

Olivera Ristić

## Paralelna kvantitativna ispitivanja mikroflora naših voda na podlogama agara iz mesa i peptona i agarizovanog ekstrakta mulja

### U V O D

Poznato je da bakterije i njima slični mikroorganizmi igraju značajnu ulogu u transformaciji materije u vodenim sredinama, kao i u talozima mulja, koji su svoje vrste hemiski kombinat i u kojima 7—8% organske materije čine organske materije bakterijskih tela.

Utvrđeno je da se bakterijama hrani većina jednobćeličnih organizama (Luck) i izvestan broj viših organizama (Rodina, Baier, Zo-Bell, Feltham, Mare i t. d.). Verovatno da ove mikrograbljivice smanjuju gustinu bakterijske populacije i obrnuto, bakterije su sposobne da utiču na razviće drugih organizama, menjajući hemiske i fizičko-hemiske uslove sredine.

Za povećanje prirodne produktivnosti ribnjaka ogroman značaj ima unošenje đubriva. Sve je šira primena đubrenja ribnjaka različitim vrstama zelenišskog đubriva. Objašnjenje brzine procesa porasta i pada bakterijske biomase ima praktičan značaj u ovom slučaju. Rodina (1954) kaže: »Sa smanjenjem bakterijske biomase, posle đubrenja, do početnog nivoa, korisno delovanje đubrenja se završava i treba da bude zamenjeno svežim đubrivom«.

Gustina bakterijske populacije treba da bude smatrana kao vrlo osetljivi indeks biološke aktivnosti, jer, prema istraživanjima nekih autora koji su obrađivali različite vodene sredine, pokazalo se da su bakterijske populacije maksimalno zastupljene u zonama u kojima je biološka aktivnost bila najintenzivnija. Tako L. A. Rozenberg i N. A. Mefedova (1956) uočavaju korelacioni odnos između broja bakterije, biomase mikrobentosa i biogenih elemenata i kažu: »Zemljišta bogata zoorganizmima sadrže dva puta više bakterija, nego zemljišta siromašna benigenim organizmima«. I dalje: »U zemljištima bogatim bakterijama i mikrobentosom primećuje se srazmerno visoka koncentracija azota i fosfora, što ilustruje uzajamnu vezu hemijskih procesa sa biološkom produktivnošću«.

Bakterije u jednoj vodenoj sredini, među stanovnicima mora ili slatkih voda i njihovih taloga, igraju nepobitno važnu ulogu svojom masom, a naročito svojom biohemiskom aktivnošću. Ali mikrobiologija nije samo bakteriološka fiziologija, njen bitni problem je analogija u prirodi. Bakterije u svetlosti njihove uloge kao ekološkog faktora u vodenim sredinama malo su studirane. Ako hoćemo tako da ih posmatramo, onda populacije treba posmatrati u uslovima koliko je moguće bližim onima koji karakterišu njihovo stanište. Zato Vinogradski i Pochon (1954) za mikrobiološko ispitivanje zemljišta predlažu zemljišni ekstrakt kao podlogu. U pogledu podloge Pochon (1954) kaže: »Izbor podloge je važan; ona treba da dopusti u principu rastenje ćelija svih klica, dakle, da bude malo selektiv-

na«. Zo-Bell (1949) isto tako naglašava da metode za analizu bakterijske populacije, u novoj etapi razvoja metode za ekološke svrhe, moraju voditi računa o izboru podloge i približavati je što više prirodnim uslovima.

U zemljišnoj mikrobiologiji, kako smo već napomenuli, upotrebljava se kao podesna podloga za rad zemljišni ekstrakt. U marinskoj bakteriologiji koristi se morska voda ako sastavni deo podloge (Zo-Bell, Cvijić) ili agar iz mesa i peptona uz dodatak 3% morske soli (Kriss). Takođe su poznati pokušaji i upotrebe podloga iz ekstrakta mulja i u slatkovodnoj bakteriologiji.

Taylor (1940) radeći na engleskim jezerima uporedio je sedam različitih podloga, među kojima su bile zastupljene: agarizovani ekstrakt mulja i agar sa natrium-kazeinatom. Autor navodi da je agar sa natrium-kazeinatom u svim slučajevima davao dalekko veći broj bakterija nego bilo koja od ostalih šest podloga.

Kasnija istraživanja Foot — Taylor-a (1949) za sistematsko menjanje sastava agara s natrium-kazeinatom, u nameri da poboljšaju podlogu za vodenu determinaciju, pokazala su da natrium-kazeinat nije bitan i da pepton iznad 0.05% i jon  $\text{NO}_3$  iznad granice tragovala, predstavljaju sprečavajući faktor.

Cooper i Murray (1953) našli su da Foot-Taylor-ova podloga (peptona 0.05%,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.02%,  $\text{MgSO}_4$  0.005%,  $\text{FeCl}$  u tragovima i 1% agara) koja je bila jedna od standardnih podloga za vreme njihovih ispitivanja 1950. godine daje mnogo veće brojeve nego i jedna druga isprobana podloga. Oni su radili i sa modificiranom Čapekovom podlogom i sa M. P. A. od ekstrakta iz goveđeg srca.

Isti autori kasnije (1953), ispitujući jezerske sedimente (Lauzons Lakes), opet su se našli pred problemom izbora podloge. Ovoga puta su vršili paralelna ispitivanja na veštačkim podlogama i ekstraktu mulja. Pokazalo se da su dobiveni brojevi manji na ekstraktu mulja, nego na veštačkim podlogama, ali su s druge strane našli da veštačke podloge nisu toliko podesne za rastenje organizama u odnosu na ekstrakt mulja.

Kriss (1945), ispitujući mikrofloru istočnih delova Severnog ledenog mora, radio je na podlogama: M. P. A., M. P. A. sa dodatkom 3% morske soli za vodenu sredinu, a za mulj na M. P. A. i agarizovanom ekstraktu mulja sa dodatkom  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (0.05 gr.),  $\text{NO}_3$  (0.01 gr.) i manita (1 gr.). Dodavanje morske soli, u nizu slučajeva, uticalo je na pojavljivanje nekoliko puta većeg broja jedinki. Agar mulja, navodi Kriss, kao manje podesan supstrat od mesopeptonskog agara za kvantitativna određivanja mikroorganizama.

Broj mikroorganizama dobiven metodom ploča na jednoj podlozi, daje samo približnu predstavu o količini i sastavu mikroflora ispitivanih područja. Greške

indirektne metode javljaju se od obračunavanja svake izrasle kolonije kao jedne ćelije u prirodnim uslovima, a znamo da se u prirodi bakterije često sreću ne kao pojedinačne ćelije, već u lancima ili u skupinama koje su obavijene sluzastim omotačem ili opet u grupicama, koje su pričvršćene za hranjive čestice. Da bi se delimično otklonili nedostaci, preporučuje se zasejavanje iz razređenja, uz njihovo što duže mućkanje. Ali treba napomenuti da su dobivene vrednosti u pogledu broja mikroorganizama relativne u svakom slučaju zbog upotrebljenog razređenja. Ukoliko je primenjena podloga u ovoj metodi nepodesna, jasno je da dobivene vrednosti ne daju mogućnost ni za najgrubiju orijentaciju, a pogotovo ne predstavljaju približnu sliku mikroflore ispitivane vode.

Polazeći od pretpostavke da će podloga pripremljena od materijala iz samog staništa pokazati potpunije bogatstvo mikroflore naših voda, t. j. biti podesnija za razvoj većeg broja mikroorganizama, vršili smo paralelna kvantitativna ispitivanja mikroflore nekih naših voda na M. P. A. i agarizovanom ekstraktu mulja, koristeći se muljevima iz nekoliko različitih mesta.

#### Materijal i metodika ispitivanja

Kao materijal za ova ispitivanja poslužili su nam uzorci iz vode i mulja nekih ribnjaka u NR Srbiji: (Živača, Ečka, Susek i Kolut), iz akumulacionih jezera (Međuvršje i Ovčar Banja), iz Skadarskog jezera i vode iz sledećih reka: Dunava, Jegličke, Tise, Zlatice, Save, Kolubare, Tamnave, Uba, Skrapeža, Djetinje, Zlošnice, Uvca, Konjske Reke, Ibra, Zapadne Morave, Velike Morave, Rače, Jezave, Jesenice, Bolečke Reke, Bistrice, Lima, Kubršnice, Lepenice, Gruže, Bjelice i Čemernice.

Uzorci vode iz ovih reka sa površine uzimani su sterilnom bočicom, a dubinske probe vađene su crpcem tipa Zobel — Džonson. Probe mulja uzimane su Ekmanovim grabilom, odakle je iz sredine probe, t. j. iz dela koji nije u dodiru sa zidovima grabila, neposredno ispod površine, uzimana neznatna količina sterilnom špatulom i prenošena u sterilnu Petrijevu kutiju.

Zasejanje uzoraka vršeno je iz razređenja. Razređenja su pravljena iz jednog ml. vode i jednog gr. vlažnog mulja koji je odmeravan pod sterilnim uslovima. Za vodu su pravljena razređenja, izuzev ribnjaka, 1:100, a za ribnjake 1:1000, dok su razređenja za mulj bila 1:10.000. Sva razređenja su ujednačenim i ravnomernim pokretima mućkana, da bi smo smanjili absorbciju bakterija na hranljivim ili zemljišnim česticama. Trajanje ovih mućkanja je bilo različito: za vodu po pet minuta, a za mulj po deset minuta, kako za početno, tako isto i za krajnje razređenje, iz kojih je vršeno zasejavanje po jedan ml. u praznu Petrijevu kutiju. Posle ovoga su uzorci prelivani utopljenim i prohladenim odgovarajućim podlogama. Svaki uzorak je rađen u tri ponavljanja na svakoj podlozi. Posle izlivanja podloge, svaka kutija je bila kružno okretana nekoliko puta da bi se otopljen podloga ravnomerno rasporedila sa zasejanom uzorkom po celoj masi. Po stezanju podloge, ploče su postavljene u specijalne sanduke i transportovane do laboratorije, jer se zasejavanje vršilo na samom terenu i to neposredno, odmah posle uzimanja probe, izuzev proba iz Skadarskog jezera, koje su odmah prenošene u laboratoriju gde su zasejavane i inkubirane u termostatu. U svim slučajevima inkubacija je vršena na temperaturi koja je bila približna temperaturi ispitivanja vode, bez obzira dali se radilo o uzorcima mulja ili vode, pošto u uslovima našeg rada nismo imali mogućnosti za merenje temperature mulja. Trajanje perioda inkubacije bilo je 10—15 dana.

Agarizovan ekstrakt mulja spravljen je na sledeći način: na jedan kg. mulja dodavan je jedan litar destilovane vode i ostavljen je da odstoji na sobnoj temperaturi 24 časa, posle čega je tečnost dekantirana, zatim filtrirana, macerirana 30 minuta na 120°C, a posle dodavanja 1.5% agara razlivena i sterilisana. pH se kretao između 7.5—7.8.

Uzorci vode i mulja iz ribnjaka i akumulacionih jezera zasejavani su uporedo na M. P. A. i ekstraktu mulja »Živače«, uzorci iz Skadarskog jezera zasejavani su, pored mesopeptonskog agara, na ekstraktima mulja sa različitim mesta iz ovog jezera, a uzorci iz rečnih voda zasejavani su, pored mesopeptonskog agara i ekstrakta mulja iz »Živače«, i na agarizovan ekstrakt mulja iz akumulacionih jezera Međuvršja i Ovčar Banje.

Radi lakše orijentacije i kratkoće u toku daljeg izlaganja, daćemo skraćenice za podloge ekstrakta mulja iz različitih izvora. Agarizovani ekstrakt mulja iz ribnjaka »Živača« označen je sa: E. M. Ž., iz Međuvršja: E. M. M., iz akumulacije Ovčar Banje: E. M. O. B., a iz Skadarskog jezera iz Vučkog Blata: E. M. V. B., a za mulj iz jezerske pučine: E. M. P.

Posle određivanja broja kolonija izraslih na pločama, vršeno je morfološko posmatranje kolonija. Kolonije različite po svom obliku, boji, ivici, konzistenciji i izgledu površine smatrane su da pripadaju različitim vrstama bakterija. Prikazivanje različitih vrsta bakterija na ovaj način imalo je za cilj da pokaže makar orijentacione razlike u poređenju broja vrsta na M. P. A. s jedne strane, i na agarizovanom ekstraktu mulja s druge strane. Treba napomenuti da su iz uzoraka mulja gajeni mikroorganizmi samo pod aerobnim uslovima, tako da broj anaerobnih nije obuhvaćen i da naši rezultati ne predstavljaju broj ukupne mikroflore mulja.

#### DOBIVENI REZULTATI I DISKUSIJA

Na ribnjaku »Živača« uzimane su probe počev od kraja 1954. god., sa prekidom u oktobru i novembru; a u 1955. god. počev od januara do oktobra, i paralelno su zasejavane na podlogama M. P. A. i E. M. Ž. Rađeno je sa uzorcima vode i mulja uvek iz istog mesta i zasejavanje je vršeno odmah po uzimanju proba.

U toku oktobra i novembra obe godine probe nisu uzimane zbog pražnjenja ribnjaka.

Dobiveni rezultati na ovom ribnjaku prikazani su na tabeli I, iz koje se može videti da je (sa jednim izuzetkom) u svim slučajevima broj kolonija bio veći na podlozi E. M. Ž. nego na M. P. A. Razlike su izrazite i za vodu i za mulj, samo su daleko veće na uzorcima mulja. U proseku uzorci vode zasejavani 1954. g. dali su na podlozi M. P. A. 0,66% od dobivenog broja mikroorganizama na podlozi E. M. Ž., tj. na ovoj drugoj javlja se 2,18 puta veći broj bakterija. Za mulj je na podlozi M. P. A. 0,06% izraslo od broja dobivenog na E. M. Ž., tj. podloga sa ekstraktom mulja davala je 10,17 puta veći broj bakterija.

U 1955. god. podloga M. P. A. davala je u proseku, za uzorke iz vode 0,29%, zapravo E. M. Ž. pokazivao je 4,49 puta veći broj bakterija. Iz uzoraka mulja raslo je 0,02% na podlozi M. P. A. ili drugim rečima podloga ekstrakta mulja davala je 34 puta veći broj.

Upadljive razlike između brojeva bakterija na ovim podlogama u probama mulja sasvim su opravdane, jer je podloga pripremana iz njihovog staništa i daleko je bliža prirodnim uslovima od bilo koje veštačke podloge.

## RIBNJAK »ŽIVAČA« U 1954. i 1955. GODINI

Mesec	Podloga	Broj bakterija na 1 ml. H <sub>2</sub> O odnosno na 1 gr. mulja				Koliko puta je veći broj na E. M. Ž.				%			
		H <sub>2</sub> O		mulj		1954. g.		1955. g.		1954. g.		1955. g.	
		1954. g.	1955. g.	1954. g.	1955. g.	H <sub>2</sub> O	mulj	H <sub>2</sub> O	mulj	H <sub>2</sub> O	mulj	H <sub>2</sub> O	mulj
I	M. P. A.	—	900	—	35.000	—	—	13,6	35	—	—	0,07%	0,02%
	E. M. Ž.	—	12.300	—	1.248.000	—	—	—	—	—	—	—	—
II	M. P. A.	—	6.000	—	163.000	—	—	2,6	18,5	—	—	0,38%	0,05%
	E. M. Ž.	—	15.600	—	3.020.000	—	—	—	—	—	—	—	—
III	M. P. A.	—	6.000	—	240.000	—	—	4,5	57,5	—	—	0,22%	0,01%
	E. M. Ž.	—	27.000	—	13.800.000	—	—	—	—	—	—	—	—
IV	M. P. A.	—	10.300	—	290.000	—	—	2,79	51,24	—	—	0,27%	0,01%
	E. M. Ž.	—	37.000	—	14.860.000	—	—	—	—	—	—	—	—
V	M. P. A.	—	15.000	—	386.000	—	—	4,02	31,44	—	—	0,24%	0,03%
	E. M. Ž.	—	60.300	—	12.138.000	—	—	—	—	—	—	—	—
VI	M. P. A.	—	22.000	—	420.000	—	—	3,09	32,7	—	—	0,32%	0,03%
	E. M. Ž.	—	68.000	—	13.734.000	—	—	—	—	—	—	—	—
VII	M. P. A.	5.400	39.000	100.000	590.000	1,97	13,3	1,94	29,5	0,50%	0,07%	0,51%	0,03%
	E. M. Ž.	10.670	76.000	1.330.000	15.232.000	—	—	—	—	—	—	—	—
VIII	M. P. A.	9.300	31.000	760.000	500.000	1,48	18,41	2,41	31	0,67%	0,05%	0,41%	0,03%
	E. M. Ž.	13.800	75.000	13.996.000	16.500.000	—	—	—	—	—	—	—	—
IX	M. P. A.	7.000	9.500	2.256.000	16.500.000	—	8,78	5,47	18,75	1,94%	0,11%	0,18%	0,05%
	E. M. Ž.	3.600	52.000	19.813.000	18.386.000	—	—	—	—	—	—	—	—
X	M. P. A.	3.200	—	90.000	—	3,43	24,2	—	—	0,29%	0,04%	—	—
	E. M. Ž.	11.000	—	2.180.000	—	—	—	—	—	—	—	—	—

U daljim izlaganjima (tabela 2) iznešeni su rezultati iz ostalih ribnjaka. Iz ovih ribnjaka probe su uzimane samo jedanput. Iz ribnjaka »Ečka« uzorci su uzimani iz vode i mulja, dok iz »Suseka« i »Koluta« probe su uzimane samo iz vode.

Tabela 2

## PODACI IZ OSTALIH RIBNJAKA U NR SRBIJI

Naziv ribnjaka	Iz čega je uzeta proba	Podloga	Broj bakt. na 1 ml. H <sub>2</sub> O ili na 1 gr. mulja	Koliko puta je veći broj na E. M. Ž.	% na M. P. A.
»Ečka« (Belo jezero)	H <sub>2</sub> O	M. P. A.	1.800	3,6	0,27%
		E. M. Ž.	6.500		
»Ečka« (Belo jezero)	mulj	M. P. A.	112.000	3,5	0,28%
		E. M. Ž.	400.000		
»Ečka« (Joca)	H <sub>2</sub> O	M. P. A.	22.000	1,1	0,85%
		E. M. Ž.	25.000		
»Ečka« (Joca)	mulj	M. P. A.	352.000	1,7	0,56%
		E. M. Ž.	627.000		
»Kolut«	H <sub>2</sub> O	M. P. A.	1.800	5,9	0,16%
		E. M. Ž.	10.700		
»Susek«	H <sub>2</sub> O	M. P. A.	83.000	1,8	0,55%
		E. M. Ž.	149.000		

I ovde dobiveni rezultati pokazuju razlike između ove dve podloge; u svim slučajevima se pokazuje veći broj mikroorganizama na podlogama E. M. Ž. Uzorci vode iz »Belog jezera« daju 0,27% na mesopeptonskom agaru od dobivenog broja na podlozi ekstrakta mulja »Živače«, zapravo ova daje 3,6 puta veći broj; za mulj

Tabela 3

## Akumulacija »Međuvršje profil I, II i III horizontalno

Datum	Profil i udaljenost od obale	Podloga	Broj bakterija na 1 ml. vode	Koliko je puta veći broj na E. M. Ž.	% na M. P. A.
15. VII.	I 50 m.	M. P. A.	5.600	28,03	0,03%
		E. M. Ž.	157.000		
15. VII.	I 100 m.	M. P. A.	5.300	60	0,01%
		E. M. Ž.	138.000		
15. VII.	I 150 m.	M. P. A.	3.500	67,7	0,01%
		E. M. Ž.	237.000		
21. XII.	I 50 m.	M. P. A.	36.000	2,80	0,35%
		E. M. Ž.	101.000		
21. XII.	I 100 m.	M. P. A.	335.000	1,38	0,72%
		E. M. Ž.	463.000		
21. XII.	I 150 m.	M. P. A.	251.000	1,04	0,96%
		E. M. Ž.	262.000		
17. VII.	II 150 m.	M. P. A.	27.600	6,81	0,16%
		E. M. Ž.	167.000		
18. XII.	II 50 m.	M. P. A.	23.000	3,56	0,28%
		E. M. Ž.	82.000		
18. XII.	II 100 m.	M. P. A.	19.000	1,94	0,51%
		E. M. Ž.	37.000		
18. XII.	II 150 m.	M. P. A.	7.600	3,36	0,29%
		E. M. Ž.	25.000		
17. XII.	III 50 m.	M. P. A.	78.600	5,95	0,16%
		E. M. Ž.	137.000		
17. XII.	III 50 m.	M. P. A.	42.000	3,14	0,31%
		E. M. Ž.	248.000		
19. VII.	III 100 m.	M. P. A.	23.000	3,45	0,28%
		E. M. Ž.	145.000		

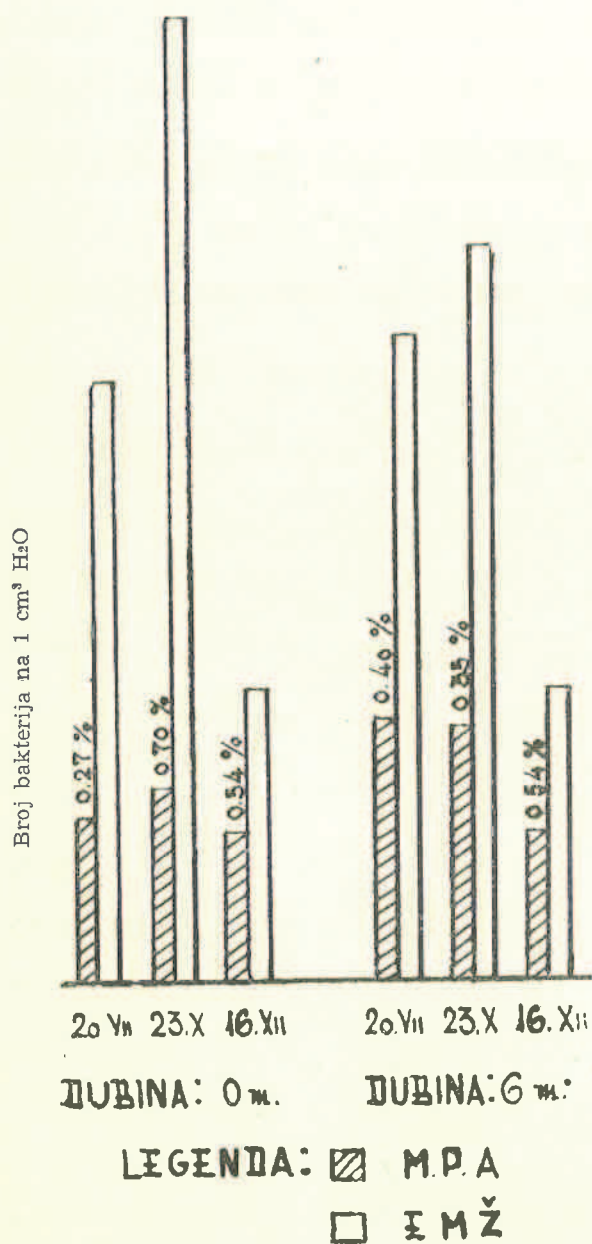
0,28% na mesopeptonskom agaru ili na supstratu E. M. Ž. 3,5 puta više. Za vodu »Joca jezero« 0,85% na M. P. A. ili 1,7 puta veći broj na podlozi E. M. Ž. »Kolub« 0,16% na M. P. A. ili 5,9 puta više na E. M. Ž. i »Susek« 0,55% na M. P. A., tj. 1,8 puta više na E. M. Ž.

Posmatrajući ove rezultate na primerima iz jezera ribnjaka »Ečke« (Belo jezero i Joca), gde su uzimane probe iz vode i iz mulja, primećuje se da su te razlike za jednu i drugu sredinu gotovo iste, dok su na »Živači«, čiji je mulj korišćen kao materijal za pripremanje podloge E. M. Ž., te razlike bile u poseku za obe godine blizu 7,74 puta veće za mikroorganizme mulja, u odnosu na mikrofloru vode na podlozi E. M. Ž. To navodi na pretpostavku da bi broj mikroorganizama iz mulja ovih ribnjaka bio daleko veći, da je za podlogu agarizovanog ekstrakta mulja korišćen mulj iz odgovarajućih ribnjaka.

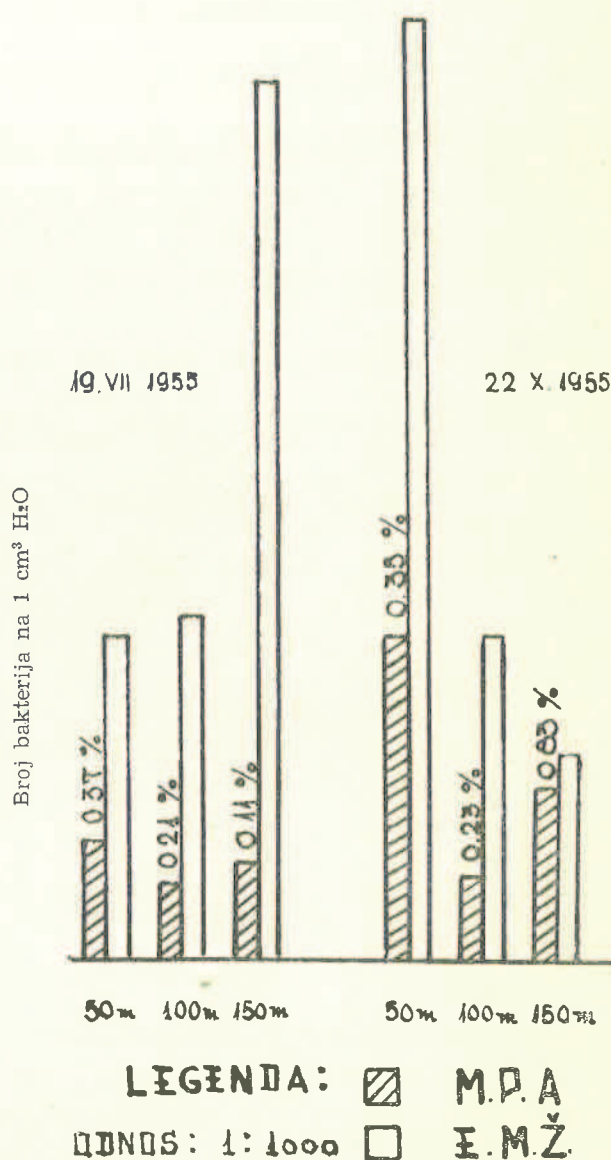
Probe iz akumulacionog jezera »Ovčar Banja« uzimane su vertikalno na 0 m. i na 6 m. u tri maha (20. VII., 23. X. i 16. XII. 1955. god.). Iz ovih uzoraka svaki put smo dobili daleko veći broj mikroorganizama na podlozi E. M. Ž., nego na mesopeptonskom agaru. Na grafikonu br. 1 pretstavljene su dobivene brojčane vrednosti iz ovih proba na jednoj i drugoj podlozi i date su procentualne vrednosti za podlogu M. P. A. u odnosu na podlogu E. M. Ž. Mesopeptonski agar je davao 0,35% od broja izraslih kolonija na supstratu E. M. Ž., zapravo E. M. Ž. je pokazao 2,67 puta veći broj kolonija.

Na grafikonu br. 2 prikazani su odnosi na ovim dvema podlogama za uzorke iz vode akumulacije »Ovčar Banja« sa različitim udaljenošću od obale (na 50, 100 i 150 m.). Probe su uzete u dva maha, juli i oktobar 1955. godine. I ovde je isto kao i u slučaju ver-

**GRAFIKON I.**  
Akumulacija »Ovčar Banja«



**GRAFIKON II.**  
Akumulacija »Ovčar Banja«



tikalnih proba: uvek veći broj kolonija na podlozi E. M. Ž., a prosečno izraženo daje 0,35% na M. P. A. od vrednosti na E. M. Ž., što će reći na ovoj drugoj je 3,66 puta veći broj mikroorganizama.

Na akumulaciji »Međuvršje« rađeno je na tri profila. Probe su uzimane horizontalno i vertikalno u dva izlaska (juli i decembar 1955. god.). Rezultati ovih ispitivanja dati su na tabeli 3 i 4.

Prosek iz horizontalnih proba sa prvog profila (tab. 3) iznosi 0,35% na podlozi M. P. A., tj.: 26,82 puta veći broj kolonija izrastao je na podlogama E. M. Ž. Horizontalno na profilu II (tab. 3) na podlozi M. P. A. raslo je 0,31% od izraslih kolonija na E. M. Ž., tj. ovaj sup-

strat je davao 9,91 puta veći broj mikroorganizama. Horizontalne probe sa profila III (tab. 3) pokazale su na M. P. A. rast od 0,25% ili 4,18 puta veći broj kolonija na podlozi E. M. Ž. Ili u proseku na sva tri profila horizontalne probe su pokazale na podlozi M. P. A. rast od 0,30%, tj. supstrat E. M. Ž. davao je 11,63 puta veći broj kolonija.

Ako se posmatra tabela br. 4 gde su pretstavljene dobivene vrednosti sa istih profila u vertikalnom pravcu u proseku dale su sledeće rezultate: profil I: 0,31% na M. P. A. ili drugačije izraženo 15,14 puta veći broj na podlozi E. M. Ž.; profil II: na podlozi M. P. A. raslo je 0,27% prosečno od broja kolonija na E. M. Ž., odnosno ova druga podloga davala je 3,82 puta veći broj mikroorganizama; profil III davao je na podlozi M. P. A. 0,35%, zapravo na E. M. Ž. pokazao se 2,9 puta veći broj kolonija. Računajući u proseku za sva tri profila zajedno na M. P. A. raslo je 0,3%, a podloga E. M. Ž. dala je 7,28 puta veći broj mikroorganizama.

Kao što se vidi iz dobivenih rezultata i na akumulaciji »Međuvršje« i na svim profilima i horizontalno i vertikalno, dobivali smo vidljivo veće rezultate na podlozi agarizovanog ekstrakta mulja, nego na podlozi mesopeptonskog agara.

Na Skadarskom jezeru rađeno je uporedo sa podlogama mesopeptonskog agara i agarizovanim ekstraktom jezerskog mulja, koji je uziman iz dva međusobno udaljena jezerska područja. U ovom slučaju smo spravljali podlogu ekstrakta mulja, isto kako je to ranije opisano sa muljem iz »Živače«, a pored toga, spravljali smo sa dodavanjem jezerske vode 10% ekstrakt od ova dva mulja, koji smo kasnije agarizovali. Koristili smo mulj iz područja Vučkog blata i mulj iz pučinskog dela jezera u neposrednoj blizini Albanske granice. Na grafikonu III prikazani su rezultati ovih ispitivanja. Ekstrakt mulja iz Vučkog blata obeležen je oznakom E. M. V. B., a za podlogu agarizovanog ekstrakta mulja iz pučinskog dela, uzeli smo oznaku E. M. P. Na ovako pripremljenim podlogama zasejavali smo vodu i mulj sa sledećih postaja: Vučko blato, Raduš i pučina jezera.

Uzorke mulja i vode iz Vučkog blata zasejavali smo uporedo na: M. P. A., 10% E. M. P., E. M. P. i E. M. V. B. (graf. III). U ovom slučaju je najveći broj kolonija rastao na podlozi E. M. V. B. i na probama iz vode i na probama iz mulja. Naši rezultati pokazuju za vodu da je na M. P. A. raslo 0,03% od dobivenog broja na E. M. V. B., tj. ekstrakt ovoga mulja davao je 31,6 puta veći broj mikroorganizama. A iz proba mulja na podlozi M. P. A. raslo je 0,19% u odnosu na E. M. V. B., tj. na podlozi ovoga mulja raslo je 5,06 puta više kolonija. Na postaji »Raduš« korišćene su, pored M. P. A., sledeće podloge: E. M. P., 10% E. M. P. i 10% E. M. V. B. Ovdje je za vodu najbolje rezultate pokazala podloga 10% E. M. V. B. i u odnosu na ovu podlogu M. P. A. je davao 0,37% rasta, tj. ona je davala 2,66 puta veći broj mikroorganizama, dok su ostale podloge davale ili istu vrednost kao mesopeptonski agar (1.500 kolonija na 1 ml. vode) ili neznatno veći broj (2.000 na 10% E. M. P.). U slučaju uzoraka iz mulja, na ovoj postaji najbolji rast se pokazao na podlozi E. M. P., i u odnosu na ovu podlogu, M. P. A. je davao 0,33%; zapravo na podlozi E. M. P. pokazao se tri puta veći broj kolonija.

Uzorci iz pučinskog dela zasejavani su, pored M. P. A., na podlogu 10% E. M. P. i E. M. P. i ovdje je isti slučaj kao i na području Vučkog blata, tj. najveći broj mikroorganizama i iz vode i iz mulja rastao je na podlozi spravljenoj od mulja iz tog područja. Tako je za vodu na podlozi E. M. P. rastao 6,3 puta veći broj kolonija, nego na M. P. A., tj. mesopeptonski agar davao je 0,15%; a za mulj na mesopeptonskom agaru raslo je

Tabela 4

Akumulacija »Međuvršje« — profil I, II i III  
vertikalno

Datum	Profil i dubina	Podloga	Broj bakterija na 1 ml. H <sub>2</sub> O	Koliko puta je veći broj na E. M. Ž.	% na M. P. A.
19. VII.	I 0 m.	M. P. A. E. M. Ž.	7.600 179.000	26,18	0,43%
19. VII.	I 5 m.	M. P. A. E. M. Ž.	4.300 229.000	53,48	0,01%
19. VII.	I 10 m.	M. P. A. E. M. Ž.	20.000 315.000	15,75	0,06%
19. XII.	I 0 m.	M. P. A. E. M. Ž.	42.000 151.000	3,6	0,27%
19. XII.	I 5 m.	M. P. A. E. M. Ž.	28.000 56.000	2	0,50%
19. XII.	I 10 m.	M. P. A. E. M. Ž.	26.000 93.000	3,57	0,27%
19. XII.	I 20 m.	M. P. A. E. M. Ž.	355.000 509.000	1,43	0,69%
17. VII.	II 0 m.	M. P. A. E. M. Ž.	6.300 23.000	3,66	0,27%
17. VII.	II 5 m.	M. P. A. E. M. Ž.	5.000 27.000	5,4	0,18%
17. VII.	II 10 m.	M. P. A. E. M. Ž.	24.000 104.000	4,75	0,23%
17. VII.	II 15 m.	M. P. A. E. M. Ž.	43.000 103.000	2,39	0,41%
18. XII.	II 0 m.	M. P. A. E. M. Ž.	26.000 76.000	2,92	0,34%
18. XII.	II 5 m.	M. P. A. E. M. Ž.	18.000 58.000	3,22	0,31%
18. XII.	II 15 m.	M. P. A. E. M. Ž.	22.000 97.000	4,40	0,20%
18. XII.	III 0 m.	M. P. A. E. M. Ž.	38.000 145.000	3,71	0,26%
18. VII.	III 0 m.	M. P. A. E. M. Ž.	30.000 100.000	3,33	0,30%
18. VII.	III 10 m.	M. P. A. E. M. Ž.	38.000 71.000	1,86	0,53%
17. XII.	III 0 m.	M. P. A. E. M. Ž.	49.000 157.000	3,16	0,31%
17. XII.	III 5 m.	M. P. A. E. M. Ž.	61.000 183.000	3	0,33%
17. XII.	III 10 m.	M. P. A. E. M. Ž.	69.000 163.000	2,36	0,42%

0,18% ili 5,3 puta veći broj na ekstraktu pučinskog mulja.

Ako posmatramo rezultate dobivene sa Vučkog blata i pučine Skadarskog jezera, gde smo u oba slučaja između ostalih podloga koristili i podloge mulja iz njihovih područja, vidi se da su one bile najefikasnije, a isto tako da je 10% ekstrakt mulja sa pučine davao nešto manji broj mikroorganizama od 100% ekstrakta ovog mulja.

Iz ovoga, a uzimajući u obzir i rezultate sa ribnjaka »Živače« moglo bi se pretpostaviti da je zaista mulj iz odgovarajućeg staništa najpodesnija podloga za rast njihovih mikroorganizama. U ribnjaku »Živača« njen mulj je pokazivao bolje rezultate na uzorcima iz vode.

U daljem radu na Skadarskom jezeru napravili smo još jednu kombinaciju, zasejavajući uporedo u dva

maha uzorke sa četiri postaje na podlogu jezerskog mulja spravljenu kao obično i dodajući, u drugom slučaju istom ekstraktu mulja 1% peptona. U ovom ogledu rađeno je sa pučinskim muljem. Ovi rezultati su iznešeni u tabeli br. 5 i iz njih se može videti da je podloga ekstrakta mulja sa peptonom davala niže vrednosti, nego čist ekstrakt jezerskog mulja. Tako je srednja vrednost za uzorke vode iz Vučkog blata bila 0,18% na ekstraktu mulja + pepton a za mulj iz ove postaje 0,34% od dobijenog broja kolonija na čistom E. M. Za postaju »Raduš« vrednosti za uzorke vode bile su 0,22% na ekstraktu mulja + pepton, a za mulj 0,12%. Na pučini iz vode 0,52%, a za uzorke mulja 0,23%. Za zonu makrofita 0,42% iz uzoraka vode i 0,46% iz uzoraka mulja raslo je na podlozi jezerskog mulja sa dodatkom peptona. Ovi rezultati bi išli u prilog pretpostavci Foot-

**SKADARSKO JEZERO**  
Odnos između podloge E. M. i E. M. + 1% peptona

Tabela 5

Datum	Postaja	Iz čega	Podloga	Broj kolonija	Koliko puta više na E. M. P.	Koliko % na E.M. + pep.
12. X.	Vučko Blato	H <sub>2</sub> O	E. M. P. E. M. P. + pep.	2.400 700	3,42	0,29%
12. XI.	Vučko Blato	H <sub>2</sub> O	E. M. P. E. M. P. + pep.	993.000 7.700	12,8	0,07%
12. X.	Vučko Blato	mulj	E. M. P. E. M. P. + pep.	106.000 62.000	1,70	0,58%
12. XI.	Vučko Blato	mulj	E. M. P. E. M. P. + pep.	19.938.000 2.085.000	9,56	0,10%
12. X.	Raduš	H <sub>2</sub> O	E. M. P. E. M. P. + pep.	6.300 2.900	2,17	0,30%
12. XI.	Raduš	H <sub>2</sub> O	E. M. P. E. M. P. + pep.	626.830 97.400	6,43	0,15%
12. X.	Raduš	mulj	E. M. P. E. M. P. + pep.	97.000 17.000	5,70	0,17%
12. XI.	Raduš	mulj	E. M. P. E. M. P. + pep.	12.809.000 1.105.000	11,67	0,08%
12. X.	Pučina	H <sub>2</sub> O	E. M. P. E. M. P. + pep.	1.730 1.600	1,08	0,92%
12. XI.	Pučina	H <sub>2</sub> O	E. M. P. E. M. P. + pep.	14.000 1.700	0,23	0,12%
12. X.	Pučina	mulj	E. M. P. E. M. P. + pep.	32.000 14.000	2,19	0,45%
12. XI.	Pučina	mulj	E. M. P. E. M. P. + pep.	94.000 2.470	38,05	0,02%
12. X.	Zona makrofita	H <sub>2</sub> O	E. M. P. E. M. P. + pep.	3.100 2.360	1,32	0,76%
12. XI.	Zona makrofita	H <sub>2</sub> O	E. M. P. E. M. P. + pep.	923.000 131.000	5,52	0,18%
12. X.	Zona makrofita	mulj	E. M. P. E. M. P. + pep.	98.000 68.500	1,43	0,69%
12. XI.	Zona makrofita	mulj	E. M. P. E. M. P. + pep.	15.993.000 3.827.000	4,13	0,24%

Taylor-a (1949.) da sadržaj peptona iznad 0,05% pretstavlja sprečavajući faktor za rast bakterija.

Napred izloženi rezultati predstavljaju radove na stajaćim vodama. U toku daljeg rada pokušali smo da primenimo uporedo podloge od agara iz mesa i peptona sa različitim agarizovanim ekstraktima mulja na tekućim vodama t. j. na jezerima.

Uzimali smo uzorke vode iz 28 različitih reka, pri čemu smo imali ukupno 32 postaje, jer smo u slučaju Dunava i Jegričke radili na dve dubine, a na Tisi pored različitih dubina uzeli smo i uzorke sa različitih mesta. Dobijeni rezultati su prikazani na grafikonu br. IV. Pri ovom radu koristili smo različite muljeve za dobijanje podloge agarizovanog ekstrakta mulja i to mulj iz ribnjaka »Živača« (E. M. Ž.), iz aku-

mulacije »Međuvršje« (E. M. M.) i iz akumulacije Ovčar Banja (E. M. O. B.).

U svim slučajevima podloga M. P. A. davala je daleko niže vrednosti za broj bakterija, u odnosu na podloge agarizovanog ekstrakta mulja. U većini slučajeva, t. j. od 32 postaje na 14 postaja je podloga E. M. Ž. davala najveći broj mikroorganizama, a u dva slučaja (Dunav na 0,5 m. i Žička reka) na E. M. Ž. dobili smo isti broj kolonija kao i na E. M. M. u prvom slučaju i na E. M. O. B. u drugom slučaju. Po dobijenim rezultatima broja bakterija iz tekućih voda pokazalo se također da je podloga bilo kojeg ekstrakta mulja daleko podesnija za rast njihovih mikroorganizama od podloge agara iz mesa i peptona.

## ZAKLJUČAK

1. Radeći kvantitativne analize iz vode i mulja ribnjaka: »Živača«, »Ečka«, »Kolut« i »Susek« i analize iz vode akumulacija: »Međuvršje« i »Ovčar Banja« paralelno na podlogama agara iz mesa i peptona te na agarizovanom ekstraktu mulja iz ribnjaka »Živača« dobijali smo uvek znatno veći broj mikroorganizama na podlozi agarizovanog ekstrakta mulja iz ribnjaka.

2. Uzorci mulja i vode sa različitih postaja na Skadarskom jezeru bili su zasejavani paralelno na podlozi agara iz mesa i peptona i agarizovanim ekstraktima mulja iz različitih jezerskih područja. Dobiveni rezultati su i u ovom slučaju pokazali da je podloga M. P. A. daleko manje podesna za rast jezerskih mikroorgani-

zama, i da je na njoj uvek rastao znatno manji broj kolonija, nego bilo na kojoj od podloga agarizovanog ekstrakta mulja.

3. Uzorci iz rečnih voda takođe su davali znatno manji broj kolonija na podlozi M. P. A. nego na podlogama agarizovanih ekstrakta različitih muljeva.

4. Dobiveni rezultati su pokazali, da je za rast slatkovodnih mikroorganizama daleko podesnija podloga agarizovanog ekstrakta mulja od standardne podloge agara iz mesa i peptona. Podloga agarizovanog ekstrakta mulja je, verovatno, zbog približavanja prirodnim uslovima staništa u pogledu hemiskih faktora daleko podesnija.

## SUMMARY

It is known, that the bacteriums and similar microorganisms act a big roll in transformation of matter in water-mediums as well as in the sediments of silt, which are chemical mixtures of own kind, in which 7—8% of organic matter are organic matters of bodies from bacterium.

It is settled, that the most of onecelling organisms take for food bacteriums (Luck) just as some of higher organisms (Rodina, Bauer, Zo-Bell, Feltham, Mare ans so on). Probably these repacious of microorganisms reduce the density of bacterical population and reversely, bacteriums are able to inspire on the evolution of other organisms, changing the chemical and natural-science-chemical terms of medium.

For increasing of natural productivity of fish-pond a big factor is the fertilization.

The application of fertilization of fish-ponds with different sorts of green dung is constantly more extensive. The explanation of the process of increase and decrease of bacterical biomass has a practical cast of

mind in this case. Therefore are made these experiments.

Going from the assumption that the foundation prepared from material of own medium shall more-perfectly show the microflora-riches of our waters that is, the foundation shall be more convenient for the evolution of bigger number of microorganisms. There are done parallel quantitative experiments of microflora from some our waters on meat, pepton and agar and agarized extract of silt, to make use of silt from some different places. As material for these experiments there are taken the samples of water and silt from some fish-ponds in P. R. Serbia (Živača, Ečka, Susek, Kolut), from accumulately lakes (Međuvršje, Ovčar, Banja), from Skadarsko jezero — lake, and from following rivers: Danube, Jeglička, Tise, Zlatice, Save, Kolubare, Tamnave, Uba, Skrapeža, Djetinje, Zložnice, Uvca, Konjske rijeke, Ibra, Zapadne Morave, Velike Morave, Rače, Jezave, Jasenice, Bolečke Rijeke, Bistrice, Lima, Kobršnice, Lepenice, Gruže, Bjelice and Čemernice.

From these experiments we lead out following.

## CONCLUSION

1. Doing the quantitative analysis from water and silt of fish-pond »Živača« and analysis from accumulately lakes »Međuvršje« and »Ovčar-banja« parallel on agar-basis from meat and pepton and on agarized extract of silt from fish-pond »Živača« we got allways remarkably bigger number microorganisms on basis of agarized extract of silt from fish-pond.

2. The samples of silt and water from different places of Skadarlake were sowed parallel on agar basis from meat and pepton and on agarized extracts of silt from different lake-districts. The attained results show in this case too, that the basis of meat, pepton and agar is much mor unfavourable for the growts of microorganisms on lakes and on this basis always grows less

number od colonies than on any other basis of agarized extract of silt.

3. The samples from fluvial waters have given considerably less number of colonies on the basis meat-pepton-agar too, than on the basis of agarized extract of different silts.

4. The results which we got have shown, that for the growth of fresh-water micro-organisms is much more convenient the basis of agarized extract of silt than the standard basis of agar from meat and pepton. The basis of agarized silt is, probably, by reason of approaching to the natural conditions of medium, in consideration of chemical factors, more favourable.

#### LITERATURA:

1. B. A. Cooper, E. G. D. Murray: The Botom Sediments of Lake Lauzon, *Revue Canadiene de Biologie*, vol 12 No 4, 1953.
2. C. H. Foot and C. B. Taylor: The Influence of the Composition of the Medium on the Growth of Bacteria from Water. *Proc. Soc. Appl. Bact.* 1949 (1).
3. Krise A.: Mikroorganizmi vostočnoj časti Severnogo Ledovitogo okeana. *Mikrobiologija XIV.*, 268, 1945.
4. Pochon J.: Manuel technique d'Analyse microbiologique du sol, Paris, 1954 (1-123).
5. Rodina A. G.: Dejstvie rastiteljnogo udobrenija na procesi azotofiziciji i opit primenenija azotogena v ribovodnih trudah. *Mikrobiologija T. XXIII.* vot. 6, 1954.
6. L. A. Rozenberg i N. A. Mefedova: Vzaimosvjaz bakterii s hemičeskim režimom i zoo-organizmami v severo-zapadnoj časti Tihogo okeana. *Mikrobiologija T. XXV.* vip. 1, 1956.
7. C. B. Taylor: Distribution of Bacteria in English Lakes. *Jour of Hygiene*, Vol XL, No 6, 1949.
8. Zo-Bell: *Marine Microbiology*, 1949.

Mirjana Janković:

## Prezimljavanje vodenih organizama u mulju ispražnjenih ribnjaka

Pitanje mogućnosti prezimljavanja vodenih organizama u bazenima koji su preko zime ostali bez vode dobiva, pored čisto teoriskog interesa, i veliki praktični značaj, s obzirom da većina od tih organizama predstavlja korisnu hranu za pojedine riblje vrste. Već sama ta činjenica dovoljna je da opravda nastojanja mnogih istraživača, koji su svoju delatnost usmerili u pravcu rešenja ovoga problema. Ako se, međutim, problem prenese na područje šaranskih ribnjaka, onda tek postaje jasno od kolike je važnosti da se utvrdi u kom stepenu su pojedini predstavnici faune dna sposobni da u isušenom mulju izdrže niske temperaturne uslove. To najbolje potvrđuje okolnost da je u takvim vodama rano u proleće plankton vrlo slabo razvijen i da životinje vezane za biljke nemaju još pogodno tlo za svoj razvoj usled čega ribe tada uglavnom uzimaju hranu iz mulja. Međutim, kako se preko zime ribnjak ostavlja na suvom, postoji velika opasnost da se pod dejstvom mrazeva brojnost faune dna jako smanji. U tom slučaju ne može ni fauna dna da zadovolji potrebe ishrane riba u proleće zbog čega se one prepuštaju gladovanju u to vreme. Samo se po sebi razume, da se u takvim ribnjacima ne može ni očekivati veliki riblji prinos na kraju godine. Imajući sve to u vidu smatrali smo korisnim, da za naše ribnjačare iznesemo šta je do sada urađeno na rasvetljavanju pitanja ponašanja naselja dna u mulju ispuštenih ribnjaka.

Prezimljavanje vodenih organizama u zamrznutoj podlozi tretirano je još dosta davno, prvenstveno od strane ispitivača faune dna u ribnjacima. Neki od njih su u svojim radovima dali samo uzgredne konstatacije o ponašanju faune dna preko zime, ne upuštajući se detaljno u analizu rezultata. Tako je još 1919. Vundč (Wundsch 1919) izneo mišljenje da postoji prilagodjenost larava vrste *Chironomus plumosus* na niske zimske temperature, od kojih se one brane na taj način, što se povlače dublje u mulj, gde je uticaj mrazeva znatno ublažen. Zato ih je u proleće našao još uvek žive na dubini od 25 sm. Da li je pri tome uopšte bilo, i u kom stepenu, i mrtvih larava Vundč ništa ne navodi. Suprotno ovom gledištu Nordkvist (Nordquist 1925) sma-

tra da sve larve Chironomidae, a posebno *Chironomus plumosus*, rđavo podnose niske temperature. Kao dokaz poslužili su mu nalazi iz nekih švedskih ribnjaka, koji pokazuju da su od mrazeva stradale sve sitnije larve, a da je samo vrlo mali procenat velikih larava ostao u životu. Naši rezultati sa ribnjaka Živače čine sredinu između ova dva krajnja mišljenja. Oni potvrđuju prilagodjenost faune dna na hladnoću, ali samo do izvesnog stepena, pošto se jedan deo organizama obavezno smrzava pri ekstremnim temperaturnim uslovima. Ovaj zaključak je izveden na osnovu različite zastupljenosti prolećne faune dna u dve uzastopne godine, 1954 i 1955, pri čemu je prve godine fauna prezimela u suvoj podlozi, dok je iduću zimu provela u mulju pod vodom. Tako je u 1954 fauna dna imala najmanju biomasu, svega 1,7 gr/m<sup>2</sup>, odmah posle upuštanja vode u ribnjak, suprotno idućoj godini kada je preko zime zabeležen maksimum njene težine, 40,9 gr/m<sup>2</sup>. Prema tome, u prvom slučaju je po prelasku na intenzivnu ishranu riba u proleće, vladala nestašica u prirodnoj ribljoj hrani, dok je u drugom istovremeno bila u maksimalnom razvoju. Ovakvo stanje rezultat je delovanja zimskih mrazeva i suve podloge na organizme u isušenom mulju, koji su se nepovoljno odrazili na njihovu brojnost. Računa se, doduše samo aproksimativno, da je stradalo oko 30% organizama, mada se može očekivati da je taj procenat mogao biti i znatno veći, s obzirom da je zima u kojoj je ribnjak ostao ispražnjen bila vrlo oštra (Janković 1957a, 1957b, 1958). I Gostkovski (Gostkovski 1935) je na osnovu proučavanja boniteta poljskih ribnjaka došao do zaključka, da se zimske atmosferske prilike nepovoljno odražavaju na brojnost faune dna. To se naročito odnosi na gornji sloj podloge gde smrtnost može da bude i 92%. Organizmi pak, koji zimuju dublje u mulju, kao na primer larve *Chironomus plumosus*, stradaju znatno manje.

Prva organizovana ispitivanja datiraju tek od pre 30 godina. Pojava Zernovljevog rada (Zernov 1928, cit. Borodič), kojim je otkrivena sposobnost velikog broja vrsta (117) da pod anabiozom provode duže vreme u ledu, potstakla je mnoge ispitivače da se prihvate detalj-