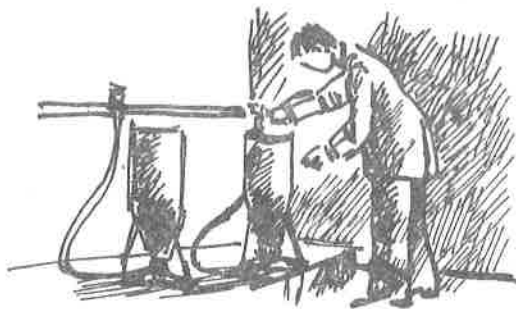


## Naučni i stručni radovi



Dr Antun Asaj, profesor  
Dr Nikola Fijan, ivan. profesor  
Dipl. vet. Nikola Kezić, asistent  
Mr. vet. Marija Vučemilo, asistent  
Veterinarski fakultet Zagreb

# Primjena klora u pokusnoj dezinfekciji šaranshog ribnjaka

## Uvod

Dezinfekcija šaranskih ribnjaka ima višestruko higijensko značenje u smislu sprečavanja pojave i iskorjenjivanja bolesti riba i sanitacije uopće. Zato je nužan pogodan dezinficijens za vodu, koji ima širok spektar djelovanja na mikroorganizme, tj. da je baktericid, virucid, fungicid, eventualno i parazitocid, da se brzo razgrađuje i da je uz to ekonomičan u upotrebi.

U literaturi za dezinfekciju ribnjaka preporučuju vapno (Scheperclaus, 1954.) i klorno vapno (Kanaev, 1973.). U našoj se praksi primjenjuje samo vapno. Budući da prekomjerno vapnjenje može uzrokovati smanjenje prirasta u ribnjaku (Stegman, 1973.), a djelatni klor ima kao dezinficijens neke općenite prednosti pred vapnom, odlučili smo se na primjenu klora. Zbog toga smo prišli eksperimentalnom određivanju potrebnih doza za dezinfekciju u laboratoriju i ribnjaku. Pri tome smo uzeli u obzir dosadašnja iskustva o primjeni kloramina T u vodi (Asaj, 1972.) kao i čitljivicu, da voda i mulj u ribnjaku sadrže mnogo organske tvari. Posebnu smo pozornost obratili i osjetljivosti uzročnika proljetne viremije šarana prema kloru.

## Materijali i metode

U laboratorijskom dijelu istraživanja analizirali smo učinak Halamida («Pliva», Zagreb), 99,5% kloramina T s 25% djelatnog klora u dezinfekciji vode i mulja iz ribnjaka u plastičnim spremnicima od kojih svaki zaprema 12 litara s visinom stupaca od 5 cm mulja i 25 cm vode.

Pri izravnoj dezinfekciji mulja primijenili smo raspršivanje 10% vodene otopine Halamida, u dozi od 0,5 lit/m<sup>2</sup>, s motornim raspršivačem, uz veličinu čestica oko 100 mikrona.

Učinak dezinfekcije određivali smo prema postotku redukcije ukupnog broja bakterija (Ubb) što se zapravo odnosi na mezofilne bakterije i broja bakterija iz koli skupine (Bbks) s obzirom na stanje te populacije prije dezinfekcije. Uzorke vode i mulja nasadivati smo na neutralni agar, odnosno u Mac Conkeyevu podlogu i inkubirali 24 sata pri 37°C. Nasadivanja po 1 ml, odnosno 1 g uzorka, vršili smo izravno bez dodavanja tiosulfata za neutralizaciju klora. Dobivene vrijednosti su relativne i prikazuju odnos prije i poslije dezinfekcije. Transporta uzoraka vode nije bilo. Ne radi se o vodi za piće niti o primjeni standardne metodike za vodu za piće. Kompleksnu higijensku analizu vode, uključivo i određivanje klora u višku, proveli smo na uobičajeni način u našoj praksi (Asaj, 1974.).

Osjetljivost virusa Rhabdovirus carpio, uzročnika proljetne viremije šarana (Fijan et al., 1971.) prema kloru, mjerena je titracijom rezidualnog virusa na kulturama FHM stanica. Za pokus je upotrijebljen soj virusa 56/1, u koncentraciji 4,8 dex/ml. FHM stanice uzgojene su u Eagle-ovoj minimalnoj esencijalnoj podlozi s 10% fetalnog telećeg seruma uz dodatak od 200 mcg/ml streptomocina i 200 ij/ml penicilina. Klor je upotrijebljen u obliku Halamida otopljenog u PBS-u. Neutralizacija klora vršena je natrijevim tiosulfatom otopljenim u PBS-u koncentraciji od 109,09 mg/l i 10,9 mg/l. Sve otopine filtrirane su prije upotrebe kroz Millipore filter, promjera pora 450 nm. Prethodnim pokusom utvrđeno je da primijenjene kon-

centracije tiosulfata i tiosulfatom neutraliziranog kloro ne oštećuju stanice i ne inaktiviraju virus. Pokus je proveden pri temperaturi od 15° C.

Dezinfekciju vode klorom kao plinom obavili smo u zimovnjaku površine oko 1500 m<sup>2</sup> i zapremine oko 2000 m<sup>3</sup>. Zimovnjak je bio prije dezinfekcije prazan. Dezinfekcija je provedena s pomoću plinskog kloratora za dezinfekciju vodovodne vode, s redukcijskim ventilom i mješalicom izravno na ulazu vode, kako se to radi pri dezinfekciji pitke vode i vode u basenima za kupanje. Primijenjena je izdašna doza oko 5 mg/l Cl<sub>2</sub>. Punjenje i dezinfekcija ribnjaka trajali su oko 11 sati.

Statističke podatke obradili smo prema **Barićevoj** (1965.) i **Reedu i Muenchu** (1938.).

## Rezultati

Rezultati su prikazani u tablicama 1 do 9.

Izravna dezinfekcija mulja postupkom raspršivanja 10%-tne vodene otopine Halamida, u dozi od 0,5 lit./m<sup>2</sup>, nije dala zadovoljavajući i siguran rezultat u smislu redukcije broja bakterija. Radilo se samo o kratkotrajnom površinskom djelovanju. Zbog toga je za praksu zanimljiva samo neizravna dezinfekcija mulja putem dezinfekcije vode, uz duži dodir i bolje prodiranje dezinfekcijsena.

Ihticidno djelovanje, tj. ubijanje ribe bjelice iz ulazne vode bilo je izrazito pri dezinfekciji ribnjaka klorom kao plinom, u dozi od 0,5 mg/l Cl<sub>2</sub>.

## Diskusija

Pri dezinfekciji ribnjaka u pravilu se rabe postupci vlažnog i suhog vapnjenja, a za dezinfekciju ribarskog pribora vodene otopine klornog vapna i natrijeve lužine. Ti postupci se navode u starijim pa i u najnovijim djelima, kao npr. **Ščerbine** (1973.). Higijenska analiza vode iz ribnjaka u pokusu bila je u okviru utvrđenih analiza za riječnu vodu (**Asaj i Ruža Šalić**, 1957.; **Asaj et al.**, 1962.; **Asaj i Fijan**, 1965.). To se posebno odnosi i na količinu organske tvari i urokroma u vodi (**Asaj**, 1965.).

Količina kloro u višku ovisi ponajprije o količini organske tvari, pa je utvrđeni nalaz, također, u skladu sa prijašnjim nalazima pri dezinfekciji vode (**Asaj**, 1972.). Međutim, pri dezinfekciji ribnjaka s klorom nije dovoljno uzeti u obzir samo temeljna iskustva (**Laubuscha**, 1958., 1959.), koja vrijeđe za kloniranje pitkih i otpadnih voda, već i akutnu toksičnost kloro u vodi za ribe. Podaci o tome su veoma različiti. **Czensny** (1961.) navodi da količina od 0,15 mg/l Cl<sub>2</sub> ubija ribu ako je temperatura vode od 4 do 5° C, dok ista koncentracija pri temperaturi vode od 10 do 15° C uopće ne djeluje na ribe. **Liebmann** (1960.) daje raspon toksičnih granica za ribe od 0,05 do 0,40 mg/l Cl<sub>2</sub>. Drugi autori navode veće koncentracije ili dužu ekspoziciju. **Rudenko i Volkov** (1974.) napominju da u prirodnim jezerima 5,6 mg/l djelatnog kloro u obli-

ku kalcijeva hipoklorita uništava svu ribu za nekoliko sati. **Anonimus** (1973.) ističe da količina od 1 do 2 mg/l djelatnog kloro ubija ribu za 8—30 sati.

Očito je da pri tome ima udjela koncentracija, temperatura, ekspozicija, količina kisika i uopće količina organske tvari u vodi. S obzirom na činjenice da uzročnici bolesti mogu u ribnjak ući i putem zooplanktona u ulaznoj vodi, značajan je podatak **Liebmann** (1960.) da količina kloro od 0,005 do 5,0 mg/l Cl<sub>2</sub> ubija i ostale životinjske organizme u vodi. Zato je nužno obaviti biološku analizu zooplanktona prije i poslije dezinfekcije uz bonifikaciju, kako je to opisao **Kapetanović** (1972.). U profilaktičke svrhe značajno je da se osjetljivost virusa proljetne viremije šarana izražava unutar primijenjenih doza. Točnije, 0,9 mg/l Cl<sub>2</sub> uništava virus u cijelosti za 20 minuta (tab. 6). S druge strane treba pripaziti na granicu topljivosti kloro u vodi u odnosu na temperaturu vode koja iznosi pri 10°C 9,5 g/lit. Cl<sub>2</sub>, a pri 40° C samo 4,5 g/lit Cl<sub>2</sub> (**Horn et al.**, 1972.).

Ako usporedimo nalaze kloro u višku pri dezinfekciji vode iz ribnjaka s Halamidom u laboratoriju (tab. 3) s nalazima pri dezinfekciji vode u ribnjaku s klorom kao plinom (tab. 9) vidimo bitnu razliku iako se u oba primjera radi o vodi s relativno mnogo organske tvari. Pri dezinfekciji s klorom kao plinom imamo izraženije sniženje kloro u višku uz nestanak kloro nakon 48 sati. Pri dezinfekciji s Halamidom imamo još i nakon 48 sati klor u višku u iznosu od 0,3 mg/l Cl<sub>2</sub>. Razlog je u većoj stabilnosti kloramina. Ta koncentracija od 0,3 mg/l Cl<sub>2</sub> je inače dovoljna za dezinfekciju pitke vode (**Vodopija et al.**, 1971.).

Primijenjena dezinfekcija u ribnjaku s klorom kao plinom u ulaznoj vodi u dozi od oko 5 mg/l Cl<sub>2</sub> bila je izdašna pa je zato i utvrđen klor u višku nakon 24 sata u prosjeku oko 0,65 mg/l Cl<sub>2</sub>.

Prema rezultatima pokusa u laboratoriju doza od 2,5 mg/l Cl<sub>2</sub> osigurala bi 30 minuta nakon dezinfekcije prosječnu količinu od oko 1,0 mg/l Cl<sub>2</sub>. To bi bilo dovoljno za dezinfekciju vode i mulja i za ubijanje divlje ribe. Zbog toga treba u praksi na svakom lokalitetu odrediti u prosječnom uzorku vode i mulja jednog ribnjaka klor u višku nakon 6 i 24 sata, da bi znali potrebnu dozu za ostale ribnjake.

## Zaključci

Na osnovi rezultata dezinfekcije vode i mulja i osjetljivosti virusa proljetne viremije šarana u laboratoriju s Halamidom, 99,5% kloraminom T s 25 g % djelatnog kloro provedena je pokusna dezinfekcija ulazne vode u ribnjak s klorom kao plinom uz pomoć uređaja za dezinfekciju vodovodne vode.

Primijenjena izdašna doza kloro kao plina od oko 5,0 mg/l Cl<sub>2</sub> u ulaznoj vodi osigurala je uz određene uvjete (temperaturu oko 20° C i potrošak kalijeva permanganata oko 2 mg/l nakon 24 sata količinu od 0,65 mg/l Cl<sub>2</sub>.

Prema rezultatima redukcije ukupnog broja bakterija u pokusima u laboratoriju i na ribnjaku i poku-

sima na virucidnost u laboratoriju uz navedenu prosječnu količinu organske tvari i temperaturu, možemo zaključiti da bi u praktičnim uvjetima za dezinfekciju ribnjaka s klorom kao plinom zadovoljavala doza u ulaznoj vodi koja bi osigurala količinu klora u višku nakon 6 sati oko 1,0 i nakon 24 sata od 0,3 do 0,4 mg/l Cl<sub>2</sub>. To bi bilo dovoljno za profilaktičku dezinfekciju vode i mulja, kao i za ubijanje divlje ribe.

Tabela 1

Higijenska analiza ribnjačke vode u laboratoriju

Pojam	Voda iz ribnjaka	Voda u pokusu
Temperatura °C	10,0	18,0
Reakcija pH	7,0	7,0
Slobodni amonijak NH <sub>4</sub> mg/l	0,20	0,50
Nitriti NO <sub>2</sub> mg/l	0,007	0,020
Kloridi Cl mg/l	8,0	8,0
Ukupna tvrdoća °dH	10,98	10,64
Potrošak kalijeva permanganata KMnO <sub>4</sub> mg/l	20,22	45,31
Urokromi mg/l	1,0	11,0
Slobodni kisik O <sub>2</sub> mg/l	7,0	5,0

Tabela 3

Količina klora u višku u ribnjačkoj vodi nad muljem u laboratoriju nakon dezinfekcije s Halamidom

Doza mg/l	10	20	30	50	100	200	
dk. Cl <sub>2</sub> mg/l	2,5	5,0	7,5	12,5	25,0	50,0	
djelovanje: nakon sati:	30' 24 48 72 96 120 144 168 192 210	1,0 0,4 0,3 0,2 0,1 0,1 0 0 0 0	4,0 3,0 2,0 1,5 0,8 0,6 0,3 0,1 0,1 0	×5,0 5,0 4,0 3,0 2,0 1,5 0,7 0,5 0,3 0,1	×5,0 ×5,0 5,0 5,0 4,0 4,0 5,0 5,0 3,0 3,0	×5,0 ×5,0 ×5,0 ×5,0 ×5,0 ×5,0 5,0 5,0 5,0 4,0	×5,0 ×5,0 ×5,0 ×5,0 ×5,0 ×5,0 ×5,0 ×5,0 5,0 5,0

Znak × znači »više od«.

Tablica 4. Učinak Halamida pri dezinfekciji vode nad muljem u laboratoriju

Doza mg/l	dk. Cl <sub>2</sub> mg/l	Nakon h	n	Ubb x	n/ml s	S <sub>x</sub>	V	t	Redukcija %
0	0	0	10	80,6	21,13	6,6	26	—	—
30	7,5	72	10	27,6	19,62	6,6	7,2	53,0	66
200	50,0	168	10	10,1	16,23	5,2	167	70,5	77

n — broj uzoraka

x — aritmetička sredina uzoraka

s — standardna devijacija uzoraka

S<sub>x</sub> — standardna pogreška aritmetičke sredine

V — koeficijent varijacije

t — razlika aritmetičkih sredina

Pri dezinfekciji ribnjaka nužno je na svakom lokalitetu odrediti u prosječnom uzorku količinu klora u višku, da bi se došlo do potrebne doze.

Pri radu s plinskim kloratorom obvezatno je poštovati sanitarno tehničke propise uz primjenu plinske maske i druge zaštitne mjere.

Tabela 2

Orijentacijska dezinfekcija ribnjačke vode iznad mulja s Halamidom (n = 2)

Doza mg/l	dk. Cl <sub>2</sub> mg/l	Ubb n/ml	Redukcija nakon 30 min. %	Bbks n/ml	Redukcija nakon 30 min. %
0	0	179	—	37	—
10	2,5	144	19	32	13
20	5,0	660	74	28	24
30	7,5	49	72	0	100
50	12,5	92	48	15	59
100	25,0	53	70	0	100
200	50,0	64	64	0	100

dk. — djelatni klor

Tablica 5. Učinak Halamida pri dezinfekciji mulja s pomoću dezinfekcije vode u laboratoriju

Doza mg/l	dk. Cl <sub>2</sub> mg/l	Nakon h	n	Ubm n/g x	s	S-x	V	t	Redukcija %
0	0	0	10	561	168	562	300	—	—
200	50	168	10	61	184	61	301	500	82

Tablica 6. Djelovanje klora na viru s Rhabdovirus carpio u laboratoriju

Koncentracija klora mg/l	Vrijeme djelovanja u minutama	Koncentracija virusa u Dexama
0	320	4,8
0,9	5	2,8
	20	2,1
	80	0
	320	0
9,0	1	1
	2,5	0
	5	0
	10	0

Tablica 7. Higijenska analiza vode u ribnjaku pri dezinfekciji s klorom kao plinom

Pojam	Ulazna voda prije dezinfekcije	Voda 24 sata dezinfekcije nakon
Temperatura °C	16,0	20,5
Reakcija pH	7,0	6,0—7,0
Slobodni amonijak NH <sub>4</sub> mg/l	1,25	1,25
Nitriti NO <sub>2</sub> mg/l	0,005	0,005
Kloridi Cl <sup>-</sup> mg/l	10,0	17,0
Ukupna tvrdoća °dH	16,5	14,58
Potrošak kalijeva permanganata KMnO <sub>4</sub> mg/l	3,52	1,87
Urokromi mg/l	1,0	1,0
Slobodni kisik O <sub>2</sub> mg/l	3,0	4,0
Ubm n/ml	44	0

Tablica 9. Količina klora u višku u vodi ribnjaka nakon dezinfekcije ulazne vode s klorom

Uzorak broj	Klor u višku Cl <sub>2</sub> mg/l nakon:							
	1 h	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	24 h	48 h
1*	4,00	0,15	0,80	2,00	4,00	4,00	0,80	0
2	0,50	0,10	0,10	0,50	3,00	3,00	0,45	0
3	0	0,	0,10	0,10	0,20	3,00	0,45	0
4	0,10	0,10	0,10	0,10	0,20	4,00	0,80	0
5	0,15	2,00	0,10	×5,00	0,25	3,00	0,90	0
6	4,00	2,00	4,00	×5,00	×5,00	×5,00	5,00	0
x	1,45	0,72	0,86	×2,12	×2,11	×3,67	0,67	0

\* Udaljenost mjesta uzimanja vode bila je 10 m za uzorak br. 1, 26 m (br. 2), 56 m (br. 3), 60 m (br. 4), 34 m (br. 5), 15 m za uzorak br. 6.

Znak × znači »više od«.

Tablica 8. Prikaz ukupnog broja bakterija, temperature i koncentracije vodikovih iona u vodi pri dezinfekciji ribnjaka s klorom

Mjesto uzimanja	Sati	Ubb n/ml	Temperatura °C	pH
Ulaz	0	17	16,4	6,0
Ribnjak srednje pun	6	0	21,0	6,0
Puni ribnjak	12	0	21,0	6,0
Puni ribnjak	24	0	20,2	6,0—7,0

### Klor u dezinfekciji šaranskog ribnjaka

## SUMMARY

### THE USE OF CHLORINE IN EXPERIMENTAL POND DISINFECTION

After the analysis of data concerning the water disinfection with chlorine in general and the chlorine toxicity to fish, the authors carried out the experimental water and pond mud disinfection with Halamid (Chloramin T) in the laboratory and the disinfection of water entering the fish pond in practical conditions by chlorine gas by means of the equipment for tap water disinfection.

In the experimental water disinfection with Halamid with the dose of 2,5 mg/l  $Cl_2$  the free chlorine contents were 1,0 mg/l  $Cl_2$  the free chlorine contents were 1,0 mg/l after 30 minutes and 0,4 mg/l after 24 hours.

Rhabdovirus carpio, the causal agent of spring viremia of carp was found to be moderately sensitive to chlorine. The concentration of 0,9 mg/l  $Cl_2$  inactivated 99 per cent of virus particles in 5 minutes and more than 99,99 per cent in 80 minutes.

The findings on the reduction of the total number of bacteria and bacteria of coli group in water and mud in laboratory as well as in water entering the pond, and on the laboratory virucidal activity of chlorine upon the virus of spring viremia of carp, suggest that the disinfection of water entering the pond with chlorine gas should be tried in practice in the dose which secures besides the usual organic matter contents and temperature of about 20° C a free chlorine concentration of 1,0 after six hours and of 0,3—0,4 mg/l  $Cl_2$  after 24 hours.

Herfort-Michieli Tilda  
Zavod za ribištvo, Ljubljana

## Plemeniti rak (*Astacus astacus* L.) u reci Krki i pritocima i pokušaj njegovog uzgoja

### Uvod

Što se više vodnim organizmima smanjuje životni prostor, toliko više tražimo zdrave biotope naših voda.

Do god. 1974. ispitali smo više puta našu najljepšu krašku reku Krku, i to na više sektora; isto tako 11 njezinih pritoka, s namerom, da bi pronašli odgovarajuće biotope za repopulaciju plemenitog raka.

Pretražili smo 4 regije iz kojih oni potiču, i to: dve notranjske i jednu primorsku. Pored toga, još jedan potok Dolenjske.

## LITERATURA:

- ANON.: Report of chlorine and freshwater fish. Rome, 1973.  
ASAJ, A.: Urokromi u vodi ribnjaka. Vet. arhiv 36, 1/2, 31—34, 1966.  
ASAJ, A.: Upotreba Halamida u dezinfekciji pitke vode. Zbornik 2. Kongr mikrobiologa Jug. 165, 165. Opatija, 1972. (Sažeci).  
ASAJ, A.: Zoohigijena u praksi. Zagreb, 1974.  
ASAJ, A., N. FIJAN: Zapažanja pri umjetnom gnojenju ribnjaka. Vet. arhiv 36, 1/2, 41—48, 1966.  
ASAJ, A., N. FIJAN, J. MALNAR: Neki podaci o količini dušika, fosfora i kalcija u vodi različito gnojenih ribnjaka. Vet. arhiv 32, 3/4, 83-91, 1962.  
ASAJ, A., RUŽA ŠALIĆ: Prilog etiologiji »zijeve« riba u rijeci Bosutu. Vet. arhiv 27, 3/4, 95—105, 1975.  
BARIĆ, STANA: Statističke metode primjenjene u stočarstvu. Zagreb, 1965.  
CZENSNY, R.: Wasser, Untersuchung, Beurteilung, Aufbereitung. Berlin, 1968.  
FIJAN, N., Z. PETRINEC, Đ. SUSIMANOVIĆ, L. O. ZWILLENBERG: Isolation of the viral causative agent from the acute form of infectious dropsy of carp. Vet. arhiv 41, 5/6, 125—138, 1971.  
HORN, H., M. PRIVORA, W. WEUFFEN: Handbuch der Desinfektion und Sterilisation. Berlin, 1972.  
KANAIEV, A. J.: Veterinarija i sanitarija v ribovodstvu. Moskva, 1973.  
KAPETANOVIĆ, M.: Produkcija zooplanktona ribnjaka Seničani. Priroda 61, 6, 172—174, 1972.  
LAUBUSCH, E. J.: Chlorination of Water. Water and Sewage 105 (10), 411—417, 1958.  
LAUBUSCH, E. J.: How safe is your chlorine residual. Public Works 90 (3), 102—107, 1959.  
LIEBMANN, H.: Handbuch der Frischwasser und Abwasser-Biologie. 2, 975, 1960.  
REED, L. J., H. MUENCH: A simple method of estimating fifty per cent end points. Am. J. Hyg. 27, 493—497, 1938.  
SCHEPERCLAUS, W.: Fischkrankheiten. Berlin, 1954.  
STEGMAN, K.: Wapnowanie stawok karpowych. Gospodarka rybn. 10, 3, 1973.  
ŠČERBINA, A. K.: Bolezni rib. Kiev, 1973.

Do god. 1974. naselili smo ukupno 47.697 komada rakova, odnosno 2050 kg.

U svim godinama naših pretraga od god. 1960. dalje, nikad nismo naišli na *Aphanomyces astacei*, koja prouzrokuje kugu rakova. U nekim od pomenutih voda, gde smo rakove naseljavali, pronašli smo mlade račiće i zbog toga smo nastavili s našim radom i u godini 1974.

S obzirom na dobijene rezultate na repopulaciji dolenjskih voda tj. Krke i njezinih pritoka planirali smo za god. 1974: