-	+	-	+	+	-