ALTERNATOR
Misliti znanost.

Na sledi patogenim mikroorganizmom v slovenskem morju

20. 10. 2022

Številka: 30/2022

Avtorji:

- Neža Orel
- Valentina Turk
- Matjaž Ličer
- Tinkara Tinta



Foto: Mick Haupt (Unsplash (https://unsplash.com/photos/k0y4BY-8FnE))

Ljudje pomembno vplivamo na svet okoli nas, kar se odraža tudi v spremembah morskih ekosistemov. Zaradi preseljevanj v obalna območja so ta okolja podvržena številnim antropogenim pritiskom, med katerimi predstavljajo posebno nevarnost izpusti odpadnih vod iz čistilnih naprav, napake v kanalizacijskih sistemih, spiranje z urbanih površin in kmetijskih zemljišč idr. Vsi ti viri v obalna morja prinašajo alohtone mikrooganizme (tj. mikroorganizme, ki izvirajo iz drugih okolij), med katerimi so tudi taki, ki so lahko patogeni za človeka in morske organizme. Odpadne vode v morje istočasno vnašajo znatne količine organskih in anorganskih spojin, ki zlasti v obdobjih povečanih rečnih vnosov in padavin (tj. nižje slanosti) ter povišanih temperatur pripomorejo k temu, da lahko alohtoni mikroorganizmi preživijo dlje časa, ter vplivajo na sestavo in delovanje mikrobne združbe, ki je naravno prisotna v obalnem morju. Prepoznavanje virov fekalnega onesnaženja in obsega širjenja potencialno patogenih mikroorganizmov v morskem okolju je kritično za zagotavljanje zdravja ljudi (https://doi.org/10.1007/b102184) , zagotavljanje varne morske hrane (https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.04.029) in zdravja morskih ekosistemov. Mikrobni patogeni povzročajo številne bolezni (https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02209.x) morskih organizmov, kot so npr. množični pogini leščurja (https://doi.org/10.1038/s41598-018-37217-y) v Sredozemskem morju, bledenja koral ter odmiranje morskih travnikov (https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.09.030) . Kljub velikemu pomenu za varnost ljudi in številnim vplivom na delovanje morskih ekosistemov ter kakovost njihovih ekosistemskih storitev je znanje o številčnosti, taksonomiji, fiziologiji in metabolizmu morskih patogenov v povojih.

Molekularna in računska biologija pomenita preskok v razumevanju morskih mikrobiomov

Eden izmed pokazateljev fekalnega onesnaženja je prisotnost skupine mikroorganizmov, ki jih imenujemo *koliformne bakterije* in izvirajo predvsem iz prebavil človeka in ostalih toplokrvnih živali. Prisotnost teh klasičnih pokazateljev (tj. *Escherichie coli* in intestinalnih enterokokov) se v okviru rednih monitoringov spremljanja kakovosti kopalnih voda ali kakovosti voda v območjih marikulture določa s klasičnimi gojitvenimi metodami. Vendar lahko na ta način spremljamo le majhen delež mikroorganizmov, izoliranih iz okolja (~1–10 %), tj. tistih, ki jih znamo gojiti v laboratorijskih pogojih. Implementacija sodobnih metod na osnovi molekularne biologije, ki ne slonijo na gojenju mikroorganizmov (DNK sekvenciranje, analize 16S rRNK amplikonov in celotnega genetskega zapisa populacij – metagenomika (https://www.youtube.com/watch?v=MqD4aN1p1qA) , itd.), omogoča hitrejši in predvsem bolj natančen vpogled v sestavo morskih mikrobiomov (tj. združb morskih mikroorganizmov). Na ta način lahko poleg klasičnih zaznamo tudi alternativne bakterijske pokazatelje fekalnega onesnaženja in potencialne patogene v okolju.

Pred kratkim smo objavili pomembno raziskavo (https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.765091) , v kateri smo preučili dejavnike, ki strukturirajo mikrobiom slovenskega morja. Osredotočili smo se tako na klasične kot tudi alternativne bakterijske (https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02303.x) pokazatelje fekalnega onesnaženja (https://doi.org/10.1007/s00248-013-0200-9) , ki so potencialni patogeni za človeka in morske organizme, kot so npr. nekateri predstavniki rodu *Vibrio* in *Arcobacter*. S tem smo dopolnili naše dosedanje znanje o vrstni sestavi bakterijske združbe (https://doi.org/10.1111/1462-2920.12519) v našem morju. Z uporabo molekularnih metod (tj. analize amplikonov 16S rRNK (https://doi.org/10.1038/s41598-019-46015-z) gena) smo analizirali sestavo mikrobne združbe na petih lokacijah,

ki so različno oddaljene od podvodnega izpusta čistilne naprave Piran in od ustja reke Rižane, kamor se stekajo komunalne vode Kopra in Izole. Vzorčenje smo opravili v različnih sezonah in dveh globinah (pri dnu in na površini), da bi razumeli, kako različni okoljski dejavniki v različnih letnih časih vplivajo na pojavnost in širjenje bakterijskih pokazateljev fekalnega onesnaženja. Istočasno smo spremljali tudi koncentracije anorganskih in organskih hranil, skupno število bakterij in njihovo produkcijo ter število fekalnih pokazateljev kakovosti vode s klasično gojitveno metodo. S pomočjo računske biologije in bioinformatike smo določili vplive različnih dejavnikov okolja na prisotnost posameznih vrst bakterij, predvsem bakterijskih pokazateljev fekalnega onesnaženja in potencialnih patogenov.

Mikrobni patogeni kot pomemben del obalnega mikrobioma ne glede na letni čas in lokacijo

Izkazalo se je, da na vrstno sestavo morskega mikrobioma bolj vplivajo sezonske spremembe, predvsem nihanja temperature, koncentracije raztopljenega kisika in količine organskih hranil, kot pa razlike med okoljskimi dejavniki na različnih lokacijah. Kot del jedrnega mikrobioma slovenskega morja, ki je bil prisoten na celotnem proučevanem območju, smo zabeležili skupine bakterij (https://www.marinespecies.org/index.php) , ki so značilne za obalna morja, predvsem predstavnike alfaproteobakterij, bakteroidov, gamaproteobakterij in cianobakterij. Na celotnem raziskovalnem območju smo neodvisno od sezone na vseh lokacijah, ne glede na oddaljenost od vira onesnaženja, potrdili tudi prisotnost bakterijskih indikatorjev fekalnega onesnaženja. V določenem obdobju leta so le-ti predstavljali tudi do 34 % deleža sekvenc celotne mikrobne združbe v posameznih vzorcih. Med njimi so prevladovali predvsem predstavniki družin *Bacteroidaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Lachnospiraceae*, *Pseudomonadaceae*, *Vibrionaceae*, *Ruminococcaceae* in *Arcobacteraceae*. Analize sorodnosti so pokazale, da so sekvence *Arcobacteraceae* (https://doi.org/10.1080/01652176.2017.1323355) povezane z *Arcobacter cryaerophilus* (https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02077) , ki je znan patogen za ljudi in živali in se lahko prenaša preko hrane ali stika z vodo ter povzroča črevesne okužbe.

Reke predstavljajo vektor prenosa alohtonih mikrobov v morski ekosistem

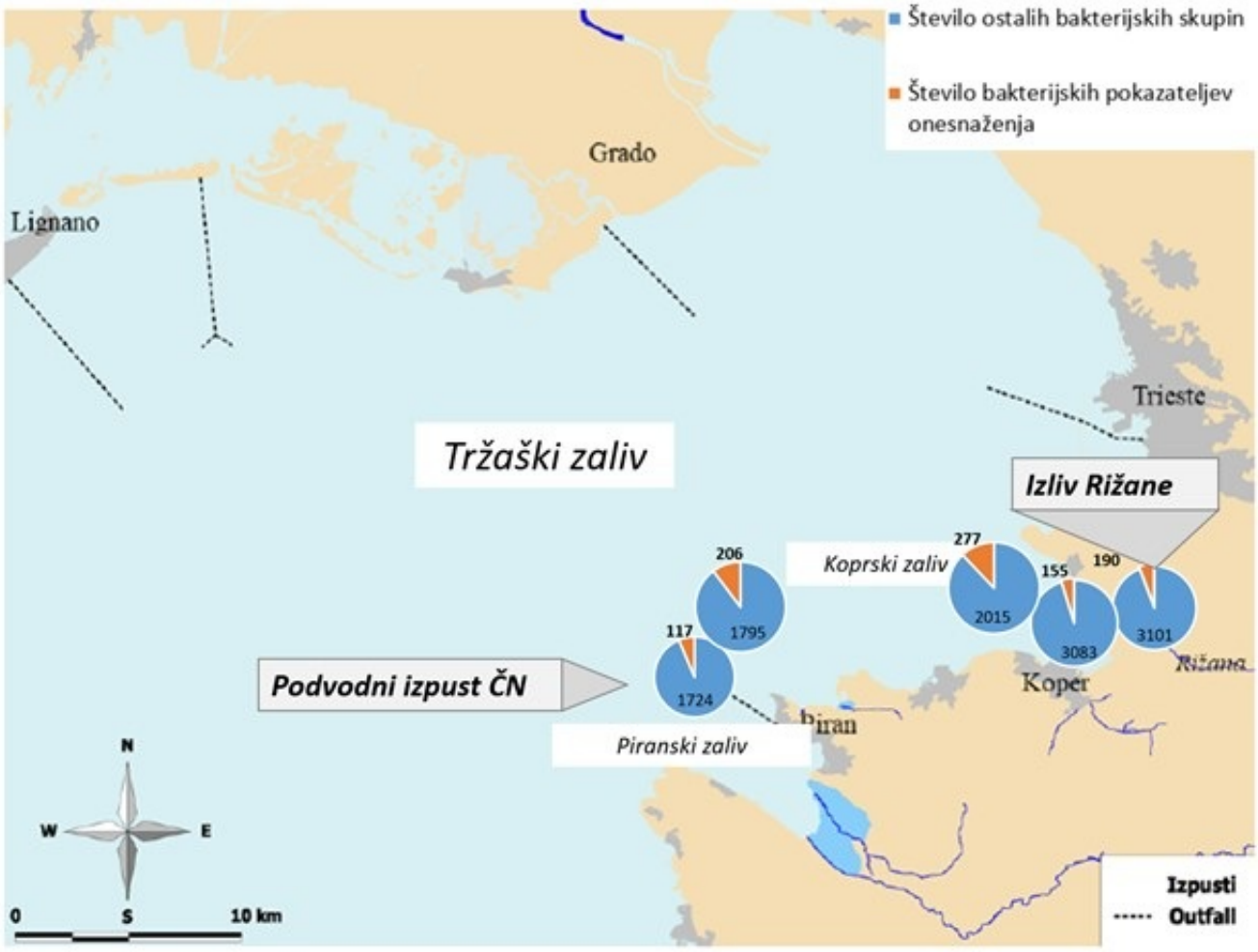
Identifikacijo virov odpadnih vod, ki v obalna morja vnašajo alohtone mikroorganizme, smo izboljšali z uporabo statističnih in oceanografskih modelov. S statističnimi orodji smo ocenili, da vnos mikrobne združbe estuarija reke Rižane močno vpliva na sestavo bakterijske združbe na vseh vzorčevalnih lokacijah v morju, še posebej na površinskem sloju, vendar pa se delež z razdaljo od vira onesnaženja hitro zmanjšuje. Fizikalne simulacije širjenja mikrobov v morskem okolju ob realnih oceanografskih razmerah kažejo, da lahko sladka voda iz reke Rižane v nekaj urah doseže najbolj oddaljeno vzorčevalno točko v sredini Piranskega zaliva in na ta način predstavlja pomemben vektor prenosa alohtonih mikrobov v obalno morje. Pri oceanografskih pogojih, ki so bili v naši študiji prisotni med poletnim vzorčenjem, bi vodna masa za to pot potrebovala 10 do 15 ur.

Nov uvid v dinamiko bakterijskih pokazateljev onesnaženja v mikrobiomu slovenskega morja

Prisotnost bakterijskih pokazateljev onesnaženja ni omejena le na lokacije ob neposrednih virih onesnaženja, temveč se ti lahko z vodnimi masami hitro prenašajo po celotnem Tržaškem zalivu. Poleg indikatorjev onesnaženja, ki jih določamo s tradicionalnimi gojitvenimi metodami, molekularne analize pomembno dopolnjujejo naše razumevanje stanja okolja in potencialnih nevarnosti, saj lahko zaznamo tudi patogene mikroorganizme, ki smo jih doslej spregledali (npr. prisotnost potencialnega patogena *Arcobacter cryaerophilus*). Sklopitev molekularnih analiz s statističnimi in numeričnimi metodami, ki smo jih uporabili v naši študiji, omogoča nov uvid v prostorsko-časovno dinamiko bakterijskih pokazateljev v obalnem morju. Takšni pristopi dajejo podlago za boljše razumevanje trenutnega stanja okolja, pa tudi podlago za napovedovanje širjenja onesnaženja in s tem povezanih potencialnih nevarnosti.



Slika prikazuje izpust odpadne vode iz podvodnega cevovoda čistilne naprave Piran. Centralna čistilna naprava Piran prečiščeno odpadno vodo odvaja preko dveh podvodnih izpustov dolžine 3600 m in 3450 m, ki imata na koncu difuzor. Foto: Tihomir Makovec



Slika prikazuje lokacije vzorčevalnih mest v Piranskem in Koprskem zalivu različno oddaljenih od ustja reke Rižane (*Izliv Rižane*) ter podvodnega izpusta čistilne naprave Piran (*Podvodni izpust ČN*). Številke na diagramih prikazujejo število bakterijskih pokazateljev onesnaženja (oranžno) in število ostalih bakterijskih skupin (modro), določenih na posamezni lokaciji.

https://www.alternator.science/sl/krajse/na-sledi-patogenim-mikroorganizmom-v-slovenskem-morju/