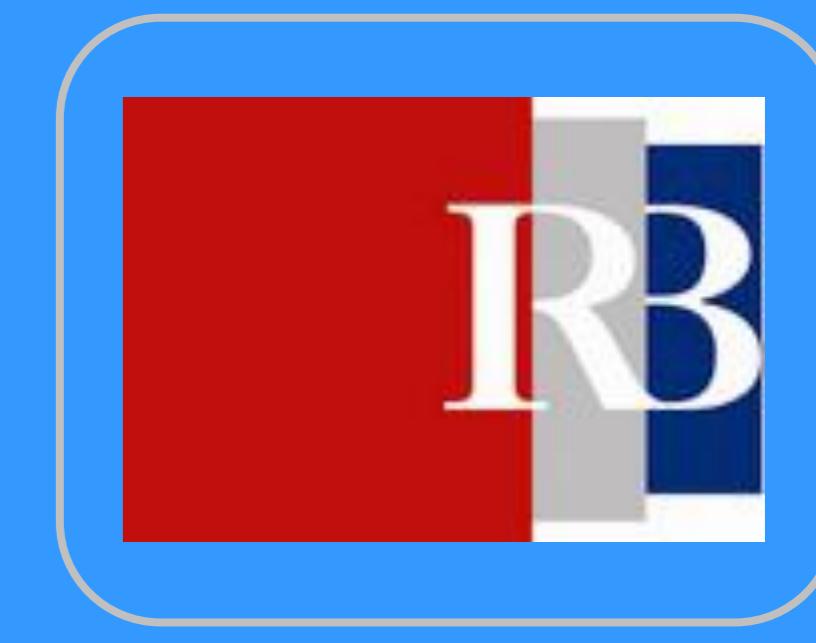


# UTJECAJ OTPADNIH VODA NA BAKTERIJSKE ZAJEDNICE U VODENOM STUPCU

T. Šilović, P. Paliaga, K. Matošović

Centar za istraživanje mora Rovinj, Laboratorij za morskou mikrobiologiju

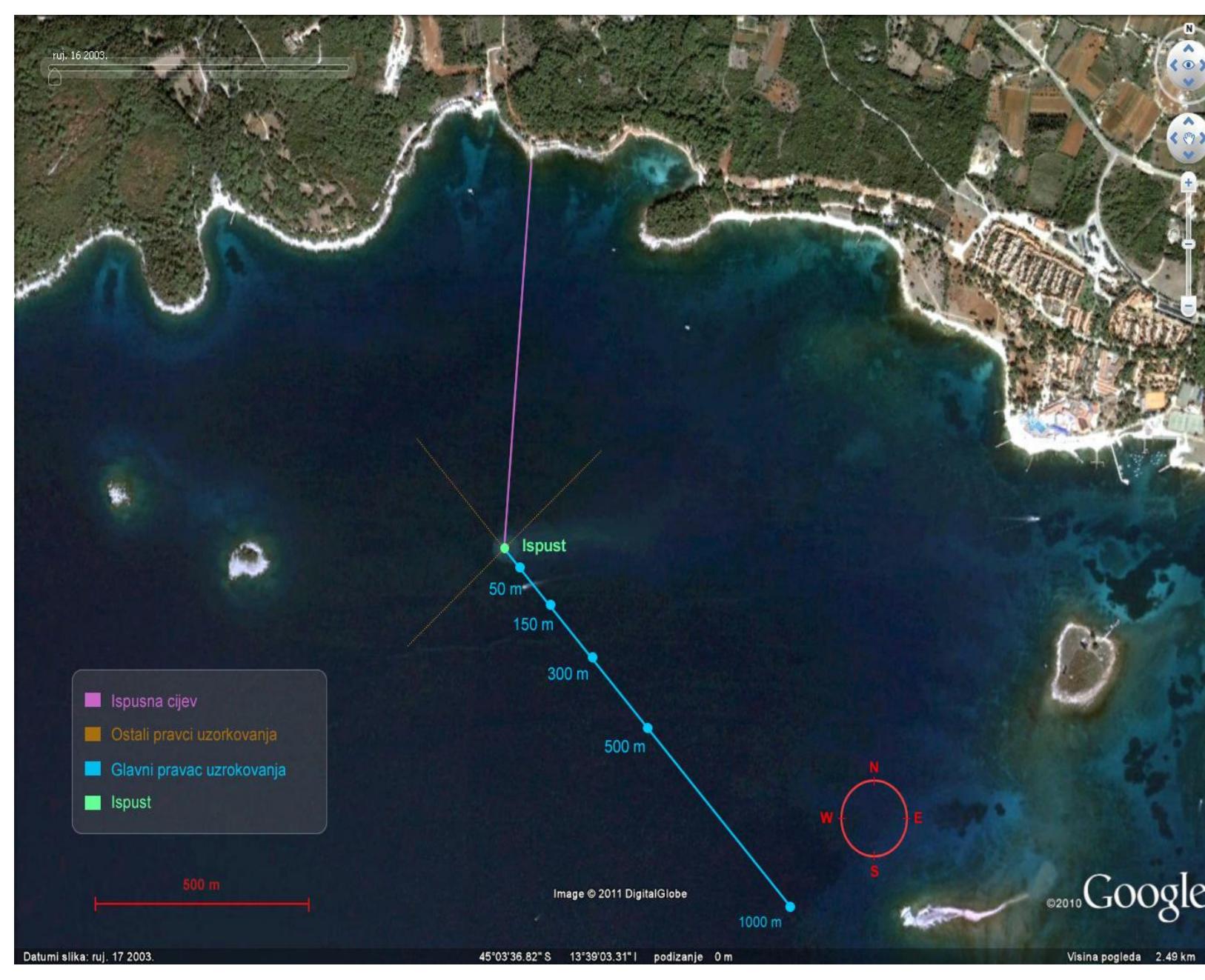


## UVOD

Ispuštanje kanalizacije u more (Slika 1) značajno utječe na kvalitetu voda u širem priobalnom pojasu. Neobrađene ili primarno obrađene otpadne vode, kakva je većina na našoj obali, obiluju visokim udjelima alohtonih bakterija među kojima prevladavaju patogeni koji predstavljaju opasnost za ljudsko zdravlje. Stoga je jako važno odrediti distribuciju patogena kako bi se procijenio rizik za ljudsko zdravlje.

Otpadne vode bogate su organskim i anorganskim tvarima te mogu sadržavati i toksične tvari poput teških metala, aromatskih spojeva i deterdženata. Promjene u sastavu morske vode mogu uzrokovati promjene u veličini, strukturi, proizvodnji i funkciji mikrobne zajednice.

Autohtona mikrobiotska zajednica daje brzi odgovor na promjene u okolišu. Stoga će nam utvrđivanje i praćenje sezonske dinamike mikrobne zajednice, te njihovo povezivanje s fizičkim i kemijskim parametrima okoliša, omogućiti bolje razumijevanje utjecaja antropogenog zagađenja na morski okoliš.



Slika 2 Područje istraživanja - uvala Kuvi

## Područje istraživanja

Priobalno područje grada Rovinja je vrlo atraktivna turistička lokacija koja u ljetnim mjesecima ugosti i do 35 tisuća turista čime se znatno povećava količina otpadnih voda.

Većina otpadnih voda grada Rovinja prolazi prvi stupanj obrade kojim se odvajaju krutine, pjesak i masnoće, a pročišćeni ostatak se oslobađa u južnom dijelu gradskog akvatorija (uvala Kuvi, Slika 2).

Hidrodinamika tog područja karakterizirana je velikim utjecajem plimnih struja i sezonskim geostrofickim gibanjima.

Vodeni stupac je tijekom topnjeg dijela godine stratificiran i stabilan s minimalnim vertikalnim miješanjem dok je u zimskom i rano-proljetnom razdoblju karakteriziran izotermijom koja omogućava vertikalno miješanje vodenog stupca.

## REZULTATI

### Sanitarna kakvoća mora

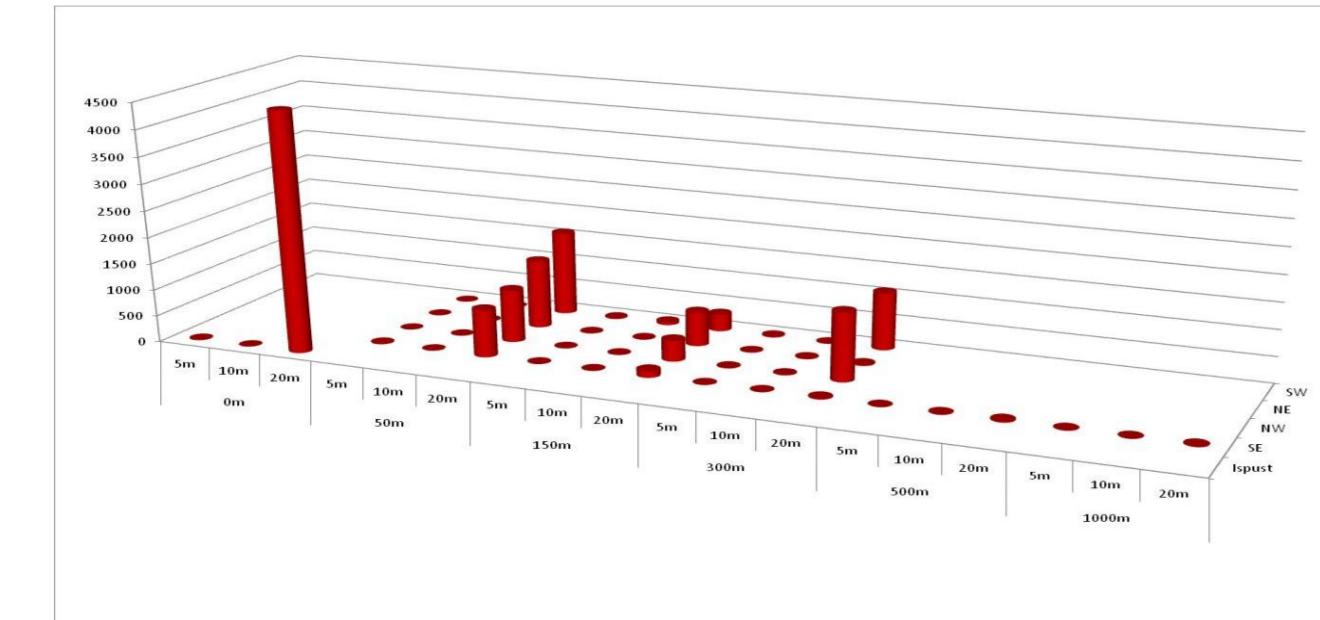
Izmjerene koncentracije fekalnih koliforma i streptokoka pokazale su da je razina i distribucija fekalnog zagađenja jako različita u zimskom i ljetnom razdoblju.

Tijekom ljeta zbog stabilnog stratificiranog vodenog stupca onečišćenje ostaje potisnuto u pridnenom sloju, te se samo tamno širi. Područje jačeg onečišćenja se proteže do 300 m od ispusta, ali već na 500 m more je nezagadeno.

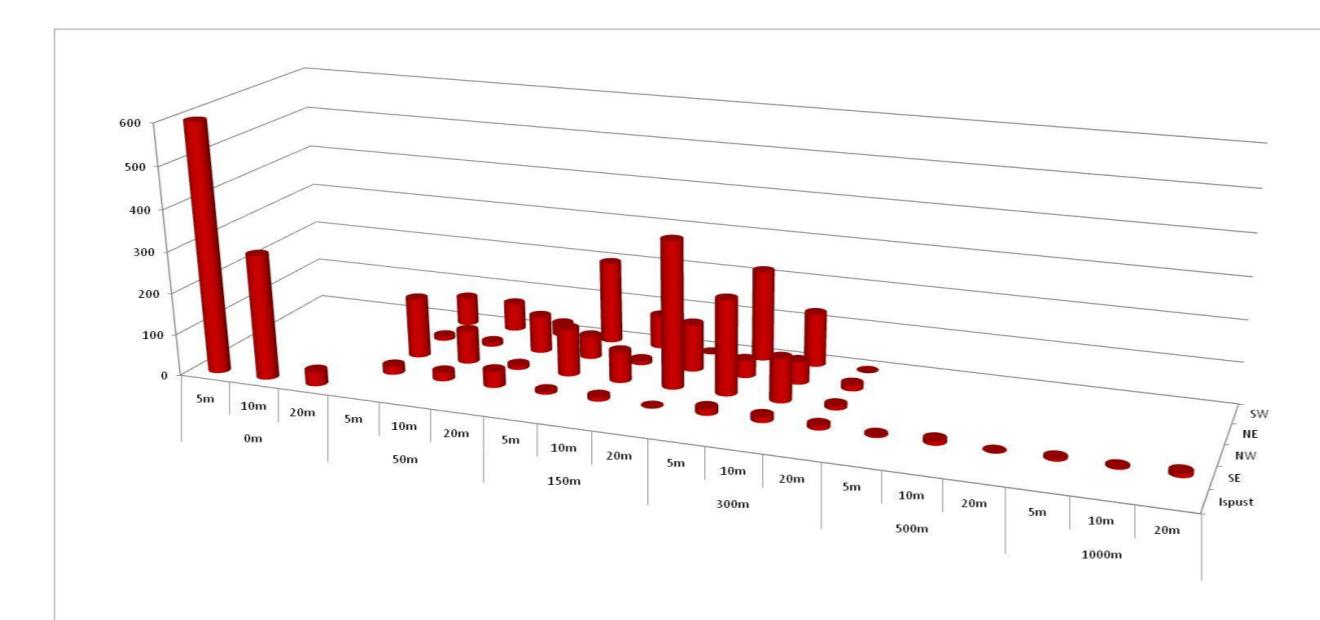
U zimskom razdoblju voden stupac je vertikalno izmješan te omogućuje širenje fekalnog zagađenja prema površini. Zimi je zagađenje koncentrirano na površini, a pri dnu je minimalno. Jačе onečišćenje se proteže do 150 m od ispusta.

Maksimalne koncentracije koliforma i streptokoka koje su zabilježene u ljetnim mjesecima (Graf 1 i Graf 2) su oko 10 puta veće od koncentracija u zimskom razdoblju (Graf 3 i Graf 4).

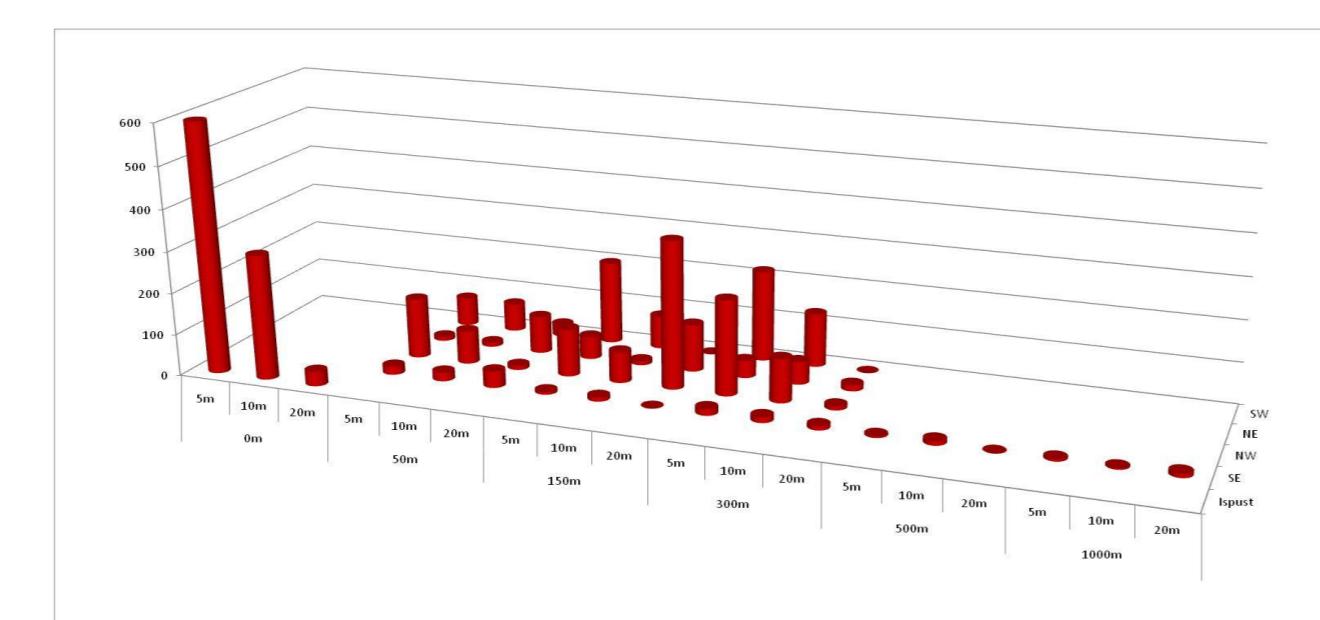
Valja istaknuti da je broj fekalnih koliforma izmjerjen na svim postajama znatno veći od broja fekalnih streptokoka tijekom cijele godine što ukazuje na recentno zagađenje. Pritom, oba indikatora pokazuju isti trend zagađenja.



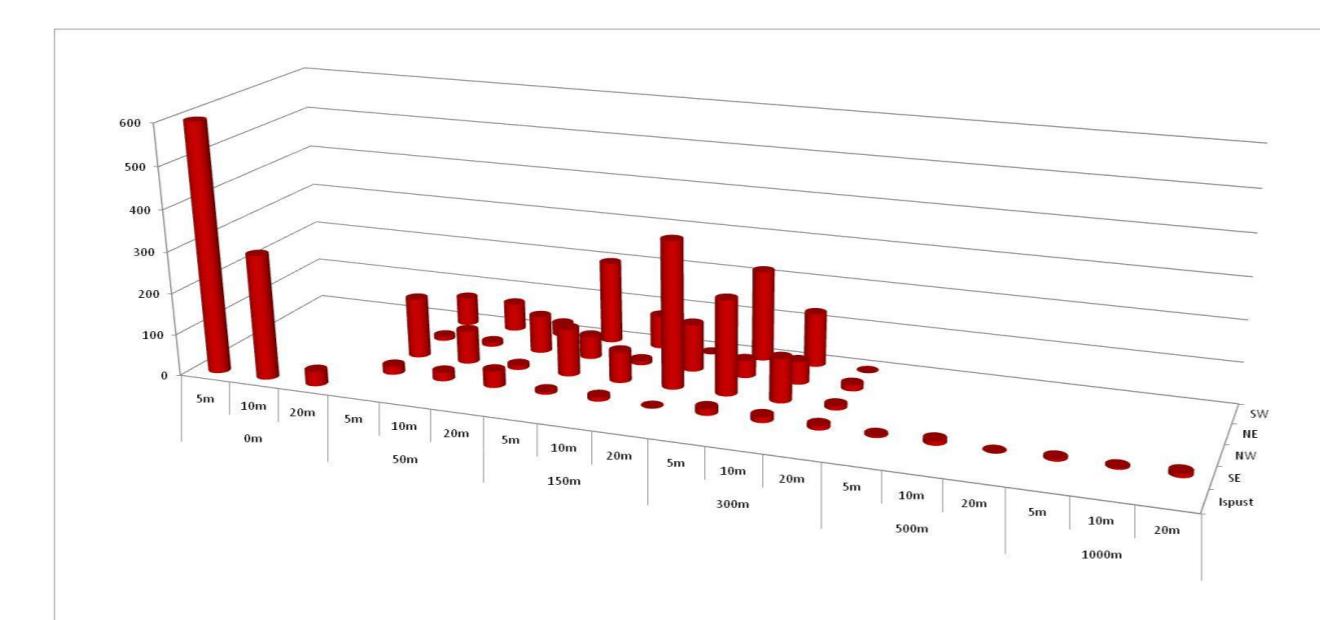
Graf 1 Fekalni koliformi/100mL – ljetno razdoblje



Graf 2 Fekalni streptokoki/100mL – ljetno razdoblje



Graf 3 Fekalni koliformi/100mL – zimsko razdoblje



Graf 4 Fekalni streptokoki/100mL – zimsko razdoblje

## CILJEVI

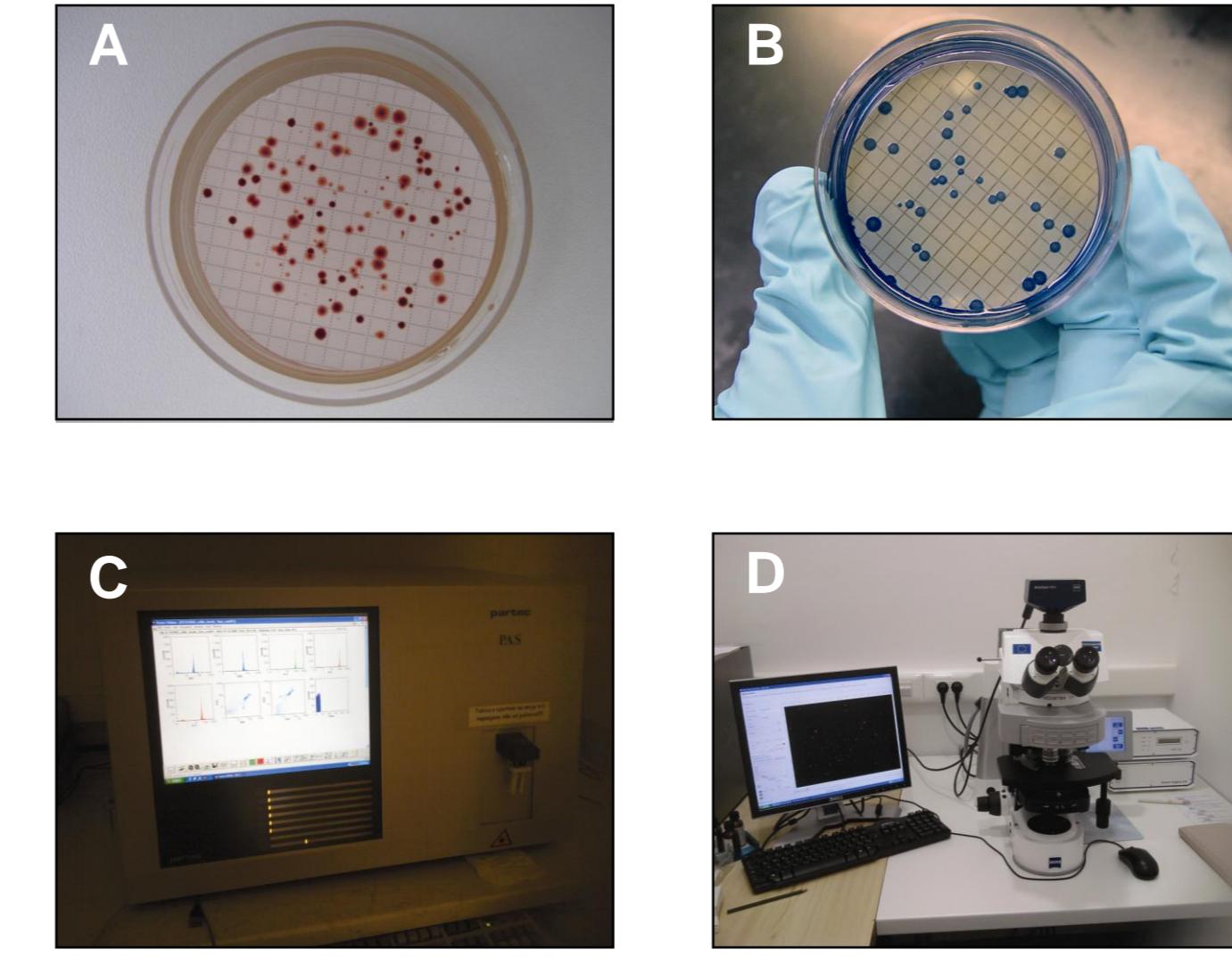
Izradom ove studije želi se odgovoriti na pitanje kako otpadne vode podmorskog ispusta Kuvi utječu na:

- sanitarnu kakvoću priobalnog područja Rovinja
- autohtonu mikrobiotsku zajednicu u okolini Kuvi koju čine pikoeukarioti, cijanobakterije i heterotrofne bakterije

Prosječna mjesечna količina ispuštenih voda ~135 000 m<sup>3</sup>!!!  
max. u kolovozu (~ 200 000 m<sup>3</sup>)  
min. u veljači (~ 85 000 m<sup>3</sup>).



Slika 1 Podmorski kanalizacioni ispust



Slika 3 A) Fekalni streptokoki; B) fekalni koliformi; C) protočni citometar; D) heterotrofne bakterije pod UV svjetlom na epifluorescentnom mikroskopu

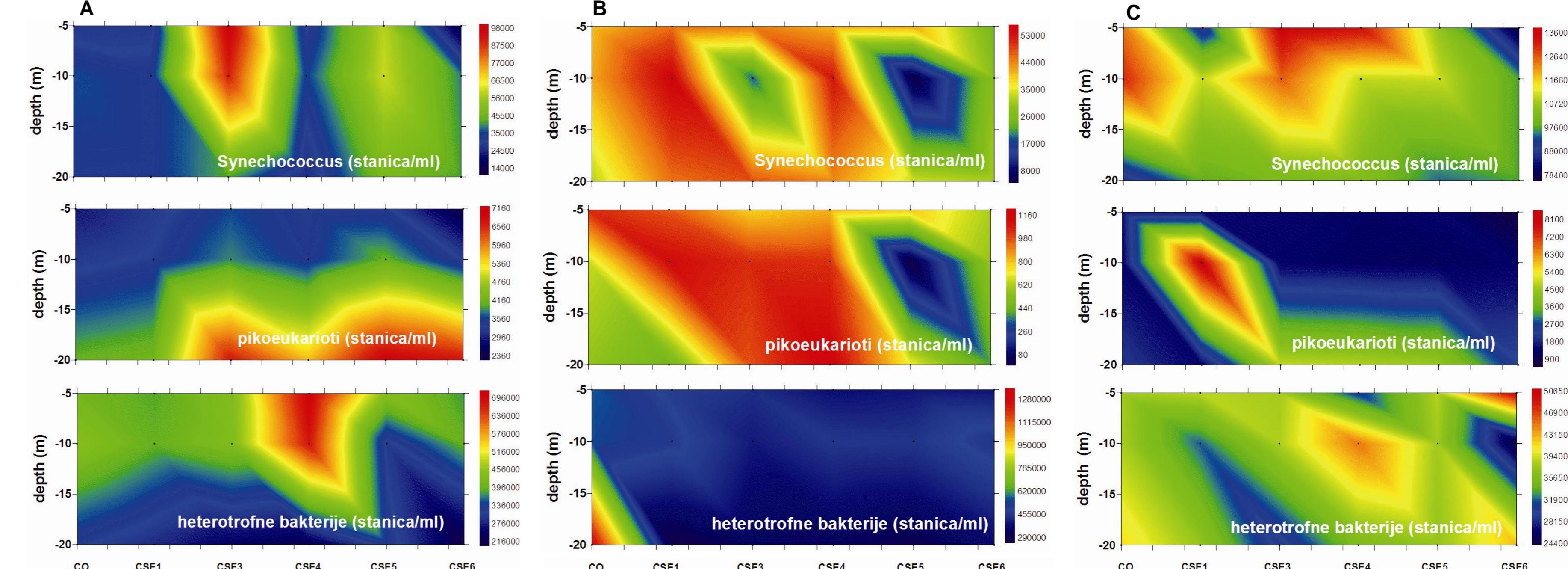
## METODOLOGIJA

Uzorkovanje za sanitarnu kakvoću mora obavljeno je 6 puta kroz godinu dana na 15 postaja postavljenih oko ispusta na dubinama od 5, 10 i 20 m. Na 6 postaja u pravcu jugoistoka (SE) prikupljeni su uzorci za analizu morske mikrobiotske zajednice.

Brojnost heterotrofnih bakterija određena je epifluorescentnim mikroskopom (pod povećanjem 1000 x), nakon bojanja DAPI fluorescentnom bojom koja se veže za DNA.

Brojnost pikoeukariota i cijanobakterija tipa *Synechococcus* određena je metodom protočne citometrije na osnovu razlike u veličini (FSC) i fluorescenciji (FL3, FL2).

Za određivanje koncentracija fekalnih koliforma i streptokoka korištena je metoda membranske filtracije koja se zasniva na filtraciji 100 mL morske vode kroz filtre promjera pora 0.45 µm, te njihovim polaganjem na čvrstu hranjavu podlogu. Nakon inkubacije pri određenoj temperaturi broje se tipične kolonije koje su izrasle na filtru.



Slika 4 Distribucija heterotrofnih bakterija, cijanobakterija roda *Synechococcus*, te pikoeukariota na Kuvima u A) ljetnom ; B) jesenskom i C) proljetnom razdoblju

## Autohtona mikrobiotska zajednica

Brojnost heterotrofnih bakterija na istraživanim postajama se kreće oko  $10^6$  stanica/mL što jasno pokazuje umjereni stupanj trofije. Njihova sezonska raspodjela ukazuje na porast brojnosti u topnjem dijelu godine (ljetu i jeseni) (Slika 4A i 4B), te pad brojnosti u hladnjem dijelu godine (zimu i proljeće). Autotrojni dio mikrobiotske zajednice (cijanobakterije roda *Synechococcus* i pikoeukarioti) pokazao je heterogenu raspodjelu bez vidljivog utjecaja ispusta. Najveće i najniže vrijednosti za pikoeukariote su zabilježene u proljeće i jesen, dok su za *Synechococcus* i najveće i najniže vrijednosti zabilježene u proljetnom razdoblju (Slika 4).

Obogaćivanje morskog okoliša nutrijentima u pravilu je dovelo do porasta abundancije svih komponenti mikrobiotske zajednice, međutim, odgovor svake pojedine skupine na promijenjene uvjete značajno se razlikovao. Da bi dobili potpuniju sliku nužna su daljnja mnogo detaljnija istraživanja, koja bi prije svega uključila i glavne kontrolne faktore ovih populacija, što su nutrijenti i predatori.

## ZAKLJUČCI

Iz analize sanitarne kakvoće vode proizlazi da je u ljetnom razdoblju područje oko ispusta jako zagađeno. Zagađenje je ograničeno u pridnenom sloju i ne može direktno ugroziti kupače. Međutim, fekalno zagađenje je prisutno tijekom cijele godine (iako ne u istoj količini) te putem hranidbenog lanca može predstavljati indirektni rizik za ljudsko zdravlje.

Analize brojnosti autohtone mikrobiotske zajednice na istraživanim postajama ukazuju na umjereni trofiki stupanj područja Kuvi. Povišene vrijednosti bakterijske abundancije koje upućuju na viši trofiki stupanj, utvrđene su samo za postaju ispusta, i to u zimskom periodu. Praćenje kvantitativnih promjena bioloških parametara (broja bakterija, pikoeukariota i cijanobakterija) često nije dovoljno za sagledavanje ukupnih promjena u morskom ekosustavu. Međutim, praćenje strukturalnih i funkcionalnih značajki mikrobiotske hranidbene mreže ima veliki potencijal u prepoznavanju kompleksnih promjena koje se događaju na razini bioloških zajednica i ekosustava u cijelini. Stoga očekujemo da ćemo obradom svih podataka ovog istraživanja dobiti kompletnejnu sliku čitavog sustava.



## ZAHVALA

Posebna zahvala mentoricama dr.sc. M. Najdek i dr.sc. D. Fuks, kolegi dr.sc. S. Orlić, stručnim suradnicima P. Krelija, M. Buterer, D. Devescovici, G. Nikolov i svim ljudima dobre volje koji su pridonijeli stvaranju ovog rada.