DINAMIKA KOLIFORMNIH BAKTERIJA U POPLAVNOM PODRUČJU KOPAČKI RIT

Kuna, Elvira

Master's thesis / Diplomski rad

2013

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:411610

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

ODJEL ZA BIOLOGIJU
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Repository / Repozitorij:

Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

ODJEL ZA BIOLOGIJU

Diplomski znanstveni studij biologije

Elvira Kuna

DINAMIKA KOLIFORMNIH BAKTERIJA U POPLAVNOM PODRUČJU KOPAČKI RIT

Diplomski rad

Osijek, 2013.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku **Diplomski rad**

Odjel za biologiju

Diplomski znanstveni studij biologije

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Biologija

DINAMIKA KOLIFORMNIH BAKTERIJA U POPLAVNOM PODRUČJU KOPAČKI RIT
Elvira Kuna

Rad je izrađen: 2012. na Odjelu za zdrastvenu kvalitetu i ispravnost voda, Zavod za javno zdrastvo "dr. Andrija Štampar", Zagreb

Mentor: Doc. dr. sc. Goran Palijan

Neposredni voditelj: Prof. dr. sc. Dinko Puntarić

Kratak sadržaj diplomskog rada:

Na području Kopačkog rita, u kanalu Čonakut i Sakadaškom jezeru, kao i u Dunavu istraživani su od ožujka do listopada 2012. godine osnovni fizikalno-kemijski parametri te broj koliformnih bakterija i *E.coli*. Kvaliteta vode i poplave su jedna od važnijih funkcija ekosustava i koriste se pri monitoringu usluga ekosistema. Budući da se koliformne bakterije prirodno izlučuju u velikom broju koriste se kao indikatori fekalnog onečišćenja kao i pokazatelji kvalitete površinskih voda. Praćenje dinamike koliformnih bakterija i *E.coli* između Dunava i Kopačkog rita te utvrđivanje promjene broja koliformnih bakterija i *E.coli* s udaljenošću od Dunava, pokazuje kako se broj bakterija smanjuje od Dunava prema rubnim dijelovima poplavnog područja. Prema mikrobiološkim pokazateljima, u ovom slučaju koliformnim bakterijama, Dunav i kanal Čonakut se svrstavaju u II vrstu voda, a Sakadaško jezero u I vrstu. Za vrijeme perioda istraživanja, najveći vodostaj Dunava zabilježen je u lipnju (454 cm) te je bilo poplavljeno 90 % Kopačkog rita. Tijekom razdoblja poplava, broj koliformnih bakterija i *E.coli* je naglo porastao jer hidrološko povezivanje rijeke i poplavnog područja, kao i mnogi abiotički faktori utječu na aktivnost i prijenos bakterija.

Broj stranica: 44

Broj slika: 28

Broj tablica: 6

Broj literaturnih navoda: 48

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: poplavno područje Dunava, usluge ekosistema, koliformne bakterije, *E.coli*

Datum obrane: 30. 09. 2013.

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. Doc. dr. sc. Goran Palijan
2. Doc. dr. sc. Ljiljana Krstin
3. Doc. dr. sc. Dubravka Čerba

Rad je pohranjen u: knjižnici Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijek

BASIC DOCUMENTACION CARD

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek **MS thesis**

Department of Biology

Graduate Study of Biology

Scientific Area: Natural science

Scientific Field: Biology

DYNAMICS OF COLIFORM BACTERIA IN THE FLOODED AREA OF KOPAČKI RIT

Elvira Kuna

Thesis performed: 2012 at the Division of Health Safety and Quality of Waters, Dr. Andrija Štampar Institute of Public Health, Zagreb

Supervisor: Doc. dr. sc. Goran Palijan

Assistant in charge: Prof. dr. sc. Dinko Puntarić

Short abstract:

In the area of Kopački rit, in the channel of Čonakut and in lake Sakadaš as well as in the Danube river, the physical and chemical parameters as well as the count of coliform bacteria and *E.coli* have been studied in the period from March to October 2012.

Water quality and floods are one of the most important functions of the ecosystem and are used in the monitoring of the ecosystem services. As coliform bacteria are excreted naturally in a large amount, they are used as an indicator of fecal contamination as well as an indicator of the quality of surface water. By studying the dynamics of coliform bacteria and *E.coli* between the Danube river and Kopački rit and by determining the variations in the count of coliform bacteria and *E.coli* in dependence to the distance from the Danube river, it was shown that the number of bacteria decreases from the Danube river towards the borderland of the flooded area. Based on the microbial indicators, in this case the coliform bacteria, the Danube river and the channel of Čonakut belong to the category II type of waters, whereas lake Sakadaš is category I. During the study period, the highest water level of the Danube river was registered in July (454 cm) when 90% of the Kopački rit area was flooded. During the period of floods the count of coliform bacteria and *E.coli* increased abruptly due to the fact that the hodrological connection of the river and the flooded area as well as several abiotic parameters have an effect on the activity and transport of the bacteria.

Number of page: 44

Number of figures: 28

Number of tables: 6

Number of reference: 48

Original in: Croatian

Key words: Danube floodplain, ecosystem services, coliform bacteria, *E.coli*

Date of the thesis defence: 30. 09. 2013.

Reviewers:

1. Doc. dr. sc. Goran Palijan
2. Doc. dr. sc. Ljiljana Krstin
3. Doc. dr. sc. Dubravka Čerba

Thesis deposited in: Library of Department of Biology, University of J.J.Strossmayer in Osijek

Zahvaljujem se mentoru doc. dr. sc. Goranu Palijan na pomoći i konstruktivnim savjetima tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Veliko hvala prof. dr. sc. Dinku Puntarić koji mi je omogućio izradu eksperimentalnog dijela diplomskog rada na Zavodu za javno zdrastvo "dr. Andrija Štampar" te svim djelatnicima Odjela za zdrastvenu kvalitetu i ispravnost voda, posebno ing. Ljiljani Krpan na stručnoj pomoći i strpljenju tijekom eksperimentalne izrade.

Hvala sestri i prijateljima na podršci tijekom studiranja, a posebno se zahvaljujem svojim roditeljima koji su mi omogućili studiranje u Osijeku i vjerovali u mene.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1. Opće značajke poplavnih područja 1
1.2. Koliformne bakterije 3
1.2.1. Rod *Citrobacter* 4
1.2.2. Rod *Enterobacter* 5
1.2.3. Rod *Klebsiella* 5
1.3. Rod *Echerichia* 7
1.4. Dosadašnja istraživanja koliformnih bakterija u Kopačkom ritu 8
1.5. Ciljevi rada 8
2. PODRUČJE ISTRAŽIVANJA 9
2.1. Kopački rit 9
2.2. Sakadaško jezero 10
2.3. Kanal Čonakut 11
2.4. Dunav 12
3. MATERIJALI I METODE 14
3.1. Prikupljanje uzoraka 14
3.2. Fizikalno-kemijska analiza vode 14
3.3. Detekcija i brojenje koliformnih organizama 14
3.3.1. Metoda višestrukih epruveta (metoda najvjerovatnijeg broja, „Most probable number“ MPN) 14
3.4. Detekcija i brojanje *E.coli* 16
3.4.1. Filtracija 17
3.4.2. Inkubacija i diferencijacija, Standardni test 17
3.4.3. Inkubacija i diferencijacija, Brzi test 18
3.4.4. Izračun broja kolonija 19
3.5. Statistička obrada podataka 20
4. REZULTATI 21
4.1. Hidrološke karakteristike 21
4.1.1. Vodostaj Dunava 21
4.1.2. Klima 21
4.2. Fizikalno-kemijska svojstva vode 22
4.2.1. Temperatura vode 22
4.2.2. Dubina i prozirnost vode 22
4.2.3. Otopljeni kisik 23
4.2.4. Koncentracija vodikovih iona (pH) 23
4.2.5. Električna provodljivost 24
4.2.6. Hranjive tvari 25

4.3. Brojnost bakterija 29
4.3.1. Koliformne bakterije 29
4.3.2. Echerichia coli 30
4. RASPRAVA 36
5. ZAKLJUČAK 40
6. LITERATURA 41

1. UVOD

1.1. Opće značajke poplavnih područja

Poplavna područja uključuju trajna lotička i lentička staništa (plitka jezera, rukavci i močvare) i staništa povremeno izložena plavljenju, i graniče s većinom velikih rijeka (Junk i sur., 1989). Očituju se kao naproduktivniji i najraznolikiji ekološki sustavi čija se dinamičnost očituje kroz prostorno-vremensku raznolikost i predstavljaju jedno od najvećih vrijednosti biološke i krajobrazne raznolikosti. Velikoj bioraznolikosti biljnih i životinjskih vrsta pogoduje redovito plavljenje i raznolikost produktivnih staništa (Junk i sur., 1989). „Flood puls“ ili plavljenje je najvažniji ekološki parametar koji određuje postojanje, produktivnost i interakcije živog svijeta u vodenim ekosistemima riječnih poplavnih područja (Junk i sur., 1989; Van den Brink i sur., 1994). Kod poplavnih područja razlikujemo limnofazu, kada je poplavno područje izolirano od riječnog toka, od potamofaze, razdoblje plavljenja s drastičnim promjenama u fizikalnim, kemijskim i biotičkim karakteristikama (Neiff, 1996). Izmjene sušnog i poplavnog razdoblja čine tzv. hidrosedimentološki puls. Tijekom razdoblja niskih voda kada su vodena staništa poplavnog područja međusobno odvojena, pod utjecajem su pokretačkih sila: (1) ulazak vode iz drugih pritoka (2) resuspenziju sedimenta pod utjecajem životinja ili vjetra, i (3) razlike u ekološkoj sukcesiji, koje djeluju na poplavno područje različitim intenzitetom stvarajući staništa različitih karakteristika. Za vrijeme plavljenja, dotok svježih voda uvjetuje promjene bioloških i kemijskih čimbenika u poplavnim područjima. U mnogim vodenim sustavima umjerenog područja česta su kraća razdoblja plavljenja kao i manje predvidljiva povremena plavljena (Tockner i sur., 2000). Velike i kratkotrajne oscilacije u plavljenju najčešće su slabo korisne za poplavna područja jer plavljenja ne predstavljaju samo povećanje razine vode, već su i vrlo bitan izvor hranjivih tvari (Hein i sur., 2004). Porijeklo vode određuje temperaturu vode, zamućenost i sadržaj nutrijenata koji utječu na heterogenost staništa i produktivnost ekosistema. Plavljenje se smatra pokretačkom silom ekosistema fluvijalno-močvarnih nizina, a njegov utjecaj ovisi o razlikama u jačini plavljena, vremenu zadržavanja vode i veličini zahvaćenog područja. Tipologija vodenih površina poplavnog područja prvenstveno se bazira na hidrološkom režimu.

Poplavna područja imaju veliki ekološki značaj koji je rezultat svojstvenih i jedinstvenih prirodnih karakteristika. Osim što su vrijedna područja biološke raznolikosti, imaju čitav niz ekoloških i hidroloških funkcija koje mogu biti korisne i za čovjeka. Održavaju trajnu opskrbu vodom time što stalno iznova pune podzemne vode i spremnike vode, pročišćuju vodu, a

tijekom razdoblja visokog vodostaja, poplavna područja služe kao prirodne „spužve“ čime smanjuju visinu poplava i ublažavaju njihove posljedice. Zadržavanjem poplavne vode, poplavna područja polako obnavljaju vodu i povećavanju njezinu kvalitetu. Protjecanjem vode kroz poplavno područje, biljke služe kao prirodni filteri, zarobljavaju sediment i hvataju zagađivače (American rivers, 2003). Prihvaćeno je da prisutnost i položaj močvara ima važnu ulogu u filtriranju otopljenih anorganskih tvari i suspendiranih čestica iz vode (Johnston i sur. 1990; Welsch i sur., 1995; Hammer, 1997). Unosom prekomjerne količine dušika i fosfora u morske i slatkovodne sustave, gdje su dušik i fosfor limitirajući za rast biljaka, može doći do ubrzane eutrofikacije (USEPA office of Water,1997). Nitrati, kao oblik mobilnog dušika, mogu biti apsorbirani vegetacijom, otopljeni u podzemnim i površinskim vodama ili transformirani u dušikov plin u procesu dentrifikacije (Welsh i sur., 1995). Gubitkom močvarnih područja koja imaju ulogu fiksacije dušika, povećava se mobilnost dušika u potoke, rijeke i jezera (Vitousek i sur., 1997). Močvarna područja pohranjuju višak fosfora na način da se fosfor veže za sediment, iako fosfor koji je vezan za sediment podliježe resuspenziji i kreće se kada se sediment poremeti. Budući da su fekalne bakterije vezane sa suspendiranim česticama, jedna od funkcija poplavnih područja je zadržavanje suspendiranog materijala i povećanje preživljavanja fekalnih bakterija (Johnston i sur., 1990), a ova funkcija je poremećena otjecanjem oborinske vode, ali isto tako i gubitkom poplavnih područja.

Ekosustav je izvor mnogih resursa, uključujući i one koji su čovjeku neophodni za život. Ti su resursi danas poznati pod pojmom “usluge ekosistema”. Oni izravno i neizravno omogućuju naš opstanak i poboljšavaju kvalitetu života. Usluge ekosustava se svrstavaju u različite kategorije koje obuhvaćaju različite usluge kao što su: izvor hrane, pitka voda, klimatska regulacija, genetski resursi, usluge staništa migratornim vrstama i dr., a jedna od kategorija je pročišćavanje voda. Šume, močvare i zaštićena područja često pružaju čistu vodu po znatno nižoj cijeni od ljudskih nadomjestaka kao što su postrojenja za obradu vode (TEEB, 2009). Poplavna područja i močvare nisu samo dio ove jedne kategorije usluga ekosustava već imaju i važnu ulogu skoro u svakoj kategoriji. Osim usluga pročišćavanja vode, velike biološke raznolikosti, zaštite od poplava, poplavna područja nude čovjeku usluge turizma.

1.2. Koliformne bakterije

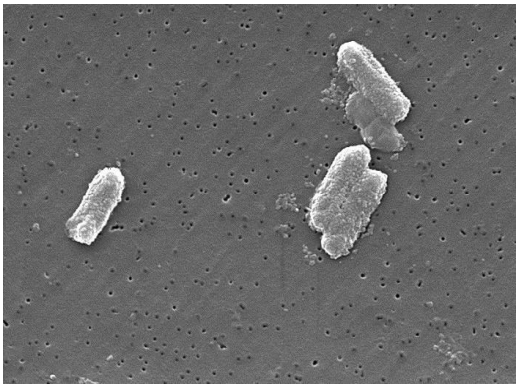
Koliformne bakterije su primarno nepatogene bakterije i obitavaju u donjem intestinalnom traktu (debelom crijevu) čovjeka i toplokrvnih životinja. Štite crijevo od infekcija patogenim bakterijama te osiguravaju pravilnu probavu hrane i sintezu vitamina grupe B (Bitton, 2005). Iz organizma se izlučuju fekalijama i preko komunalnih otpadnih voda mogu dospjeti u prirodne vode. Ukoliko fekalije potječu iz oboljelog čovjeka ili životinje, u njima će biti prisutne i patogene bakterije koje uzrokuju crijevne infekcije i teška oboljenja - hidričke infekcije (infekcije koje se prenose vodom). Mnoge patogene bakterije prisutne su u okolišu u malom broju te je njihova detekcija teška (Henze i sur., 2008). Budući da se koliformne bakterije prirodno izlučuju u velikom broju, od 1912. godine koriste se u sanitarnoj analizi vode kao indikatori fekalnog zagađenja i moguće prisutnosti patogenih crijevnih bakterija. Od patogenih bakterija mogu biti prisutni uzročnici kolere (*Vibrio cholerae*), tifusa (*Salmonella typhi*), salmoneloza (*Salmonella*), dizenterije (*Shigella*), gastroenteritisa (*Campylobacter jejuni*) i dr. Koliformne bakterije su uglavnom oportunistički patogeni što znači da će se infekcija uzrokovana koliformnim bakterijama javiti u slučaju oslabljenog imuniteta.

Koliformne bakterije su fakultativno anaerobne, Gram-negativne, štapićaste, nesporogene bakterije koje fermentiraju laktozu stvarajući kiselinu i plin. Pripadaju porodici Enterobacteriaceae. Uključuju vrstu *Escherichia coli* i srodne vrste koje normalno obitavaju u debelom crijevu, kao što su vrste rodova *Citrobacter*, *Enterobacter* i *Klebsiella* (Holt i sur., 1994). Prema otpornosti na temperaturu dijele se na ukupne i fekalne koliformne bakterije. Ukupne koliformne bakterije fermentiraju laktozu na 35±0,5 °C kroz 48 h, a fekalne koliformne bakterije na 44,5±0,2 °C kroz 24 h. Ukupni koliformi, boraveći u vanjskoj sredini, izgubili su sposobnost tolerancije temperature od 44,5 °C i znak su starijih fekalnih zagađenja (Stilinović i Hrenović, 2009). Kultivacija koliformnih bakterija podrazumijeva uzgoj na krutim ili tekućim selektivnim hranjivim podlogama. Relativno se brzo i lako dokazuju u laboratoriju, a smatra se da nalaz termotoleratnih fekalnih koliforma ukazuje na svježa fekalna zagađenja okoliša. Uzgoj na krutim hranjivim podlogama ima prednost nad uzgojem u tekućim podlogama jer je moguće točnije odrediti broj varijabilnih bakterija kao broj jedinica koje formiraju kolonije (engl. Colony Forming Units, CFU) i brže odrediti udio *E.coli* u uzorku.

1.2.1. Rod *Citrobacter*

Gram-negativne, fakultativno anaerobne, štapičaste bakterije koje se pokreću uz pomoć bičeva. Rod Citrobacter su otkrili Werkman i Gillen 1932. Bakterije ovog roda nalaze se u vodi, tlu, hrani i crijevima čovjeka i životinja. Vrste ovog roda se razlikuju prema sposobnosti pretvaranja triptofana u indole, fermentaciji laktoze i korištenju malonata.

Predstavnik roda je vrsta *Citrobacter freundii* čija je veličina 1-5 μm (slika 1). *C. freundii* je oportunistički patogen i uzokuje infekcije dišnih puteva, mokraćnog sustava, krvi, jetre, žuči, ali može uzokovati meningitis, infekciju središnjeg živčanog sustava koji je u 20-50% slučajeva smrtonosan. Iako ova vrsta uzokuje najveći postotak infekcija unutar ovog roda (29%), ona u okolišu ima veliki ekološki značaj. Naime, bakterije ove vrste sudjeluju u ciklusu dušika na način da pretvaraju nitrate ili amonijev ion u nitrite koji se zatim pretvaraju u dušik što čini završni korak u ciklusu. Također, mogu akumulirati uran stvarajući fosfatne komplekse. U biotehnologiji se koriste za proizvodnu enzima kao što je fosfataza.



Slika 1. *Citrobacter freundii* (Web 1)

1.2.2. Rod *Enterobacter*

Štapičasti, fakultativni anaerobi koji fermentiraju glukozu stvaranjem kiseline i plina. Vrlo su rasprostranjeni u prirodi i nalazimo ih u zagađenoj vodi, a također su izolirani iz probavnog trakta i respiratornog sustava čovjeka i životinja kao dio normalne mikroflore. Zajedno s rodom Echerichia spadaju u skupinu fekalnih organizama. Neki od sojeva ovih bakterija su patogeni i uzokuju oportunističke infekcije. Najpoznatije vrste ovog roda kao oportunistički patogeni su *E. cloaceae* koja uzokuje infekcije urinarnog trakta i kože i *E. aerogenes* (slike 2a i 2b).

a) b)

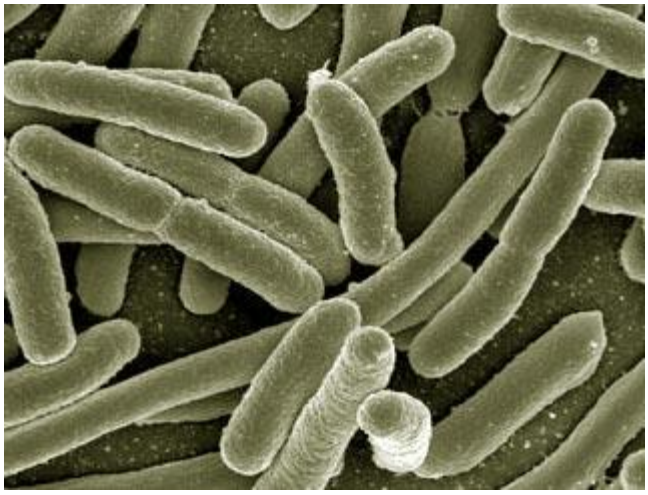


Slika 2. Vrste roda Enterobacter a) *E. Cloaceae* ; b) *E. aerogenes* (Web 2)

1.2.3. Rod *Klebsiella*

Pripadnici roda su Gram-negativne, fakultativno anaerobne, nepokretne, zaobljene bakterije rasprostranjene kao saprofiti u tlu, mlijeku, prašini, crijevnom i respiratornom traktu ljudi i životinja. Rod je dobio ime po njemačkom mikrobiologu Edwinu Klebsu. Neke vrste iz ovog roda proizvode ekstracelularne toksične komplekse koji su letalni za miševe i uzrokuju patologiju pluća (Straus, 1986).

Najznačajniji član roda *Klebisella* je *Klebisella pneumonia* koja se nalazi u probavnom traktu čovjeka kao dio prirodne mikroflore (slika 3). Uzrokuje infekcije mokraćnog sustava kao i plućne infekcije jer ima mogućnost prilagodbe aerobnim i anaerobnim uvjetima. Teško se otkriva od strane imunološkog sustava jer posjeduje mnoge virulentne faktore. Jedan od faktora je korištenje željezo-sidrofornog receptora domaćina za aktivaciju enterobactina koji koriste za rast. Također, ova vrsta ima debelu polisaharidnu kapsulu koja ih štiti od protutijela domaćina.



Slika 3. *Klebisella pneumonia* (Web 3)

1.3. Rod *Echerichia*

Rod Echerichia ima samo jednu vrstu, *E.coli* te velik broj biotipova, serotipava i varijeteta. Samo 20% genoma je zajedničko svim sojevima, a razlike između sojeva se mogu otkriti samo na molekularnoj razini. E.coli su Gram-negativne, fakultativno anaerobne, nesporogene, štapičaste bakterije, zaobljenih ili ravnih krajeva koje fermentiraju laktozu uz stvaranje plinskog produkta. Veličina bakterije je 2-6 μm x 0,4-0,7 μm kada se nalaze u nativnom stanju, a nakon bojenja, štapići se smanjuju. Štapići mogu biti raspoređeni pojedinačno, u paru ili nepravilnim grupama. Pokreću se bičevima. Neki sojevi imaju kapsulu, a mnogi imaju i fimbrije - ravne i čvrste tvorbe koje se nalaze na površini Gram-negativnih bakterija i povezuju međusobno dvije bakterije omogućavajući konjugaciju. *E.coli* je otkrio Theodor Esherich, pedijatar i bakteriolog 1885.

E.coli jedna je od glavnih vrsta bakterija koja živi u donjem probavnom traktu sisavaca, dio je crijevne flore i ima glavnu ulogu u probavljanju hrane, sintetizira vitamin K i neke vitamine grupe B. Broj jedinki *E.coli* u prosječnom dnevnom fecesu čovjeka kreće se između 100 milijardi i 10 bilijuna, oportunistički patogeni su i izazivaju različita oboljenja. Izlučuju toksine, a patogenost ovisi o virulentnosti soja. Prema patogenosti razlikujemo sojeve koji izlučuju enterotoksine - enterotoksigeni sojevi (izazivaju kretanje vode iz okolnih tkiva u lumen crijeva) i sojeve koji ne izlučuju enterotoksine već oštećuju crijevnu mukozu i izazivaju gastroenteritis - enteropatogeni, enteroinvazivni i enterohemoragični sojevi. Osim toksina, izlučuju hemolizine (hemolizin a i g) koji nisu patogeni, endotoksine, adhezivni i kolonizacijski faktor koji stimulira adheziju i kolonizaciju *E.coli* na površini crijevne mukoze.

E.coli ima važnu ulogu u biološkom inženjerstvu i koristi se za proizvodnju velikih količina DNA i proteina. Također, odličan je indikator onečišćenja vode. Fekalni koliformi i *E.coli* daju podatke o količini fekalnih koliforma koji su prisutni u vodi, a mogu biti povezani s patogenima (Texas Clean Rivers program, 2003). Dokumentom iz 1968. (Kriteriji bakteriološke kvalitete vode), EPA (United States Environmental Protection Agency) uspostavlja *E.coli* i enterokoke kao indikatore fekalnog onečišćenja, a njihovo korištenje se preporučuje za testiranje kvalitete površinske vode. Pokazalo se da je *E.coli* zajedno s fekalnim koliformima bolji pokazatelj fekalnog onečišćenja od samih fekalnih koliforma (Texas Clean Rivers program, 2003.). Budući da su različiti sojevi domaćin-specifični, moguće je utvrditi izvor fekalnog onečišćenja u uzorcima iz okoliša.

1.4. Dosadašnja istraživanja koliformnih bakterija u Kopačkom ritu

Istraživanje bakterija u Kopačkom ritu započela je B. Živanović 1979. godine istraživanjem bakterija u Sakadaškom jezeru, a kasnije su istraživanja proširena na Kopačevo jezero i Hulovski kanal i obavljana sve do 1989. godine. Obuhvaćala su praćenje promjena metaboličke aktivnosti, interakcijskih odnosa, dinamike brojnosti i rasporeda aerobnih, anaerobnih i fakultativno anaerobnih fizioloških skupina i vrsta bakterija ovisno o promjenama biotičkih i abiotičkih čimbenika. No, promjena broja koliformnih bakterija s udaljenošću od Dunava prema rubnim dijelovima poplavnog područja do sada nije ispitivana.

Koliformne bakterije u Sakadaškom jezeru bile su prisutne u svim slojevima vode s vrlo malim kolebanjima u broju. U Kopačkom jezeru utvrđene su na svim dubinama, a najveći broj koliformnih bakterija bio je u svibnju, srpnju i listopadu.

Indikatori fekalnog zagađenja *Echerichia coli*, *Clostridium perfringens* i *Streptococcus faecalis* utvrđeni su za vrijeme povremenih, jačih onečišćenja, ali s iznimno malim vrijednostima (Kalinović, 1983., Živanović, 1985).

1.5. Ciljevi rada

- Usporediti dinamiku koliformnih bakterija i *E.coli* između Dunava i poplavnog područja (Kopački rit) tijekom proljetnog, ljetnog i jesenskog perioda
- Utvrditi promjenu broja bakterija s udaljenošću od Dunava
- Utvrditi međuovisnost *E.coli* i fizikalno-kemijskih parametara okoliša

2. PODRUČJE ISTRAŽIVANJA

2.1. Kopački rit

Kopački rit je poplavno područje desnog zaobalja Dunava na sjeveroistoku Hrvatske u kutu kojeg čine rijeke Drava i Dunav i u sastavu je Osječko-Baranjske županije (slika 4). Njegov zemljopisni položaj 45° 39' 10,51" te 18° 45' i 18° 52' 44,39" istočne geografske dužine. Zakonom o Parku prirode ″Kopački rit″ utvrđena je površina Parka prirode od 177 km^2 i Posebnog zoološkog rezervata od 62 km^2 (NN RH, 45/99). Područje Kopačkog rita nalazi se u najnižem dijelu cjelokupnog prostora Baranje čija nadmorska visina ne prelazi 250 m. Nadmorske visine terena Kopačkog rita kreću se od 78 m do 86 m.

U mikroreljefnoj strukturi Kopačkoga rita ističu se velike udubine trajno ispunjene vodom (jezera), povremeno plavljene površine (bare), udubljenja kojima struji voda (kanali), linearna udubljenja koja su izravno povezana s Dravom i Dunavom (fokovi) i znatno šira i plića linearna udubljenja kojima voda iz fokova otječe u niže dijelove Kopačkoga rita (žile). Zbog složenih hidroloških uvjeta, redovitih godišnjih plavljenja područja i velikih količina nanosa, ovi su morfološki oblici i danas podložni stalnim promjenama (Mihaljević, 1999). Zbog navedenih razlika u mikroreljefu, dubina vode, visina i trajanje poplava su različiti i uvjetuju razvoj različitih tipova vegetacije.

Klima Kopačkoga rita je na granici srednjoeuropsko-kontinentalne i kontinentalne klime Panonske nizine. Srednja godišnja temperatura zraka na širem području Parka prirode Kopački rit je + 10,7 ºC. Najniža temperatura zraka izmjerena zimi je -24,6 °C, a najviša ljeti +39 °C. Srednja vrijednost oborina je od 611 mm/god. (podaci iz meteorološke postaje Brezovac–Bilje). Postoje dva oborinska maksimuma, proljetni i jesenski.

Kopački rit je zaštićen od 1967. godine zbog svoje očuvanosti kao rijetkog ritskog ekološkog sustava, biološke raznolikosti, znanstvene i ekološke vrijednosti. Zakonom o zaštiti prirode donesenim 1976. godine ("Narodne novine SRH" 54/76.), uže područje upravljanog prirodnog rezervata Kopački rit smatra se Specijalnim zoološkim rezervatom, a šire područje Parkom prirode. Kopački rit je 1993. godine uvršten u Popis međunarodno značajnih močvara („List of Wetlands of International Importance“), sukladno Ramsarskoj konvenciji. Nominiran je za uvrštenje u UNESCO (United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization).



Slika 4. Prikaz položaja Parka prirode Kopački rit (Web 4)

2.2. Sakadaško jezero

Sakadaško jezero je najdublja depresija u Kopačkom ritu. Najzapadniji je dio Posebnog zoološkog rezervata unutar Parka prirode Kopački rit. Nastalo je tijekom poplave 1926. godine kada su dunavske vode probile obrambeni nasip Zmajevac-Kopačevo i stvorile trajnu depresiju (Gucunski, 1994). Površina jezera približno iznosi 0,15 km², a prosječna dubina jezera je 7 m. Ovalnog je oblika i relativno strmih obala. Putem sustava prirodnih kanala u izravnoj je hidrološkoj vezi s Dunavom. Kanalom Čonakut jezero je povezano s Kopačkim jezerom, a Kopačko jezero i Dunav povezani su Hulovskim kanalom. Raznim je melioracijskim radovima jezero stalno produbljivano tako da je njegovo dno neravno, a maksimalna dubina jezera može doseći preko 12 metara (Gucunski, 1972).



Slika 5. Sakadaško jezero, fotografirala Dubravka Špoljarić (18.06.2012.)

2.3. Kanal Čonakut

Čonakut, odnosno Sunčani kanal koji povezuje Kopačko s jezerom Sakadaš, je na čelu unutrašnje veze kanala (Mihaljević, 1999). Pored Dunava i Drave, kanal Čonakut čini hidrografsku mrežu Parka prirode Kopački rit kao jedan od njezinih najznačajnijih dijelova. U vrijeme srednjih vodostaja prosječna dubina je 3-5 m, a u vrijeme niskih vodostaja dubine 2-4 m.



Slika 6. Kanal Čonakut, fotografirala Dubravka Špoljarić (16.05.2012.)

2.4. Dunav

Dunav izvire u istočnom Schwarzwaldu i nakon Volge, druga je najduža i vodom najbogatija rijeka u Europi. Ulijeva se velikom deltom u Rumunjskoj u Crno more nakon 2850 km toka. Protječe kroz 10 zemalja: Njemačku, Austriju, Slovačku, Mađarsku, Hrvatsku, Srbiju, Rumunjsku, Bugarsku, Ukrajinu i Moldaviju (slika 7). Dunav je plovan gotovo cijelim svojim tokom, odnosno 2 415 km. Delta Dunava priznata je od UNESCO-a kao prirodna svjetska baština.

U Hrvatskoj je duljina toka Dunava 137 km. Prolazi kroz dvije županije, Osječko-Baranjsku i Vukovarsko-Srijemsku. Rijeka u Hrvatsku ulazi kod Batine koja se nalazi na granici Hrvatske s Mađarskom i Srbijom, a završava u blizini Iloka. Najvažniji pritoci Dunava u Hrvatskoj su rijeka Drava i Vuka. Dunav svoju najveću pritoku Dravu prima u Baranji, gdje zajedno tvore naplavno područje Kopački rit.

Dunav, zajedno s rijekom Dravom, poplavljuje Kopački rit za vrijeme svog visokog vodostaja. Kopački rit se nalazi u srednjem dijelu toka Dunava (1410.-1383.r.k.) i u tom dijelu Dunav je tipična nizinska rijeka s prosječnim godišnjim vodostajem od 2,15 m i srednjim godišnjim protokom od 2085 m^3/s. Prosječna širina korita je oko 450 m (od 250 do 880 m), a dubina korita kod srednje vode je od 3 do 6 m. Na ovom potezu pad Dunava je oko 5 cm/km, ali nije ravnomjeran (Bonacci i sur., 2003). Maksimumi u godišnjem hodu vodostaja Dunava su u proljeće i rano ljeto, dok se minimalni vodostaji javljaju početkom jeseni nakon kojih slijedi postepeno povišenje vodostaja do sekundarnog maksimuma u travnju. Maksimumi vodostaji Dunava se preklapaju s otapanjem leda u Alpama. Dunav ima najveću ulogu u opskrbi rita vodom (oko 90%) i za vrijeme vodostaja od 5 m pod vodom je oko 95% Kopačkog rita. Voda se u ritu zadržava oko 175 dana u godini, a prosječno trajanje povišenih vodostaja Dunava je 45 dana.



Slika 7. Zemljopisna karta toka rijeke Dunav (Web 5)



Slika 8. Rijeka Dunav (1388 r.km), fotografirala Mateja Knezović (16.05.2012.)

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Prikupljanje uzoraka

Uzorci su uzeti na površini i dnu na tri lokacije: Dunav (1388. km rijeke), Čonakut (središnji dio) i Sakadaš (središnji dio) pomoću limenog karnistra s gumenim čepom, na silku (13,3 l) i prebačeni u sterilizirane staklene boce za uzorkovanje s teflonskim čepovima na navoj (500 ml). Sakupljani su u vremenskom periodu od ožujka do listopada u 2012. godini u jednomjesečnim intervalima. Uzorci vode za određivanje broja *E.coli* hlađeni su na "pingvinima" i transportirani su u putnom hladnjaku u Laboratorij za mikrobiološke analize vode Zavoda za javno zdrastvo „dr. Andrija Štampar“ u Zagrebu u roku od 24 h.

3.2. Fizikalno-kemijska analiza vode

Temperatura vode (Tv) mjerena je 10 cm ispod površine vode, a temperatura zraka (Tz) u sjeni iznad površine vode. Temperatura vode i zraka mjerena je živinim termometrom s podjelom ljestvice 10/1 °C. Dubina vode (m) mjerena je baždarenim konopcem s utegom, dok je prozirnost vode (m) određena Secchi pločom. Električna provodljivost vode (koduktivitet, µS/cm), pH, otopljeni kisik u vodi (mg/L) i zasićenje kisikom (%) mjereni su minilaboratorijem WTW Multi 340i (Wissenschaftlich-Technische Werkstätten, Weilheim, Njemačka) na površini i na dnu. Koncentracije nitritnih, nitratnih i amonijevih iona, organskog dušika te ukupnog fosfora i dušika obavljene su u Ekološkom laboratoriju Vodovoda d. d. Osijek prema standardnim metodama (APHA, 1989).

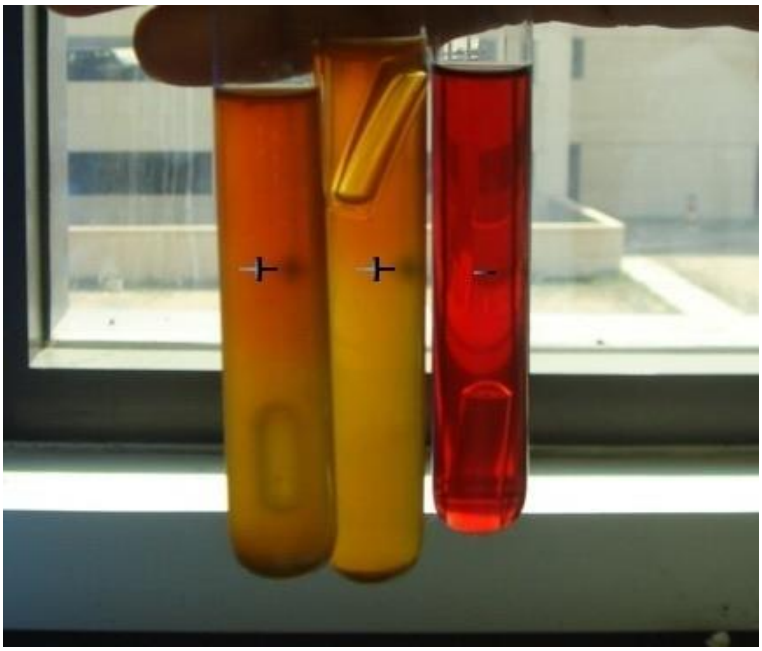
3.3. Detekcija i brojenje koliformnih organizama

3.3.1. Metoda višestrukih epruveta (metoda najvjerovatnijeg broja, „Most probable number“ MPN)

Detekcija i broj koliformnih organizama određen je metodom višestrukih epruveta (HRN ISO 9308-2:1999, Kakvoća vode-detekcija i brojanje koliformnih organizama, termotolerantnih koliformnih organizama i vjerovatne *Escherichia coli*-2.dio: Metoda višestrukih epruveta). To je metoda detekcije i brojenja koliformnih organizama, termotolerantnih koliformnih organizama i vjerovatne *Echerichia coli* u vodi, uzgojem na tekućoj hranjivoj podlozi u više nizova epruveta te izračunom njihova najvjerovatnijega broja u uzorku. Može se primijeniti na sve vrste voda, uključujući vode koje sadrže znatnu količinu suspendirane tvari. Odabir

postupaka detekcije i potvrđivanja koliformnih organizama, kao i opširnost postupaka potvrđivanja, ovisi o prirodi vode, a djelomično o svrsi ispitivanja. Koliformni organizmi mogu rasti na tekućoj hranjivoj podlozi s laktozom u aerobnim uvjetima pri temperaturi od (35±0,5) ºC ili (37±0,5) ºC uz stvaranje kiseline i plina unutar 48 h.

Za svako područja istraživanja (Dunav, kanal Čonakut, Sakadaško jezero), s površine i dna nacijepani su razrjeđeni uzorci u nizove epruveta s MacConkey tekućom hranjivom podlogom : 3 epruvete s 0,01 ml uzorka, 3 epruvete s 0,1 ml i 3 epruvete s 1 ml uzorka i inkubirani 48 h na temperaturi od (35±0,5) ºC ili (37±0,5) ºC. MacConkey tekuća hranjiva podloga sadrži laktozu koja razgradnjom daje kiselinu i plin. Uzorci su pregledani nakon 48 h inkubacije. Kao pozitivne reakcije uzimate su epruvete u kojima je došlo do zamućenja zbog rasta bakterija i nastanka plina u Durhmanovim epruveticama (slika 10). Služeći se statističkim tablicama, očitan je najvjerovatniji broj koliformnih bakterija iz broja epruveta koje daju pozitivne rezultate.



Slika 9. Prikaz pozitivnih i negativnih reakcija u epruvetama prilikom detekcije i brojanja koliformnih bakterija MPN metodom (Web 5)

3.4. Detekcija i brojanje *E.coli*

Detekcija i broj *E.coli* određeni su metodom membranske filtracije (HRN EN ISO 9308-1:2000 i HRN EN ISO 9308-1:2000 i /Ispr.1:2008en /Ispr.1:2008, Kakvoća vode-Detekcija i brojenje *Echerichia coli* i koliformnih bakterija-1.dio: Metoda membranske filtracije). Metoda se zasniva na membranskoj filtraciji i sastoji se od dva dijela: referentnog standardnog testa i neobaveznog brzog testa koji se mogu izvoditi paralelno.

Standardni test za detekciju i prebrojavanje *E.coli* i koliformnih bakterija uključuje inkubaciju membrane na selektivnoj podlozi uz dodatno biokemijsko karakteriziranje tipičnih laktoza pozitivnih kolonija što dovodi do detekcije i brojanja koliformnih organizama i *E.coli* u roku 2-3 dana. Koliformne bakterije su laktoza-pozitivne i formiraju kolonije aerobno na selektivnim i diferencijalnim laktoznim kulturnim medijima proizvodeći kiseline. *E.coli* pripada koliformnim bakterijama koje proizvode indol iz triptofana na (44,0±0,5) ºC kroz (21±3) h, oksidaza negativne su i imaju enzim beta-glukuronidazu te daju pozitivan rezultat na testu metil crvenila.

Brzi test uključuje dva inkubacijska koraka koji omogućuju detekciju i brojanje *E.coli* unutar (21±3) h. Prvi korak uključuje inkubaciju membrane na agarnom mediju koji sadrži kazein (tryptic digest) na (36±2) ºC, 4-5 h, dok u drugom koraku slijedi inkubacija membrane na (44,0±0,5) ºC, 19-20 h na agarnom mediju koji sadrži kazein (tryptic digest) i žučne soli.

Postupak metode membranske filtracije:

- Filtriranje
- Inkubacija i diferencijacija, Standardni test
- Inkubacija i diferencijacija, Brzi test

Tijekom ovog istraživanja korištene su gotove komercijalne podloge sa certifikatom kontrole kvalitete proizvođača i gotovi komercijalni reagensi.

3.4.1. Filtracija

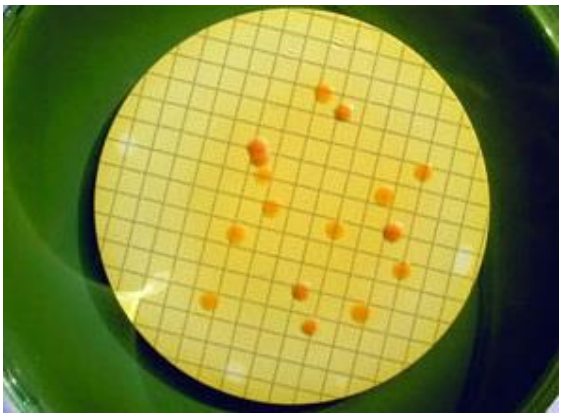
Filtriran je 1 ml, 10 ml i 100 ml uzorka za svako područje istraživanja (Dunav, kanal Čonakut i Sakadaško jezero) s površine i dna u uređaju za membransku filtraciju sa sterilnim lijevcima i vakuum pumpom (Pall-Gelman Sciences, model br.: 15400). U lijevak s uzorcima od 1 ml i 10 ml dodana je slana peptonska voda do oznake koja označuje volume od 100 ml. Na držač filtera stavljen je membranski filter promjera pore 0,45 μm te su uzorci profiltrirani. Nakon filtracije membrana je pincetom (koja je svaki puta iznova flambirana) skinuta s držača i prebačena na odgovarajuće agarne podloge, pazeći pritom da nema zraka između membrane i agarne podloge.

3.4.2. Inkubacija i diferencijacija, Standardni test

Nakon filtracije, filter membrana je prebačena u Petrijeve ploče na laktoza TTC Tergitol 7 agar i inkubirana na (44,0±0,5) ºC, (21±3) h u inkubatoru za održavanje temperature na (44,0±0,5) ºC. Petrijeve ploče inkubiraju se preokrenute s podlogom prema gore. Nakon inkubacije, brojane su kolonije sa žutim rubom (slika 9). Kao potvrdni test, kolonije su se presadile na Tryptophan broth agarni medij i inkubirale na (44,0±0,5) ºC u vremenu od (21±3) h. Nakon inkubacije, dodano je 0,2 ml do 0,3 ml Kovačevog reagensa. Pojavljivanje crvene boje na površini podloge s kolonijama potvrđuje proizvodnju indola iz triptofana.

Laktoza TTC agar sadrži:

- bazalni medij
  -laktoza
  -pepton
  -ekstrakt kvasca
  -mesni ekstrakt
  -bromotymol blue
  -agar
  -destiliranu vodu
- TTC (2,3,5 trifeniltetrazolium klorid) otopinu
- natrij-heptadecilsulfat otopinu



Slika 10. Kolonije *E.coli* na laktoza TTC agarnoj podlozi, fotografirala Elvira Kuna (14.03.2012.)

3.4.3. Inkubacija i diferencijacija, Brzi test

Nakon filtracije, membrana je stavljena na Tryptone Soy Agar (TSA) i inkubirana na (36±2) ºC, 4-5 h. Zatim je prebačena na Tryptone Bile Agar (TBA) i inkubirana na (44,0±0,5) ºC, 19-20 h. Nakon inkubacije, membrana je stavljena na podložak zasićen indol reagensom (slika 9a i 9b). Nakon toga osvjetljena je UV lampom valne duljine 254 nm (UVG-54-ručna lampa za valnu duljinu 254 nm) kroz 10-30 minuta, ovisno o brzini razvijanja boje. Sve crvene kolonije na membranskom filteru broje se kao *E.coli*.

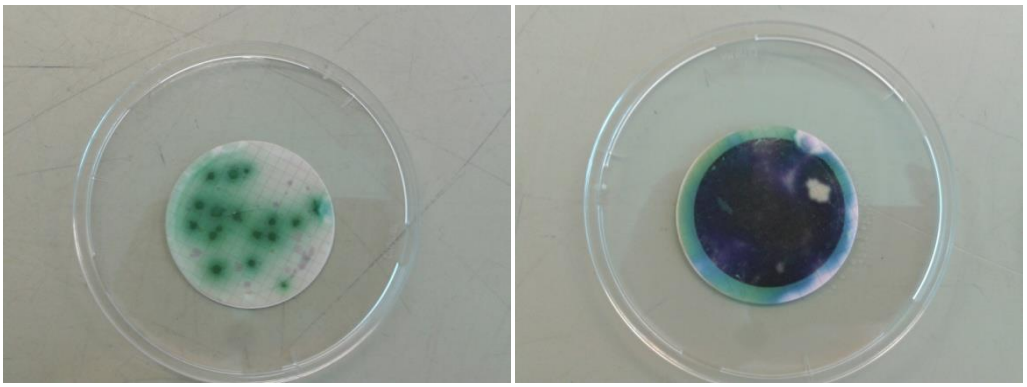
Tryptone Soy Agar (TSA) sadrži:

- kazein- izvor dušika, minerala, vitamina i aminokiselina koji su esencijalni za rast
- pepton soje - izvor ugljikohidrata
- natrij- klorid - služi za održavanje osmotske ravnoteže
- agar
- destiliranu vodu

Tryptone Bile Agar (TBA) sadrži:

- kazein
- žučne soli - djeluju kao inhibitori rasta Gram-negativnih bakterija
- agar
- destiliranu vodu

a) b)



Slika 11. Dokazivanje *E.coli* indol reagensom, uzorci a) 1 ml i b) 100 ml, fotografirala Elvira Kuna (14.03.2012.)

3.4.4. Izračun broja kolonija

$$\text{Echerichia coli/100 mL} = \frac{\text{broj izbrojenih kolonija}}{\text{volumen filtriranog uzorka(ml)}} \times 100$$

U ovom diplomskom radu, za obradu podataka i prikazivanje rezultata, uziman je broj kolonija dobiven u 1 ml uzorka i izražen kao CFU/100 ml prema gore navedenoj formuli.

3.5. Statistička obrada podataka

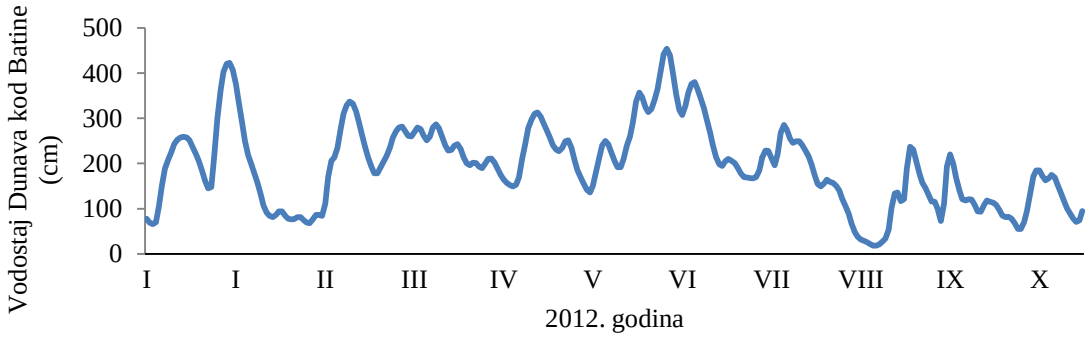
Rezultati su obrađeni statističkim metodama kako bi se utvrdila njihova značajnost. Cjelokupna statistička obrada podataka je napravljena je pomoću programa Excel (Microsoft Office) i programa SPSS pod Windows 7 operativnim sustavom.

4. REZULTATI

4.1. Hidrološke karakteristike

4.1.1. Vodostaj Dunava

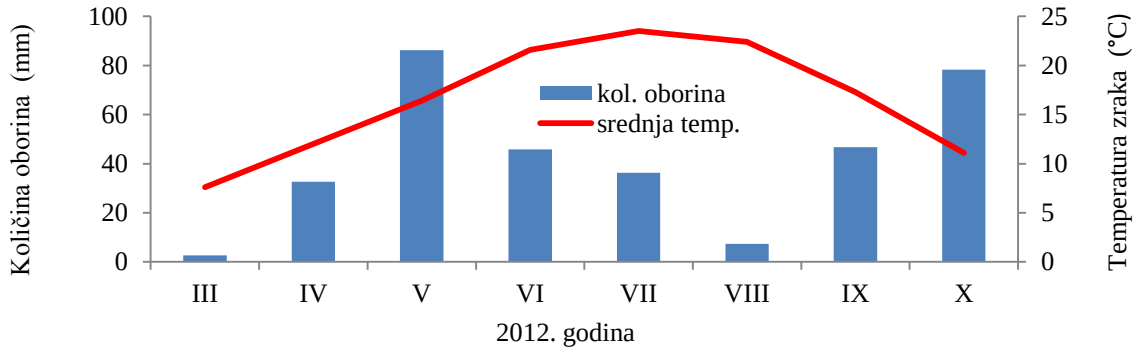
Tijekom istraživanja od ožujka do listopada, najviši vodostaj Dunava zabilježen je 18.06.2012. i iznosio je 454 cm (90% Kopačkog rita bilo je pod vodom). Najniži vodostaj zabilježen je 24. i 25.08.2012. i iznosio je 18 cm (slika 11).



Slika 11. Vodostaj Dunava (cm) kod Batine za razdoblje od siječnja do listopada 2012. godine

4.1.2. Klima

Najviša srednja temperatura bila je u srpnju (23,5 °C), a najniža u ožujku (7,6 ºC), dok je najviša srednja količina oborina bila u svibnju (86,2 mm), a najniža u ožujku (2,7 mm) (slika 12).

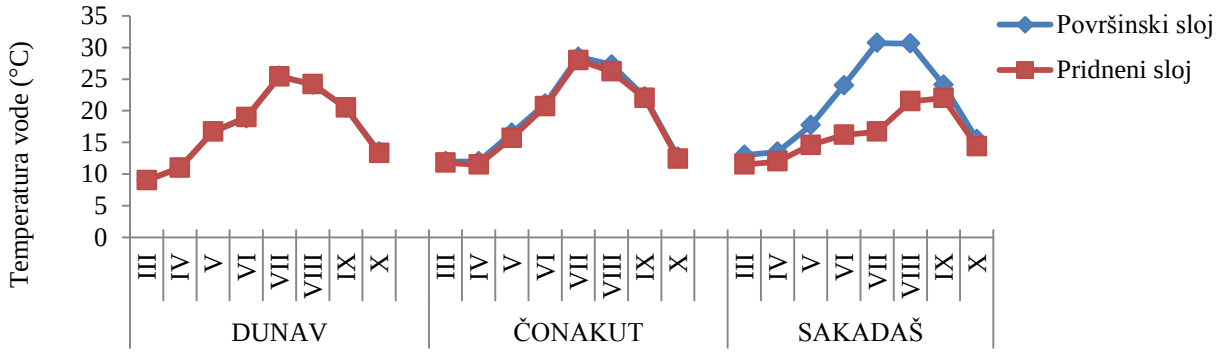


Slika 12. Prikaz količine oborina i srednje temperature zraka tijekom istraživanog razdoblja na mjernoj postaji Kopački rit

4.2. Fizikalno-kemijska svojstva vode

4.2.1. Temperatura vode

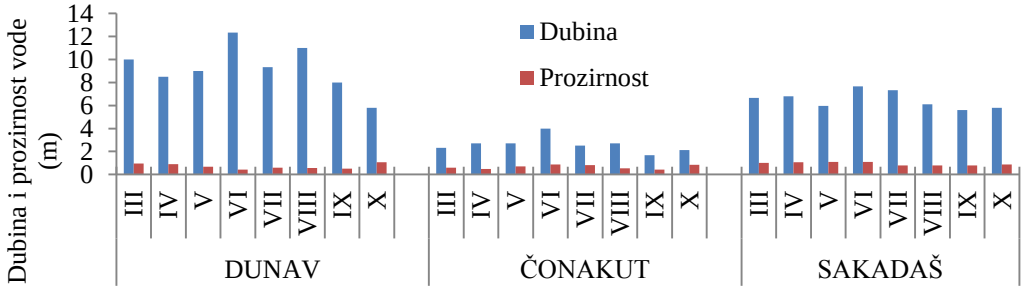
Najviša temperature vode zabilježena je na postaji Sakadaško jezero u površinskom sloju (30,7 °C u srpanju; 30,6 °C u kolovozu), a najniža temperatura zabilježena je na postaji Dunav u površinskom i pridnenom sloju (9 °C u ožujku) (slika 13).



Slika 13. Prikaz promjene temperature vode u površinskom i pridnenom sloju vode tijekom istraživanog razdoblja na istraživanim postajama

4.2.2. Dubina i prozirnost vode

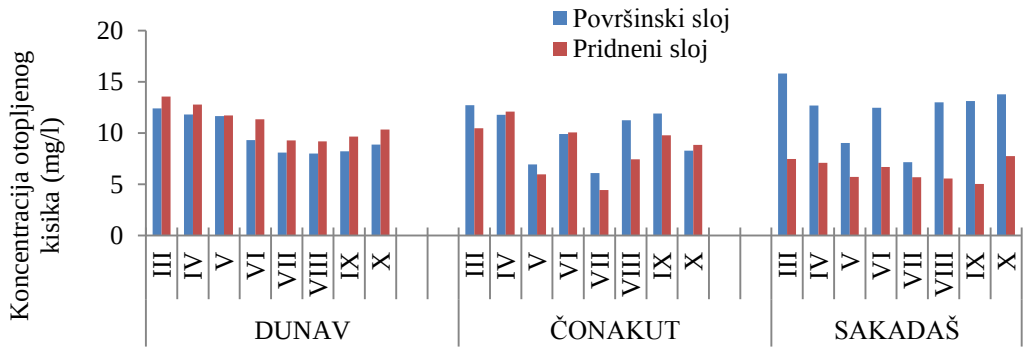
Dubina vode na postaji Dunav varirala je od 5,8 m do 12,33 m; u kanalu Čonakut od 2,13 m do 4m; u Sakadaškom jezeru od 5,6 m do 7,67 m. Najveća prozirnost vode izmjerena je u Sakadaškom jezeru (1,1 m; lipanj), a najmanja u kanalu Čonakut (0,42 m; rujan) (slika 14.)



Slika 14. Promjene dubine i prozirnosti vode tijekom istraživanog razdoblja na istraživanim postajama

4.2.3. Otopljeni kisik

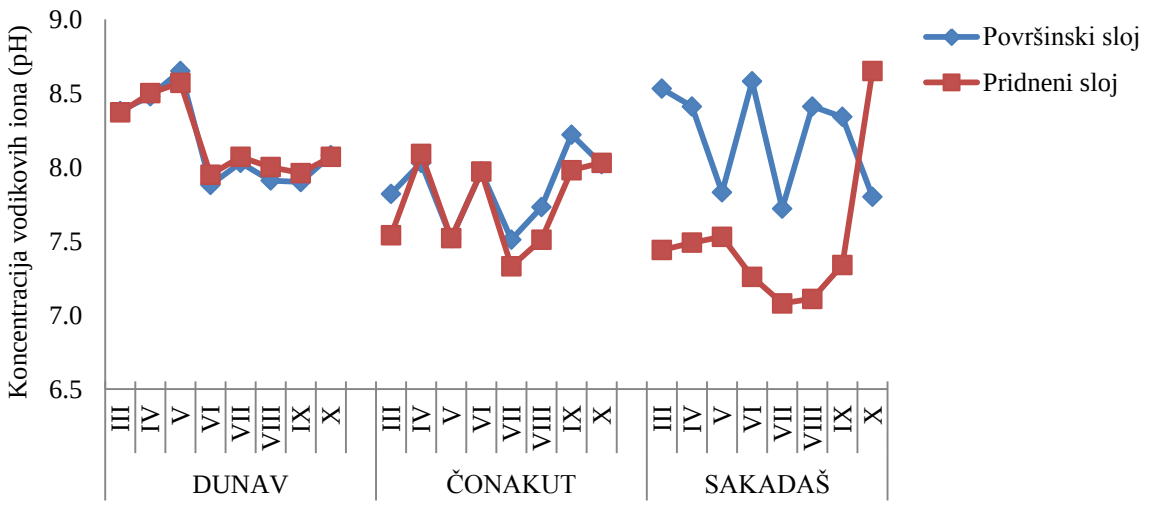
Koncentracija kisika na postaji Dunav kretala se od 7,99 mg/l (kolovoz) do 12,4 mg/l (ožujak) u površinskom sloju, a u pridnenom sloju od 9,17 mg/l (kolovoz) do 13,56 (ožujak); u kanalu Čonakut od 6,08 mg/l (srpanj) do 12,72 mg/l (ožujak) u površinskom sloju, a u pridnenom od 4,43 mg/l (srpanj) do 12,08 mg/l (travanj); u Sakadaškom jezeru od 7,13 mg/l (srpanj) do 15,81 mg/l (ožujak) u površinskom sloju, a u pridnenom sloju od 5,02 mg/l (svibanj) do 7,73 mg/l (listopad). Najveća koncentracija kisika zabilježena je u Sakadaškom jezeru u površinskom sloju (15,81 mg/l; ožujak), a najmanja u kanalu Čonakut u pridnenom sloju (4,43 mg/l; srpanj) (slika 15).



Slika 15. Promjene koncentracije kisika u površinskom i pridnenom sloju vode tijekom istraživanog razdoblja na istraživanim postajama

4.2.4. Koncentracija vodikovih iona (pH)

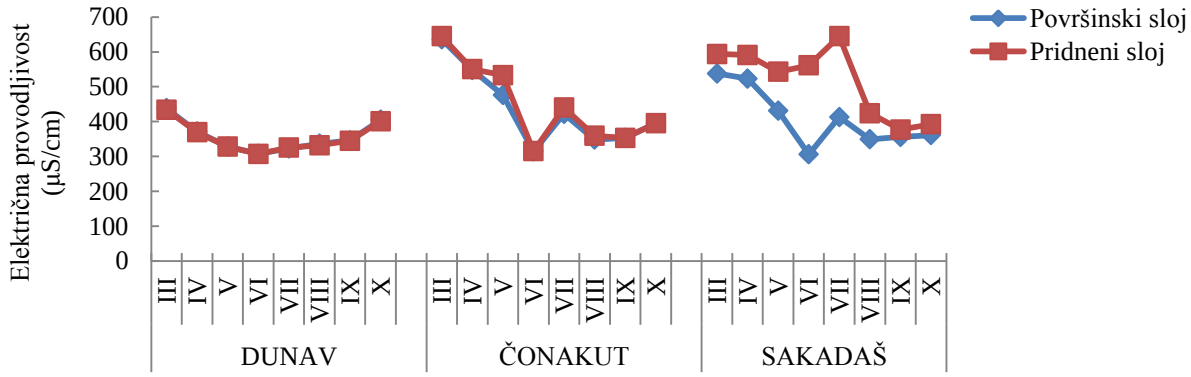
Koncentracija vodikovih iona na postaji Dunav kretala se od 7,88 (lipanj) do 8,65 (svibanj); u kanalu Čonakut od 7,33 (srpanj) do 8,09 (travanj); u Sakadaškom jezeru od 7,08 (srpanj) do 8,65 (listopad). Najveća koncentracija vodikovih iona zabilježena je na postaji Dunav u površinskom sloju (8,65; svibanj) i kanalu Čonakut u pridnenom sloju (8,65; listopad), dok je najmanja koncentracija vodikovih iona zabilježena u kanalu Čonakut u pridnenom sloju (7,08; srpanj) (slika 16).



Slika 16. Promjene pH u površinskom i pridnenom sloju vode tijekom istraživanog razdoblja na istraživanim postajama

4.2.5. Električna provodljivost

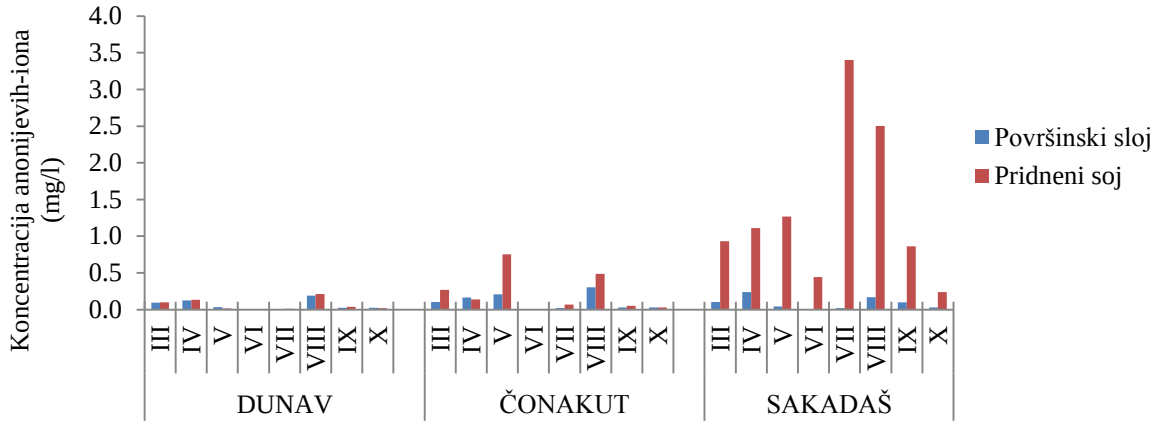
Na postaji Dunav električna provodljivost kretala se od 307 µS/cm (lipanj) do 438 µS/cm (ožujak) ; u kanalu Čonakut od 314 µS/cm (lipanj) do 645 µS/cm (ožujak) ; u Sakadaškom jezeru od 306 µS/cm (lipanj) do 594 µS/cm (ožujak). Najveća električna provodljivost zabilježena je u kanalu Čonakut u pridnenom sloju (645 µS/cm; ožujak), a najniža u Dunavu u površinskom i pridnenom sloju (305 µS/cm; lipanj) (slika 17).



Slika 17. Promjene električne provodljivosti u površinskom i pridnenom sloju vode tijekom istraživanog razdoblja na istraživanim postajama

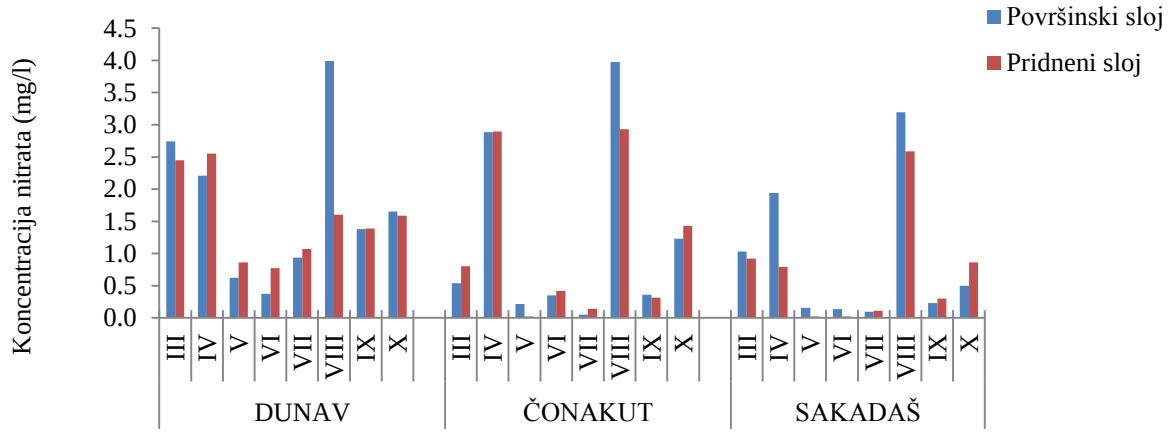
4.2.6. Hranjive tvari

Na postaji Dunav koncentracija amonijevih-iona kretala se od 0,007 mg/l (lipanj, pridneni sloj) do 0,212 mg/l (kolovoz, pridneni sloj); u kanalu Čonakut od 0,004 mg/l (lipanj, površinski sloj) do 0,132 mg/l (travanj, pridneni sloj); u Sakadaškom jezeru od 0,005mg/l (lipanj, površinski sloj) do 2,502 mg/l (kolovoz, pridneni sloj). Najveća koncentracija amonijevih- iona zabilježena je u Sakadaškom jezeru u pridnenom sloju (2,502 mg/l; srpanj), dok je najmanja koncentracija amonijevih-iona zabilježena u kanalu Čonakut u površinskom sloju (0,004 mg/l; lipanj). Na postaji Sakadaško jezero zabilježene su veće koncentracije amonijevih-iona u pridnenom sloju (slika 18).



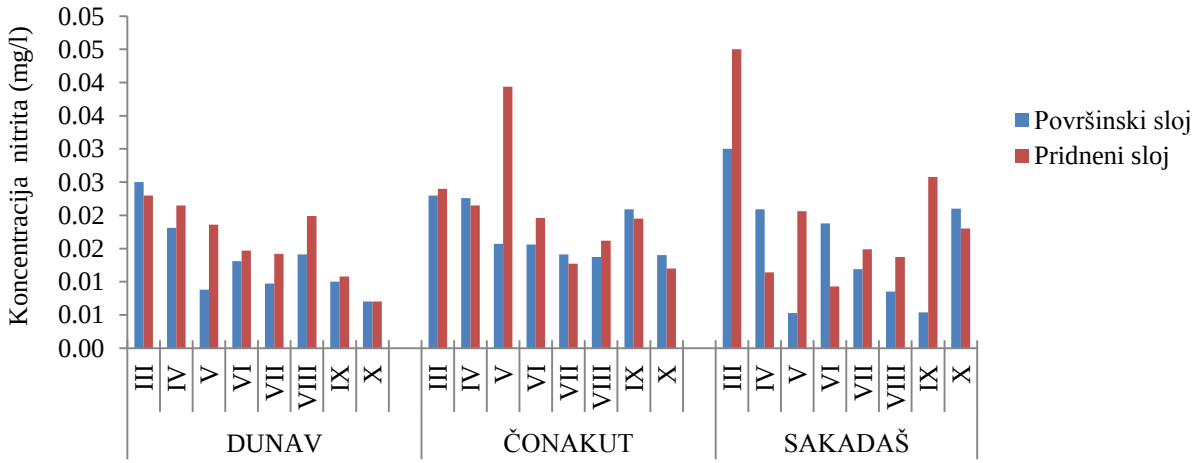
Slika 18. Promjene koncentracije amonijevih-iona u površinskom i pridnenom sloju vode tijekom istraživanog razdoblja na istraživanim postajama

Koncentracija nitrata je na sve tri postaje bila najveća u površinskom sloju u mjesecu srpnju. Koncentracija nitrata na postaji Dunav kretala se od 0,374 mg/l (lipanj, površinski sloj) do 3,989 mg/l (kolovoz, površinski sloj); u kanalu Čonakut od 0,02 mg/l (svibanj, pridneni sloj) do 3,973 mg/l (kolovoz, površinski sloj); u Sakadaškom jezeru od 0,02 mg/l (svibanj, pridneni sloj) do 3,191 mg/l (kolovoz, površinski sloj). Najveća koncentracija nitrata zabilježena je na postaji Dunav u površinskom sloju (3,973 mg/l; srpanj), a najmanja u pridnenom sloju u kanalu Čonakut (0,02 mg/l; svibanj) i Sakadaškom jezeru (0,02 mg/l; svibanj, lipanj) (slika 19).



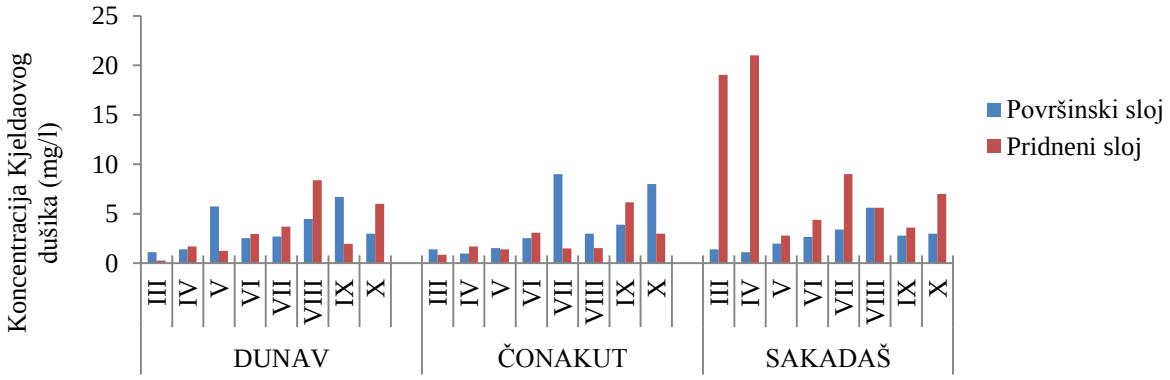
Slika 19. Promjene koncentracije nitrata u površinskom i pridnenom sloju vode tijekom istraživanog razdoblja na istraživanim postajama

Najveća koncentracija nitrita zabilježena je u Sakadaškom jezeru u pridnenom sloju (0,045 mg/l; ožujak), a najmanja u Sakadaškom jezeru u pridnenom sloju (0,02 mg/l; svibanj). Koncentracija nitrita na postaji Dunav u površinskom sloju kretala se od 0,007 mg/l (listopad) do 0,025 mg/l (ožujak), u pridnenom sloju od 0,007 mg/l (listopada) do 0,023 mg/l (ožujak); u kanalu Čonakut u površinskom sloju koncentracija nitrita kretala se od 0,023 mg/l (ožujak), a u pridnenom sloju od 0,012 mg/l (listopad) do 0,039 mg/l (svibanj); u Sakadaškom jezeru u 0,009 mg/l (listopad) do 0,045 mg/l (ožujak) (slika 20).



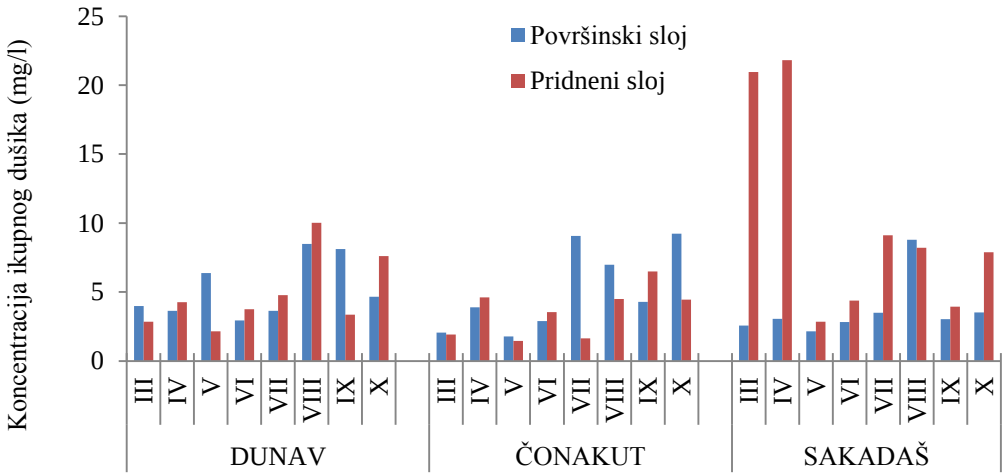
Slika 20. Promjene koncentracije nitrita u površinskom i pridnenom sloju vode tijekom istraživanog razdoblja na istraživanim postajama

Najveće koncentracije Kjeldalovog dušika zabilježene su u Sakadaškom jezeru u pridnenom sloju (21,1 mg/l; travanj), a najmanje na postaji Dunav u pridnenom sloju (0,28 mg/l; ožujak). Koncentracija Kjeldalovog dušika na postaji Dunav u površinskom sloju kretala se od 1,12 mg/l (ožujak) do 6,72 mg/l (rujan), u pridnenom sloju od 0,28 mg/l (ožujak) do 8,4 mg/l (kolovoz) ; u kanalu Čonakut u površinskom sloju od 0,98 mg/l (travanj), u pridnenom sloju od 0,84 mg/l (ožujak) do 6,16 mg/l (rujan); u Sakadaškom jezeru u površinskom sloju od 1,1 mg/l (travanj) do 5,6 mg/l (kolovoz), a u pridnenom sloju od 1,9 mg/l (ožujak) do 21,1 mg/l (travanj) (slika 21).



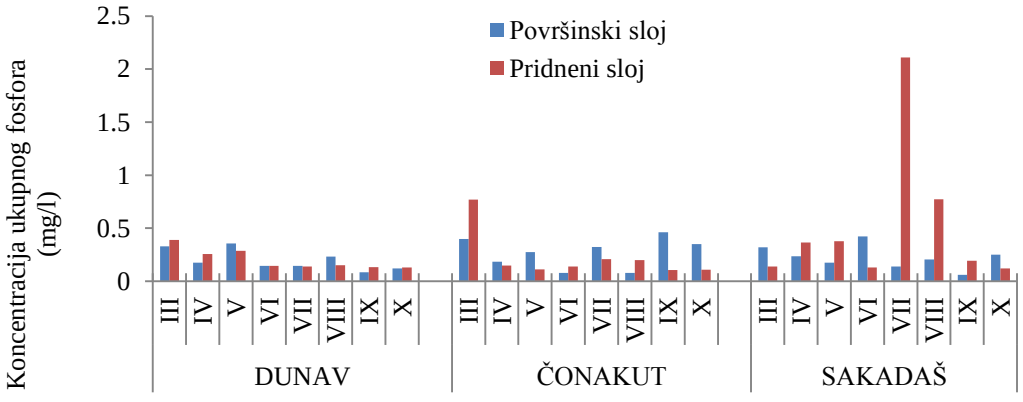
Slika 21. Promjene koncentracije Kjeldalovog dušika u površinskom i pridnenom sloju vode tijekom istraživanog razdoblja na istraživanim postajama

Koncentracija ukupnog dušika na postoji Dunav kretala se od 2,14 mg/l (svibanj, pridneni sloj) do 10,01 mg/l (kolovoz, pridneni sloj); u kanalu Čonakut od 1,45 mg/l (svibanj, pridneni sloj) do 9,06 mg/l (srpanj, površinski sloj); u Sakadaškom jezeru koncentracija ukupnog dušika kretala se od 2,15 mg/l (svibanj, površinski sloj) do 21,8 mg/l (travanj, pridneni sloj). Najviša koncentracija ukupnog dušika zabilježena je u Sakadaškom jezeru u pridnenom sloju (21,8 mg/l; travanj), a najniža u kanalu Čonakut u pridnenom sloju (1,45 mg/l; svibanj) (slika 22).



Slika 22. Promjene koncentracije ukupnog dušika u površinskom i pridnenom sloju vode tijekom istraživanog razdoblja na istraživanim postajama

Koncentracija ukupnog fosfora na postaji Dunav kretala se od 0,08 mg/l (rujan, površinski sloj) do 0,39 mg/l (ožujak, pridneni sloj);u kanalu Čonakut od 0,07 mg/l (kolovoz, površinski sloj) do 0,77 mg/l (ožujak, pridneni sloj); u Sakadaškom jezeru od 0,06 mg/l (rujan, površinski sloj) do 2,1 mg/l (srpanj, pridneni sloj). Najviša koncentracija ukupnog fosfora zabilježena je u Sakadaškom jezeru u pridnenom sloju (2,1 mg/l; srpanj), a najniža također u Sakadaškom jezeru u površinskom sloju (0,06 mg/l; rujan) (slika 23).

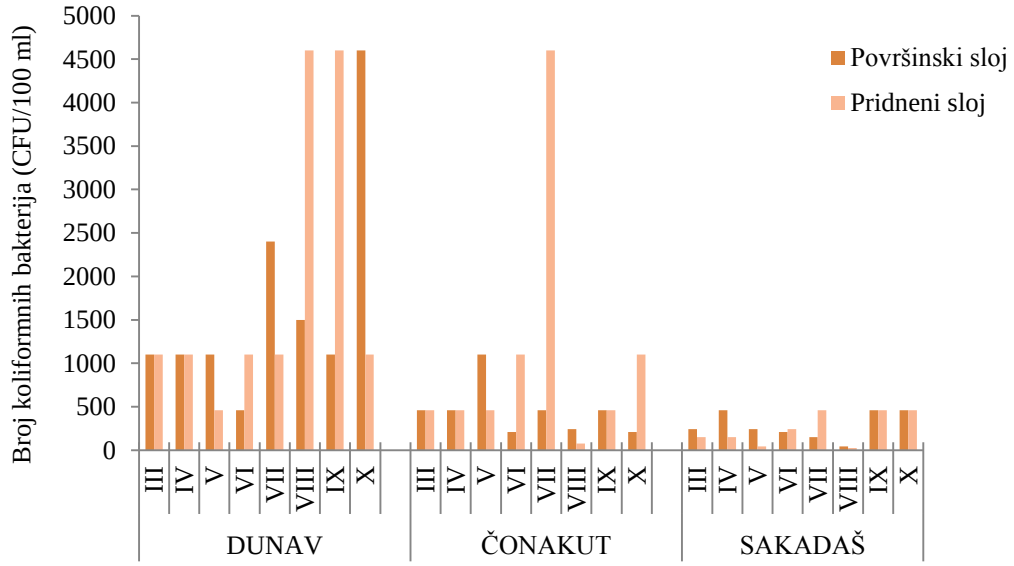


Slika 23. Promjene koncentracije ukupnog fosfora u površinskom i pridnenom sloju vode tijekom istraživanog razdoblja na istraživanim postajama

4.3. Brojnost bakterija

4.3.1. Koliformne bakterije

Broj koliformnih bakterija na postaji Dunav u površinskom sloju kretao se od 460 CFU/100 ml (lipanj) do 4600 CFU/100 ml (listopad), u pridnenom sloju od 460 CFU/100 ml (svibanj) do 4600 CFU/100 ml (srpanj, kolovoz); u kanalu Čonakut broj koliformnih bakterija u površinskom sloju kretao se od 210 CFU/100 ml (lipanj) do 1100 CFU/100 ml (svibanj), u pridnenom sloju od 75 CFU/100 ml (kolovoz) do 4600 CFU/100 ml (srpanj); u Sakadaškom jezeru u površinskom sloju od 43 CFU/100 ml (kolovoz) do 460 CFU/100 ml (travanj, rujan, listopad), a u pridnenom sloju od 23 CFU/100 ml (kolovoz) do 460 CFU/100 ml (srpanj, rujan, listopad) (slika 24).

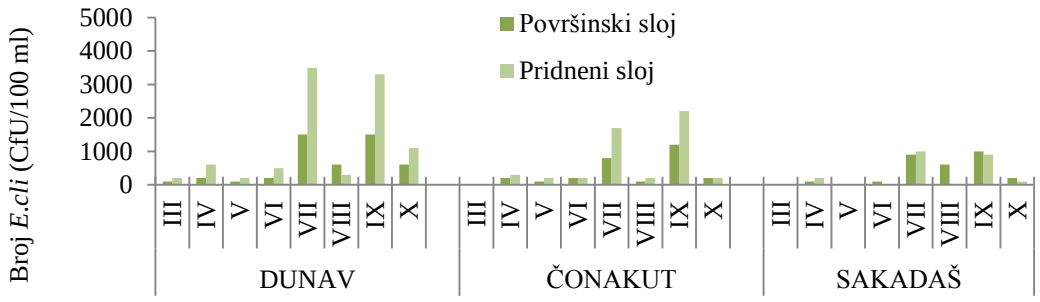


Slika 24. Promjene broja koliformnih bakterija određene MPN metodom u površinskom i pridnenom sloju vode tijekom istraživanog razdoblja na istraživanim postajama

4.3.2. Echerichia coli

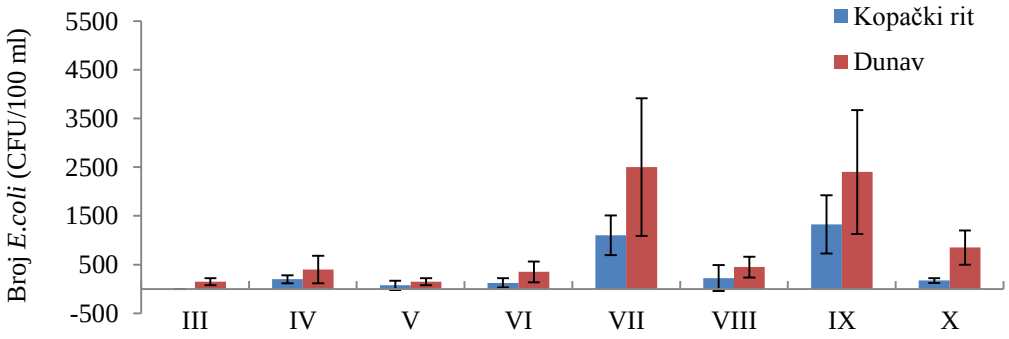
4.3.2.1. Standardni test (TTC)

Na postaji Dunav u površinskom sloju broj *E.coli* kretao se od 100 CFU/100 ml (ožujak, svibanj) do 1500 CFU/100 ml (srpanj, rujan), u pridnenom sloju od 200 CFU/100 ml (ožujak, svibanj) do 3500 CFU/100 ml (srpanj) što je ujedno i najveći zabilježeni broj *E.coli* na sve tri postaje ; u kanalu Čonakut u površinskom sloju od 0 CFU/100 ml (ožujak) do 1200 CFU/100 ml (rujan), u pridnenom sloju od 0 CFU/100 ml (ožujak) do 2200 CFU/100 ml (rujan); u Sakadaškom jezeru broj *E.coli* u površinskom sloju kretao se od 0 CFU/100 ml (ožujak, svibanj) do 1000 CFU/100 ml (rujan), a u pridnenom sloju od 0 CFU/100 ml (ožujak, svibanj, lipanj) do 1000 CFU/100 ml (srpanj) (slika 25).



Slika 25. Promjene broja *E.coli* u površinskom i pridnenom sloju vode tijekom istraživanog razdoblja na istraživanim postajama

U Kopačkom ritu najveći broj *E.coli* zabilježen je u rujnu (1325 CFU/100 ml), a najmanji u ožujku (0 CFU/100 mL), a na postaji Dunav najveći broj *E.coli* zabilježen je u srpnju (2500 CFU/100 ml), a najmanji u ožujku i svibnju (150 CFU/100 ml) (slika 26).



Slika 26. Promjene broja *E.coli* u Kopačkom ritu i na postaji Dunav tijekom istraživanog razdoblja. Prikazane vrijednosti predstavljaju srednju vrijednost površinskog i pridnenog sloja, a zastavice standardnu devijaciju.

Univarijantna analiza varijance (One-way ANOVA), popraćena LSD testom, pokazala je da su razlike u broju *E.coli* između istraživanih mjeseci u Kopačkom ritu statistički vrlo značajne ($p<0,05$). Rezultati LSD testa prikazani su Tablicom 1.

Tablica 1. Rezultati LSD testa za razlike u broju *E.coli* između istraživanih mjeseci u Kopačkom ritu, siva boja pokazuje statistički značajne vrijednosti.

TTC	Ožujak	Travanj	Svibanj	Lipanj	Srpanj	Kolovoz	Rujan	Listopad
Ožujak		0,00023	0,05116	0,00433	0,00001	0,00249	0,00000	0,00028
Travanj	0,00023		0,03187	0,24912	0,16569	0,34937	0,13023	0,93409
Svibanj	0,05116	0,03187		0,28328	0,00110	0,19790	0,00078	0,03807
Lipanj	0,00433	0,24912	0,28328		0,01532	0,82259	0,01120	0,28328
Srpanj	0,00001	0,16569	0,00110	0,01532		0,02537	0,89205	0,14326
Kolovoz	0,00249	0,34937	0,19790	0,82259	0,02537		0,01874	0,39244
Rujan	0,00000	0,13023	0,00078	0,01120	0,89205	0,01874		0,11188
Listopad	0,00028	0,93409	0,03807	0,28328	0,14326	0,39244	0,11188	

Koeficijenti korelacije u Kopačkom ritu između fizikalno-kemijskih parametara i broja *E.coli* prikazani su u Tablici 2. Varijable su smatrane statistički značajnim kada je $p<0,05$. Statistički značajni koeficijenti korelacije utvrđeni su između broja *E.coli* i: pH (listopad), konduktiviteta (kolovoz), amonijaka (kolovoz), nitrita (lipanj), Kjeldahlovog dušika (lipanj) i ukupnog N (rujan).

Tablica 2. Koeficijenti korelacije između fizikalno-kemijskih parametara i broja *E.coli* u Kopačkom ritu. Sivom bojom su označeni statistički značajni koeficijenti korelacije. *a-koeficijent korelacije nije izračunat jer je u mjesecu ožujku srednja vrijednost broja *E.coli* iznosila 0 CFU/100 ml.

TTC	Ožujak	Travanj	Svibanj	Lipanj	Srpanj	Kolovoz	Rujan	Listopad
O_2	.[a]	-0,187	0,857	0,857	-0,877	0,826	0,279	0,497
pH	.[a]	-0,458	-0,6	0,788	-0,354	0,845	0,237	-0,954
Konduktivitet	.[a]	0,523	0,257	-0,985	0,009	-0,956	-0,605	-0,255
Amonijak	.[a]	-0,019	-0,048	-0,992	-0,076	-0,975	-0,57	-1
Nitrati	.[a]	0,237	0,094	0,828	0,876	0,556	0,331	0,182
Nitriti	.[a]	-0,039	0,654	0,907	-0,274	-0,33	0,095	-0,555
Kjeldahl N	.[a]	0,18	-0,883	-0,925	-0,795	-0,37	0,919	-0,484
Ukupni P	.[a]	-0,298	-0,461	0,139	-0,135	-0,887	-0,145	0,512
Ukupni N	.[a]	0,27	-0,892	-0,834	-0,788	-0,256	-0,98	-0,438
Dubina	.[a]	0,291	-0,139	-0,385	0,868	-0,417	0,273	-0,567
Prozirnost	.[a]	-0,695	-0,995	-0,676	0,358	-0,361	-0,778	-0,577
Temperatura vode	.[a]	-0,99	-0,018	0,857	-0,425	0,344	-0,377	-0,317

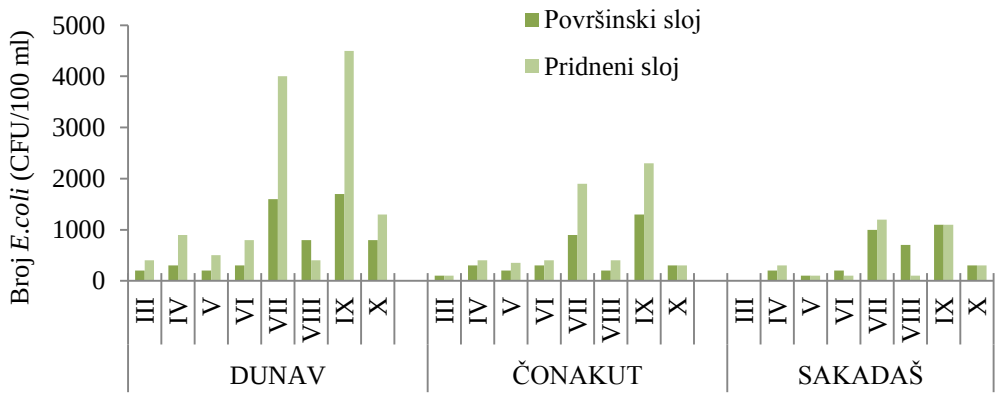
U Tablici 3. prikazani su korelacijski koeficijenti između broja *E.coli* i fizikalno-kemijskih parametara na postaji Dunav, Sakadaško jezero i kanal Čonakut za površinski i pridneni sloj. Varijable su smatrane statistički značajnim kada je $p<0,05$.

Tablica 3. Koeficijenti korelacije između broja *E.coli* i fizikalno-kemijskih parametara na postaji Dunav, Sakadaškom jezeru i kanalu Čonakut (površinski i pridneni sloj). Sivom bojom su označeni statistički značajni koeficijenti korelacije.

TTC	Dunav (površina)	Dunav (dno)	Sakadaš (površina)	Sakadaš (dno)	Čonakut (površina)	Čonakut (dno)
O_2	-0,892	-0,617	-0,191	-0,284	-0,221	-0,182
pH	-0,716	-0,547	-0,061	0,132	0,166	0,179
Konduktivitet	-0,255	-0,197	-0,559	-0,146	-0,66	-0,596
Amonijak	-0,202	-0,512	0,036	-0,515	-0,305	-0,261
Nitrati	0,056	-0,178	0,078	-0,204	-0,08	-0,161
Nitriti	-0,537	-0,693	-0,368	-0,228	-0,397	-0,263
Kjeldahl N	0,421	0,294	0,618	0,16	0,52	0,604
Ukupni P	-0,765	-0,69	-0,373	0,342	-0,069	-0,872
Ukupni N	0,316	0,161	0,226	-0,1	0,181	-0,153
Dubina	-0,327	-0,476	-0,003	0,64	-0,092	0,658
Prozirnost	-0,325	-0,248	-0,737	-0,552	0,033	-0,023
Temperatura vode	0,676	0,456	0,655	0,162	0,536	0,580

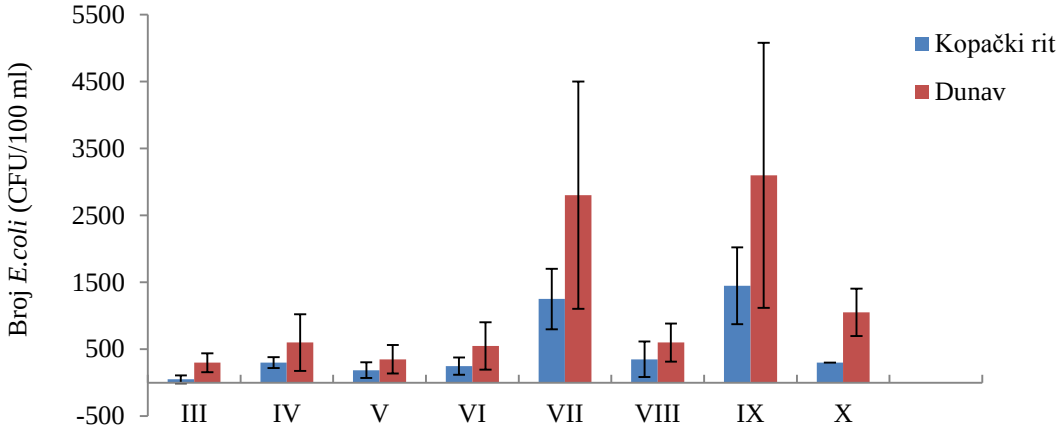
4.3.2.2. Brzi test (TSA+TBA)

Na postaji Dunav u površinskom sloju broj *E.coli* kretao se od 200 CFU/100 ml (ožujak, svibanj) do 1700 CFU/100 ml (rujan), u pridnenom sloju od 400 CFU/100 ml (ožujak, kolovoz) do 4500 CFU/100 ml (rujan) što je ujedno i najveći zabilježeni broj *E.coli* na sve tri postaje; u kanalu Čonakut u površinskom sloju od 100 CFU/100 ml (ožujak) do 1300 CFU/100 ml (rujan), u pridnenom sloju od 100 CFU/100 ml (ožujak) do 2300 CFU/100 ml (rujan); u Sakadaškom jezeru broj *E.coli* u površinskom sloju kretao se od 0 CFU/100 ml (ožujak,) do 1100 CFU/100 ml (rujan), a u pridnenom sloju od 0 CFU/100 ml (ožujak) do 1200 CFU/100 ml (srpanj) (slika 27).



Slika 27. Promjene broja *E.coli* u površinskom i pridnenom sloju vode tijekom istraživanog razdoblja na istraživanim postajama

U Kopačkom ritu najveći broj *E.coli* zabilježen je u rujnu (1450 CFU/100 ml), a najmanji ožujku (50 CFU/100 ml), a na postaji Dunav najveći broj *E.coli* je zabilježen u rujnu (3100 CFU/100 ml), a najmanji u ožujku (300 CFU/100 ml) (slika 28).



Slika 28. Promjene broja *E.coli* u Kopačkom ritu i na postaji Dunav tijekom istraživanog razdoblja. Prikazane vrijednosti predstavljaju srednju vrijednost površinskog i pridnenog sloja, a zastavice standardnu devijaciju.

Univarijantna analiza varijance (One-way ANOVA), popraćena LSD testom, pokazala je da su razlike u broju *E.coli* između istraživanih mjeseci u Kopačkom ritu statistički vrlo značajne ($p<0,05$). Rezultati LSD testa prikazani su Tablicom 4.

Tablica 4. Rezultati LSD za razlike u broju *E.coli* između istraživanih mjeseci u Kopačkom ritu, siva boja pokazuje statistički značajne vrijednosti.

TSA+TBA	Ožujak	Travanj	Svibanj	Lipanj	Srpanj	Kolovoz	Rujan	Listopad
Ožujak		0,00013	0,00098	0,00035	0,00000	0,00017	0,00000	0,00012
Travanj	0,00014		0,44337	0,71662	0,06983	0,93459	0,04756	0,96895
Svibanj	0,00098	0,44337		0,68393	0,01318	0,49284	0,00848	0,42100
Lipanj	0,00035	0,71662	0,68393		0,03282	0,77858	0,02169	0,68788
Srpanj	0,00000	0,06983	0,01318	0,03282		0,05921	0,85045	0,07543
Kolovoz	0,00017	0,93459	0,49284	0,77858	0,05921		0,04003	0,90369
Rujan	0,00000	0,04756	0,00848	0,02169	0,85045	0,04003		0,05156
Listopad	0,00012	0,96895	0,42100	0,68788	0,07543	0,90369	0,05156	

Koeficijenti korelacije za istraživano vremensko razdoblje u Kopačkom ritu između fizikalno-kemijskih parametara i broja *E.coli* prikazani su u Tablici 5. Varijable su smatrane statistički značajnim kada je $p<0,05$. Statistički značajni koeficijenti korelacije utvrđeni su između broja *E.coli* i: nitrata (lipanj), Kjeldahlovog dušika (rujan), ukupni N (svibanj), dubine (srpanj) i prozirnosti (svibanj).

Tablica 5. Koeficijenti korelacije u istraživanom vremenskom razdoblju između fizikalno-kemijskih parametara i broja *E.coli*. Sivom bojom su označeni statistički značajni koeficijenti korelacije. *a-koeficijent korelacije nije izračunat jer je jedna od varijabla konstantna.

TSA+TBA	Ožujak	Travanj	Svibanj	Lipanj	Srpanj	Kolovoz	Rujan	Listopad
O_2	0,450	-0,149	-0,397	0,630	-0,889	0,698	0,150	.[a]
pH	-0,346	-0,415	-0,558	0,537	-0,449	0,858	0,118	.[a]
Konduktivitet	0,870	0,485	0,363	-0,860	0,116	-0,772	-0,504	.[a]
Amonijak	-0,454	-0,054	0,079	-0,878	0,031	-0,826	-0,466	.[a]
Nitrati	-0,824	0,264	-0,145	0,967	0,897	0,225	0,350	.[a]
Nitriti	-0,798	-0,009	0,802	0,835	-0,186	-0,481	0,185	.[a]
Kjeldahl N	-0,620	0,149	-0,854	-0,731	-0,735	-0,176	0,953	.[a]
Ukupni P	0,787	-0,333	-0,599	-0,143	-0,028	-0,639	-0,161	.[a]
Ukupni N	-0,643	0,235	-0,904	-0,574	-0,727	-0,140	-0,993	.[a]
Dubina	-0,272	0,330	0,117	-0,124	0,904	-0,177	0,372	.[a]
Prozirnost	-1,000	-0,702	-0,926	-0,861	0,310	-0,045	-0,746	.[a]
Temperatura vode	-0,297	-0,998	-0,697	0,191	-0,147	0,885	-0,554	.[a]

U Tablici 6. prikazani su korelacijski koeficijenti između broja *E.coli* i fizikalno-kemijskih parametara na postaji Dunav, Sakadaško jezero i kanal Čonakut za površinski i pridneni sloj. Varijable su smatrane statistički značajnim kada je $p<0,05$.

Tablica 6. Koeficijenti korelacije između broja *E.coli* i fizikalno-kemijskih parametara na postaji Dunav, Sakadaško jezero i kanalu Čonakut (površinski i pridneni sloj). Sivom bojom su označeni statistički značajni koeficijenti korelacije.

TSA+TBA	**Dunav (površina)**	**Dunav (dno)**	**Sakadaš (površina)**	**Sakadaš (dno)**	**Čonakut (površina)**	**Čonakut (dno)**
O_2	0,891	-0,544	-0,257	-0,302	-0,066	-0,020
pH	-0,477	-0,456	-0,339	0,007	0,249	-0,007
Konduktivitet	-0,631	-0,216	-0,625	-0,291	-0,487	-0,500
Amonijak	-0,389	-0,597	-0,077	-0,306	-0,551	-0,419
Nitrati	-0,345	-0,232	-0,108	-0,281	-0,335	-0,351
Nitriti	-0,637	-0,667	-0,740	-0,696	-0,105	-0,310
Kjeldahl N	0,572	0,151	0,610	-0,393	0,584	0,592
Ukupni P	-0,670	-0,605	-0,524	0,407	0,320	-0,579
Ukupni N	0,254	-0,015	0,137	-0,474	-0,008	-0,474
Dubina	-0,311	-0,518	-0,148	0,635	-0,379	0,725
Prozirnost	-0,606	-0,278	-0,562	-0,487	-0,120	-0,154
Temperatura vode	0,762	0,428	0,655	0,536	0,535	0,692

4. RASPRAVA

Dinamika koliformnih organizama i *E.coli* između Dunava i poplavnog područja (Kopački rit) praćena je za vrijeme hidrološki najdinamičnije faze proljeće-ljeto. Rijeke i njihova poplavna područja su integrirane komponente jednog dinamičkog sustava, povezane snažnim interakcijama između hidroloških i ekoloških procesa (Junk i sur., 1989). Poplave su glavna pokretačka sila koja određuje povezanost i fluktaciju tvari i organizama između rijeke i poplavnog područja, ali složenost promjena i procesa tijekom plavljenja poplavnog područja nisu dovoljno poznate. Fekalni pokazatelji onečišćenja (koliformi i *E. coli*) postoje u ljudima i životinjama. Postoji polemika o opstanku i prijenosu koliformnih grupa u potocima i rijekama (Hirotani i Yoskiro, 2010).

Broj koliformnih bakterija i *E.coli* najveći je na postaji Dunav, a njihov broj se smanjuje prema kanalu Čonakut i Sakadaškom jezeru, tj. u Sakadaškom jezeru je zabilježen najmanji broj koliformih bakterija i *E.coli*. Mjesečne vrijednosti koliformnih organizama koje na postaji Dunav dosežu čak do 4 600 CFU/100 ml su vrlo važne jer će se ti patogeni nastaviti akumulirati u otvorenim sustavima (Bell i sur., 1994). Prema Uredbi o klasifikaciji voda (NN,107/95) na temelju najvećeg broja koliformnih bakterija, Dunav i kanal Čonakut pripadaju II vrsti-tekuće vode koje mogu biti malo onečišćene organskim i anorganskim hranjivim tvarima, malo je povećana primarna produkcija i raspon koncentracije otopljenog kisika, karakteristični su beta-mezosaprobniindikatori, a mali je broj saprofitskih i koliformnih bakterija; Sakadaško jezero pripada I vrsti - prozirne i oligotrofne stajačiće. Dobivene maksimalne vrijednosti na postaji Dunav su vjerovatno povezane s točkastim izvorima onečišćenja (kao što su komunalne otpadne vode), a također i s netočkastim izvorima u bio-kontaminaciji vodenog ekosustava.

Do plavljenja Kopačkog rita došlo je u lipnju kada je zabilježen najviši vodostaj Dunava (454 cm), pod vodom je bilo 90 % Kopačkog rita i sve bare bile su poplavljene. Plavljenje je trajalo oko 11 dana. Rezultati pokazuju nagli porast broja *E.coli* u Kopačkom ritu u srpnju. Hidrološka povezanost između Dunava i poplavnog područja utječe na razmjenu vode, sedimenta i hranjivih tvari, ali i na život, prijenos i aktivnost mikroorganizama. Razmjena vode, sedimenta, hranjive tvari i bioti također utječe na život mikroorganizama, uključujući i viruse. Ajeagah i sur. (2012.) navode kako smanjenje starosti vode (dotok nove vode) utječe na bogaćenje alohtonog POM-a (particulate organic matter), količinu i kvalitetu čestica pri čemu starost vode utječe na biološke mehanizme koji reguliraju brojnost bakterija i virusa,

kao i produktivnost bakterioplanktona, što bi mogao biti jedan od glavnih razloga zbog kojeg je došlo do povećanja broja *E.coli* u Kopačkom ritu u srpnju, nakon razdoblja plavljenja. Količina uhvaćenih bakterija je pod utjecajem kvalitete čestica (Kirchman, 1983). U različitim vodenim sustavima, veličina čestica utječe na brojnost bakterija. Veći postotak i varijabilnost bakterijskih zajednica vezanih za čestice u slatkovodnim sredinama može se objasniti uslijed razlika u koncentraciji i kvaliteti čestica (Berger i sur.,1996). Kondratieff i Simmons (1985.) su dokazali da su manje čestice koloniziranije od većih čestica. Nizinske rijeke i njezina poplavna područja dobivaju velike količine alohtone organske tvari, koje se brzo transformiraju i razlažu što dovodi do razvoja različitih mikrostaništa na česticama. Zajednice bakterija vezanih za čestice ovise o promjenama uvjeta okoline, kao što su cvjetanje algi ili donos zemaljske organske materije i pojavljuju se za vrijeme visoke hidrološke povezanosti između rijeke i poplavnog područja (Besemer i sur., 2005).

Na temelju dosadašnjih istraživanja koja pokazuju pozitivan odnos između bioloških parametara i abiotičkih parametara kao što su temperatura, pH, salinitet i anorganske tvari, utvrđena je uloga abiotičkih faktora na opstanak i prijenos mikroorganizama u potocima i rijekama. Dobiveni rezultati podupiru prijašnje rezultate i pokazuju korelaciju između broja *E.coli* i pH, konduktiviteta, nitrata, nitrita i ukupnog P, Kjeldahlovog N i ukupnog N. Za vrijeme toplijih mjeseci se povećava broj *E.coli* zbog povećanja metaboličkog i reproduktivnog potencijala. Tako je najveći broj *E.coli* na postaji Dunav bio u mjesecu srpnju (2500 CFU/100 ml) prema Standardnom testu, kada je zabilježena i najveća temperature vode (30,7 ºC), dok je najmanji broj *E.coli* na postaji Dunav zabilježen u ožujku, 150 CFU/100 ml (Standardni test) i 300 CFU/100 ml (Brzi test), a isto tako i u Kopačkom ritu, 0 CFU/100 ml (Standardni test) i 50 CFU/100 ml (Brzi test), kada je zabilježena najmanja temperature vode i zraka. Mallin i sur. (2000.) je utvrdio da je broj fekalnih koliformnih bakterija snažno povezan s prozirnošću i salinitetom. Tako je u Sakadaškom jezeru (površinski sloj) broj *E.coli* u korelaciji sa prozirnošću vode, a u pridnenom sloju s dubinom vode. Broj *E.coli* je u korelaciji s dubinom vode i u kanalu Čonakut (pridneni sloj). Povećanje prozirnosti vode zabilježeno je od glavnog toka rijeke Dunav prema rubnom dijelu poplavnog područja. Maksimalna prozirnost vode u Sakadaškom jezeru povezana je s najvišim izmjerenim vodostajem Dunava u lipnju (454 cm). Sunčeva svjetlost je među najmoćnijim abiotičkim čimbenicima u inaktivaciji ili ubijanju indikatorskih bakterija u vodama (Whitman i sur., 2004). Proces inaktivacije indikatorskih bakterija u prirodnim vodama je prilično složen, no dva su glavna puta uključena u ovaj process: fotobiološka

(oštećenja DNA) i fotooksidacijska (oksidacija staničnih komponenti). Istraživanja su pokazala da kisik i organske tvari mogu ubrzati proces fotooksidacije. Stopa smrtnosti bakterija može biti izazavana solarnom radijacijom i temperaturom vode (Auer i Niehaus, 1993).

Budući da količina prodiranja svjetlosti ovisi o prozirnosti vode, povećanje prozirnosti prema rubnim dijelovima poplavnog područja može biti glavni razlog smanjenja koliformnih bakterija i *E.coli.* Suspendirane čestice kao što su mulj, otopljena organska i anorganska tvar, plankton i drugi mikroskopski organizmi uzrokuju zamućenje vode. Makrofitska vegetacija mogla je na različite načine utjecati na rast i razvoj fitoplanktona u poplavnom području: uzimanjem velikog dijela hranjivih tvari što rezultira nedostatkom hranjivih tvari potrebnih za razvoj fitoplanktona (Van Donk i sur., 1993), što može biti uzrok povećanja prozirnosti prema rubnim dijelovima poplavnog područja. Istraživanja Peršić i sur. (2005) pokazala su trend smanjivanja koncentracija nitrata prema unutrašnjosti poplavnog područja Kopačkog rita, dok je najveća koncentracija nitrata izmjerena u glavnom toku rijeke Dunav.

Luef i sur. (2007.) navode kako se obnavljanjem poplavnog segmenata ekološki obnavlja i sama rijeka (Dunav) i kako poplavna područja utječu na život mikroorganizama. Poplavna područja služe kao spužve, izvor su ili transformatori otopljenih i krutih organskih tvari, anorganskih hranjivih tvari i biota, i na taj način doprinose samopročišćavanju rijeke. Rijeke imaju sposobnost samopročišćavanja prvenstveno zbog djelovanja bakterija. Znanje o sastavu bakterijskih zajednica i njezin utjecaj na organske čestice najvažnije je za razumijevanje ekoloških procesa između rijeke i poplavnih područja. Bakterije su najvažniji konzumenti organskog ugljika u tekućicama i tako igraju značajnu uloga u vodenom ciklusu ugljika. One ne samo da metaboliziraju detritus koji nastaje raspadanjem viših organizama, već i organski otpad koji nastaje izlučevinama, kao i fotosintetske ekstracelularne izlučevine. Heterotrofne bakterije služe kao hrana višim organizmima, čime povećavaju produktivnost cijelog sustava. Iz ovog proizlazi ne samo važnost poplavnog područja u uslugama ekosistema, nego također i bakterija u poplavnom području koje mogu utjecati na pročišćavanje rijeke hidrološkim povezivanjem s poplavnim područjem i na povećanje produktivnosti cijelog sustava.

Fekalni koliformi i *E. coli* daju podatke o količini fekalnih koliforma koji su prisutni u vodi, a mogu biti povezani s patogenima (Texas Clean Rivers program, 2003). Procjenom stanja Dunava i Kopačkog rita, na temelju glavnih indikatora fekalnog zagađenja, možemo utvrditi koje usluge Kopačkog rita (kao poplavnog ekosistema) imaju značajnu vrijednost i kako

razvijati pristupe u održavanju tih usluga koje su održive samim upravljanjem, u odnosu na čovjeka i njegovo zdravlje.

Prema milenijskoj procjeni ekosustava (engl. Millennium Ecosystem Assessment) koja usluge ekosistema definira kao beneficije ljudi dobivene od strane ekosustava, razlikujemo četiri kategorije usluga ekosistema. Postoje usluge rezerviranja (proizvodi dobiveni iz ekosustava) - hrana, vlakna, gorivo, genetski izvori, svježa voda i dr.; usluge reguliranja - održavanje kvalitete zraka, regulacija voda, erozije, pročišćavanje voda; kulturne usluge (nematerijalne usluge ekosustava, npr. rekreacija, ekoturizam); prateće usluge (potrebne za proizvodnju svih ostalih usluga ekosustava). Osim ekološke vrijednosti, usluge ekosistema imaju veliki ekonomski značaj. Uzmemo li u obzir sve dosad navedene značajke poplavnih područja, možemo zaključiti kako osim svojih ekoloških vrijednosti imaju i veliku ekonomsku vrijednost. Obradom otpada močvarna staništa smanjuju zdrastvene troškove, restauracija poplavnih područja može zamijeniti pročišćivaće voda, poboljšana kvaliteta vode utječe na prihode u ribarstvu, također poplavna staništa i njihova bioraznolikost imaju veliki značaj u razvoju ekoturizma.

5. ZAKLJUČAK

Rezultati pokazuju kako se broj koliformnih bakterija kao i *E.coli* u Kopačkom ritu naglo povećava nakon razdoblja plavljenja poplavnog područja. Broj bakterija je bio najmanji tijekom proljetnog razdoblja, a maksimum je postignut tijekom ranog i kasnog ljeta.

Broj koliformnih bakterija i *E.coli* se smanjuje od Dunava prema rubnim dijelovima poplavnog područja. S obzirom na najveći zabilježeni broj koliformnih bakterija, prema Uredbi o klasifikaciji voda (NN,107/95) Dunav i kanal Čonakut se svrstavaju u II vrstu voda, a Sakadaško jezero u I vrstu voda.

Rezultati pokazuju pozitivan odnos između broja *E.coli* i abiotičkih parametara kao što su temperatura, pH, konduktivitet, prozirnost, dubina i hranjive tvari te njihovu ulogu u opstanaku i prijenosu koliformnih bakterija i *E.coli*.

6. LITERATURA

Ajeagah G., Cioroi M., Praisler M., Constantin C, Palela M., Bahrim G. (2011.). Bacteriological and environmental characterisation of the water quality in the Danube River Basin in the Galati area of Romania; African Journal of Microbiology Research Vol. 6(2), pp. 292-301.

American Rivers. 2003. The value of floods and floodplains.

APHA. 1985. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 16th edn. American Public Health Association, Washington DC

Auer MT, Niehaus SL (1993). Modeling Fecal Coliform Bacteria. I. Field and Laboratory Determination of Loss Kinetics. Water Resources, 27(4): 693-701.

Basemer K, Markus MM, Jesus MA, Gerhard JH, Peter P (2005) Complexity of Bacterial communities in a River-floodplain System (Danube, Austria), Appl. Environ. Microbiol., pp. 609-620.

Bell BP, Goldoft M, Griffin PM (1994). A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7-associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers: the Washington experience. JAMA: 272:1349JAMA: 272:1349-53.

Berger B., Hoch B., Kavka G. & Herndl G.J. (1996) Bacterial colonization of suspended solids in the River Danube. Aquatic Microbial Ecology, 10, 37–44.

Bitton G. (2005.): Wastewater Microbiology. John Wiley&Sons, Inc. Hoboken, New Jersey.

Bonacci O., Tadić Z., Moržan A., Radeljak I. 2003. Park prirode Kopački rit, Plan upravljanja. Sektorska studija Hidrologija i meteorologija. Osijek.

Cieslak PR, Barrett TJ, Griffin PM (1993). *Escherichia coli* O157:H7 infection from a manured garden. Lancet, 342:367.

Gucunski D. 1994. Važnost zaštite hidrološkog sustava Specijalnog zoološkog rezervata Kopački rit. Zbornik Ekoloških Radova "Problemi u Zaštiti Okoliša" 1:15-23

Hammer, Donald A. 1997. Creating Freshwater Wetlands, second edition. Lewis Publishers, NY.: 106-116 P.

Hein T, Barany C, Reckendorfer W, Schiemer F. 2004. The impact of surface water exchange on the nutrient and particel dynamics in side-arms along the River Danube; Austria. Sci Total Environ 328: 207-218.

Henze M., Loosdrecht van M. C. M., Ekama G.A., Brdjanovic D. (2008.): Biological Wastewater Treatment. Principles, Modelling and Design. IWA Publishing, London.

Hirotani H, Yoshino M (2010). Microbial indicators in biofilms developed in the riverbed, Water Sci. Technol., 62(5):1149-53

Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T., Williams S.T. (1994.): Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Williams and Wilkins, Baltimore.

Johnston, Carol A., Detenbeck, Naomi E., and Niemi, Gerald J. 1990. The cumulative effect of wetlands on stream water quality and quantity. A landscape approach. Biogeochemistry 10: 105-142.

Junk W., Bayley PB, Sparks RE. 1989. The flood pulse concept in river floodplain system. Can Spec Pub Fish Aquat Sci 106: 110-127.

Kelsey H, Porter DE, Scott G, Neet M, White D (2004). Using Geographic Information Systems and Regression Analysis to Evaluate Relationships Between Land Use and Fecal Coliform Bacterial Pollution. J. Exp. Marine Biol. Ecol., 298: 197-209.

Kondratieff P.F. & Simmons G.M. (1985) Microbial colonization of seston and free bacteria in an impounded river. Hydrobiologia, 128, 127–133.

Luef B., Aspetsberger F., Hein T, Huber F., Peduzzi P. (2007). Impact of hydrology on free-living and particle-associated microorganisms in a river floodplain system (Danube,Austria), Freshwater Biology (2007) 52, 1043–1057.

Mallin MA, Williams KE, Esham EG, Low RP (2000). Effect of Human Development on Bacteriological Water Quality in Coastal Watersheds. Ecol. Appl. 10(4): 1047-1056.

Mihaljević M., Getz D, Tadić Z, Živanović B, Gucunski D, Topić J, Kalinović I, Mikuska J. 1999. Kopački Rit. Pregled istraživanja i bibliografija. HAZU, Zavod za znanstveni rad Osijek, Zagreb-Osijek, 188 str.

Neiff JJ. 1996. Large rivers of South America: toward the new approach. Verh Int Ver Theor Angew Limnol 26: 167–180.

Peršić V., Horvatić J, Mihaljević M. 2005. Bioassay method in the trophic evaluation of a wetland area-case study in the Danubian region (1426-1388 r.km). Period biol 107: 293-298.

Stilinović B., Hrenović J. (2009.): Praktikum iz bakteriologije. Kugler, Zagreb.

Straus D.C. (1986.), Production of an Extracellular Toxic Complex by Various Strains of *Klebsiella pneumoniae*; Infection and immunity, Jan. 1987, p. 44-48 Vol. 55, No. 1

TEEB (2009), The Economics of Ecosystems and Biodiversity for National and International Policy Maker, Summary: Responding to the Value of Nature; Wesseling, Germany

Texas Clean Rivers Program (2003.) Basin Summary Report for the San Antonio River Basin; Texas

Tockner K, Baumgartner C, Schiemer F, Ward JV. 2000b. "Biodiversity of a danubian floodplain: structural, functional and compositional aspects," in *Biodiversity in Wetlands: Assessment, Function and Conservation*, edited by B. et al. Gopal, Leiden: Backhuys Publications, str. 141-59.

USEPA Office of Water. 1997. Monitoring Guidance for Determining the Effectiveness of Nonpoint Source Controls. EPA-841-B-96-004. United States Environmental Protection Agency, Washington, D.C.: 1-4 P.Welsh et al., 1995

Van den Brink FWB, Van Katwijk MM, Van der Velde G. 1994. Impact of hydrology on phyto- and zooplankton community composition in floodplain lakes along the lower Rhine and Meuse. J Plankton Res 16: 351-373.

Van Donk E., Gulati R.D., Iedema A., Meulemans J.T. 1993. Macrophyte-related shifts in the nitrogen and phosphorus contents of the different trophic levels in a biomanipulated shallow lake. Hydrobiologia 251: 19-26.

Vitousek, Peter M., Aber, John D., Howarth, Robert W., Likens, Gene E., Matson, Pamela A., Schindler, David W., Schlesinger, William H., and Tilman, David G. 1997. Human Alteration of the Global Nitrogen Cycle: Sources and Consequences. Ecological Applications 7(3): 737-750.

Welsch, David J., Smart, David L., Boyer, James N, Minkin, Paul, Smith, Howard C., and McCandless, Tamara L. 1995. Forested Wetlands, Functions, Benefits, and the Use of Best Management Practices. United States Department of Agricuture Forest Service, Radnor, PA.: 30-31 P.

Whitman R., Nevers M.B., Korinek C.G., and Byappanahalli M.N., 2004.: Solar and Temporal Effects on *Escherichia coli* Concentration at a Lake Michigan Swimming Beach; Appl Environ Microbiol. 2004 July; 70(7): 4276–4285.

Zakon o Parku prirode „Kopački rit". Narodne novine, 45/99

Zakon o zaštiti prirode. Narodne novine SRH, 54/76.

Živanović B., 1985.: Utjecaj otpadnih voda na bakterije i kvalitetu voda Jezera Sakadaš (Kopački rit). Zbornik radova I. Jugoslavenskog simpozija mikrobne ekologije, Portorož, 95-96.

WEB STRANICE:

http://en.wikipedia.org/wiki/Ecosystem_services

https://bib.irb.hr/datoteka/447440.hrvatske_vode.pdf

http://www.unep.org/maweb/documents/document.300.aspx.pdf

http://www.rubicode.net/rubicode/RUBICODE_Brochure_Final.pdf

Web 1-http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Citrobacter_freundii.jpg

Web 2 -http://thebookofhealthblog.blogspot.com/2013/03/Enterobacter.html

Web 3-http://klebsiellapneumoniae.org/klebsiella_pneumoniae_urinary_tract_infection.html

Web 4-http://en.wikipedia.org/wiki/Danube

Web 5- http://uqu.edu.sa/page/ar/200