Aleksandar Pavić

# Bakteriološko-sanitarna analiza reke Jablanice i njenih pritoka

Cilj istraživanja je bio utvrđivanje mikrobiološkog stanja reke Jablanice i njenih pritoka. Ispitivanja su rađena u letnjem periodu 1998. godine. Bakteriološko sanitarne analize su rađene standardnim metodama. Analizom rezultata utvrđeno je prisustvo fekalnog zagađenja na više lokaliteta. Prisustvo bakterija roda Bacillus ukazuje na delovanje erozije duž ispitivanog toka. Dobijeni rezultati pokazuju da je tok Jablanice u celini srednje zagađen.

#### Uvod

Zagađenost voda, koja biva sve veća, jedan je od najvećih svetskih problema. Usled njene zagađenosti, u vodi svakoga dana nestaje veliki broj organizama. Da bi biljke, životinje i čovek mogli da opstanu, neophodna im je voda određenog kvaliteta. Ukoliko se količina štetnih materija poveća, onda se takva voda smatra zagađenom. U zagadenoj vodi nastaju promene u biocenozama, što dovodi do narušavanja ekološke ravnoteže.

Cilj ovog istraživanja je dobijanje mikrobiološke slike reke Jablanice i njenih pritoka. Pažnja je bila usmerena na utvrđivanje bakterioloških i sanitarnih parametara ispitivanih voda, određivanje brojnosti i zastupljeno sti bakterija u datim vodama, kao i određivanje uticaja pritoka na bakteriološko stanje reke Jablanice.

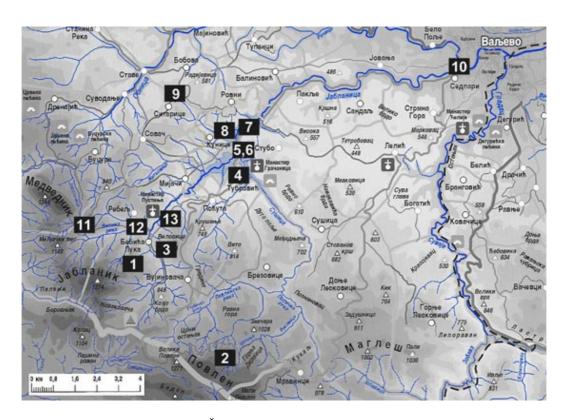
Područje Jablanice je izabrano zbog očekivanih promena u eko-sistemu koje će izazvati izgradnja brane Stubo-Rovni.

## Opis lokaliteta

Reka Jablanica je leva sastavnica Kolubare. Izvorište Jablanice se nalazi na padinama planine Jablanik na nadmorskoj visini od 1144 m (Čokić 1994). Hidrografska mreža je dobro razvijena. Dužina toka je oko 27 km. Tara i Rebeljska reka su dve veće leve pritoke, a ponornica Sušica desna pritoka reke Jablanice.

Aleksandar Pavić (1982), Šabac, Partizanska 47/1, učenik 2. razreda Gimnazije "Vera Blagojević" u Šapcu.

MENTOR: Zoran Nikolić, asistent, Biološki fakultet u Beogradu



Lokalitet 1: izvor reke Jablanice. Šumovit brdski predeo, ima malo vode, dno je šljunkovito, obale su obrasle drvenastim i zeljastim biljkama.

Slika 1. Lokaliteti.

Lokalitet 2: izvor Povlenske reke. Dno je peskovito i šljunkovito, okolno zemljište je vrlo vlažno, izvor je u potpunosti obrastao mahovinama i papratima.

Figure 1.
Investigated area.

- Lokalitet 3: reka Jablanica kod Bebića luke. Dno je kamenito, a obale su obrasle zeljastim biljkama.
- Lokalitet 4: reka Sušica, 50 m pre ulivanja u Jablanicu. Dno je pretežno kamenito, a obale su obrasle drvenastim biljkama.
- Lokalitet 5: reka Jablanica, 50 m posle ulivanja Sušice. Pretežan kameniti predeo, na obali su zastupljene vise drvanaste, a manje zeljaste biljke.
- Lokalitet 6: reka Jablanica, 150 m posle ulivanja Sušice. Dno je kamenito, obale su obrasle drvenastim biljkama.
- Lokalitet 7: reka Jablanica, 50 m posle ulivanja Tare. Dno je kamenito i šljunkovito. Desna obala je obrasla drvenastim i zeljastim biljkama, dok je leva bez biljnog pokrivača (kamenolom).
- Lokalitet 8: reka Tara, pred ulivanje u Jablanicu. Dno je šljunkovito, a obale su obrasle drvenastim biljkama.
- Lokalitet 9: izvor reke Tare. Dno je kamenito i peskovito, a obale su obrasle pretežno zeljastim biljkama.

- Lokalitet 10: reka Jablanica, na ulazu u Valjevo. Dno je peskovito, voda je mutna, a obale su obrasle drvenastim biljkama.
- Lokalitet 11: vrelo Rebeljske reke, dno je muljevito puno je opalog lišća, u podnožju velike bukve.
- Lokalitet 12: Rebeljska reka pred ulivanje u reku Jablanicu. Dno je šljunkovito, obale su kamenite sa malo vegetacije
- Lokalitet 13: reka Jablanica, posle ulivanja Rebeljske reke. Dno je peskovito i šljunkovito, na pojedinim mestima je nataloženo opalo lišće i mulj, obale su obrasle šumskom vegetacijom.

## Materijal i metode

Istraživanje je rađeno u periodu od 26. jula do 4. avgusta 1998. godine. Uzorkovanje je vršeno duž toka reke Jablanice i njenih pritoka reke Tare, Sušice i Rebeljske reke. Uzimanje uzoraka vršeno je sa dubine do 40 cm, standardnim mikrobiološkim metodama (SGRS 1991).

#### Bakteriološke analize

1. Određivanje ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija

Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija utvrđen je zasejavanjem podloge za ukupan broj bakterija sa po 0.1 mL uzorka iz razblaženja 10<sup>-4</sup> i 10<sup>-5</sup>. Zasejane podloge su inkubirane 24 h na 37°C, nakon čega je izvršeno brojanje izraslih kolonija. Formula za izračunavanje ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija glasi:

$$X = \frac{S_v \times K}{10^{-n}}$$

gde je X – ukupan broj bakterija u 1 mL uzorka,  $S_v$  – srednja vrednost broja kolonija, K – koeficjent, n – red razređenja.

2. Određivanje najverovatnijeg broja koliformnih bakterija u uzorku

Dokazivanje prisustva koliformnih bakterija vršeno je fermentacionim testom, a njihov najverovatniji broj, određen je MPN (Most Probable Number) metodom, korišćenjem Swaroop-ove tablice (SGRS 1991).

Prethodni ogled: Količine od 1 mL, 0.1 mL i 0.01 mL, za svaki uzorak zasejane su u sterilne epruvete sa Laktoza-Andrade peptonskom vodom i Durhamovim cevčicama. Zatim su epruvete inkubirane u termostatu 48 h na 37°C, nakon čega su očitani rezultati.

Potvrdni ogled: Za potvrdu prisustva koliformnih bakterija, urađen je potvrdni ogled, gde je 10 epruveta (po jedna za svaki uzorak; sa najviše gasa i promene boje indikatora) zasejano na Endo agar i inkubirano 24 h na 37°C.

Završni ogled: Za konačnu identifikaciju izraslih kolonija urađen je završni ogled presejavanjem izraslih kolonija na površinu kosog Kligerovog dvostrukog šecera i zabadanjem eze u dubinu ove podloge. Za ovo je korišćeno 12 epruveta, jer su neke kolonije bile svetlije (A), a neke su bile tamnije (B). Posle je urađen IMVIC test, zasejavanjem na Peptonsku vodu, Metil red-Voges-Proskauer i Simonsov citratni agar. Nakon inkubacije od 24 h na 37°C izvršeno je očitavanje rezultata.

#### 3. Dokazivanje prisustva bakterija roda Bacillus

Nakon zagrevanja po 0.5 mL uzoraka 20 min. na 80°C, napravljena su decimalna razblaženja  $10^{-3}$  i  $10^{-4}$ , a zatim su zasejane Podloge za ukupan broj bakterija 0.1 mililitrom navedenih razblaženja, za svaki uzorak. Posle inkubacije od 24 časa na 37°C izvršeno je brojanje izraslih kolonija roda *Bacillus*.

#### 4. Dokazivanje prisustva sulfitoredukujućih klostridija

Po 1 mL svakog uzorka tretirano je temperaturom od 80°C tokom 20 minuta, a nakon toga na njih je naliven poluohlađeni sulfitni agar. Posle 24 časa inkubacije na 37°C izvršeno je bojenje po Gramm-u i pregledane pločice na prisustvo karakterističnih spora.

#### 5. Dokazivanje prisustva Streptococcus Faecalis

Određivanje prisustva *Streptococcus faecalis*-a je urađeno tako što je na ohladjenu i očvrsnutu podlogu (mešavina Dekstroznog teluritnog agara i Klauberg-ove teluritne podloge) u Petrijevim kutijama izvršeno presejavanje sa prethodno zasejanog uzorka na LAP podlozi. Posle 24<sup>h</sup> inkubacije na 37°C urađeno je bojenje izraslih kolonija po Gramm-u i katalaza test. Katalaza test izvršen je nalivanjem nekoliko kapi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na izrasle kolonije. Pojava mehurića dokazuje prisustvo *Streptococcus faecalis*-a.

#### 6. Dokazivanje prisusustva bakterije Pseudomonas aerugynosae.

Epruvete sa Laktoza-Andrade peptonskom vodom zasejane uzorcima, nakon inkubacije i završenog potvrdnog ogleda su ostavljene 7 dana, a onda zasejane u hranljivi bujon. Posle inkubacije od 24 h na 37°C vršena je ekstrakcija pigmenta piocijanina hloroformom. Identifikacija piocijanina predstavlja pozitivnu reakciju za dokazivanje *Pseudomonas aerugynosae*.

### Fizičko-hemijske analize

U okviru fizičko-hemijskih analiza uzeti su podaci o temperaturi vazduha, vode i pH vrednosti vode. Temperature vode i vazduha određivane su živinim termometrom (od –20 do +50°C, tačnost od 0.1°C), a vrednost pH je određivana digitalnim pH-metrom (0-14, tačnost 0.01).

## Rezultati i diskusija

Na osnovu fizičko-hemijskih parametara (tabela 1), uočava se da su temperature vode na izvorima manje, zato što njihova voda iz dubina izlazi na površinu, dok su visoke temperature na ostalim lokalitetima uslovljene visokom temperaturom vazduha. Vrednost pH ne varira mnogo, i srednja vrednost iznosi 7.4. Prema vrednosti pH ove vode su slabo bazne, osim na izvoru reke Jablanice (lokalitet 1), gde iznosi 8.2 što znači da je ova voda baznija u odnosu na vodu ostalih lokaliteta.

Tabela 1. Fizičko-hemijski parametri													
Parametar	Lokalitet												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
pH	8.2	7.4	7.4	7.4	7.5	7.7	7.4	7.1	7.5	7.6	7.8	7.8	_
Temperatura vode [°C]	8	9.5	21	25	24	22	20	20	17	19.5	6	22	_
Temperatura vazduha [°C]	19.5	19.5	25	28	23	23	27	26	23	25	25	24	_

Rezultati mikrobioloških analiza dati su u tabeli 2. Mikrobiološkim ispitivanjem utvrđeno je prisustvo koliformnih bakterija, osim na lokalitetima 1 i 2. Broj koliformnih bakterija varira po lokalitetima. Najveći broj koliforma zastupljen je na lokalitetu 3, a najmanji broj je na lokalitetu 11. Porast broja koliforma na lokalitetu 6 može se objasniti korišćenjem tog dela reke za izletište i plažu. Uz pomoć IMVIC testa izvršena je determinacija koliformnih bakterija i konstatovano je prisustvo E. coli na 3. i 8. lokalitetu. Osim njih ustanovljene su i Klebsiella oxytoka, Kluyvera sp. na drugim lokalitetima. Ukupan broj mezofila kreće se od  $1 \times 10^5$  (lokalitet 11) do  $1.8 \times 10^8$  (lokalitet 6). Veći broj koliforma i mezofila je utvrđen na lokalitetu 10, što se objašnjava neposrednom blizinom gradske zone Valjeva. Duž celog toka se zapaža relativno mali broj koliforma što ukazuje na procese samoprečišćavanja reke. Prisusutvo bakterija roda Bacillus utvrđeno je na lokalitetima 2, 5, 6, 7, 8, 9, 11 i 12, ali u malim količinama, što ukazuje da su bakterije ovoga roda dospele u vodu ispiranjem zemljišta. Prisustvo sulfitoredukujućih klostridija utvrđeno je na lokalitetu 3 i 7, i ukazuje na zagađenje fekalnog porekla. Sulfitoredukujuće klostridije su u manjem broju pronađene u Jablanici, dok ih u Tari, Sušici i Rebeljskoj reci nema. Mali broj sulfiroredukujućih klostridija ukazuje na nizak stepen anaerobnih uslova, što na indirektan način govori o niskoj zagađenosti. Streptococcus faecalis detektovan je 8. i 9. lokalitetu tj. na reci Tari, i govori o postojanju animalnog fekalnog zagađenja. U reci Jablanici nije konstatovano prisustvo Strptococcus faecalis-a, iako je on konstatovan na samom ulivanju reke Tare u Jablanicu. U kolimetrijskim epruvetama, ni posle sedam dana inkubacije, nije utvrđeno prisustvo *Pseudomonas aerugynosae*.

Duž toka reke Tare, Sušice i Rebeljske reke prisutne su bakterije indikatori fekalnog zagađenja, ali ove vode nisu preopterećene njima, što ukazuje na skorašnje ili periodično zagađenje materijama fekalnog porekla i na sposobnost samoprečišćavanja. Mali broj sulfitoredukujućih klostridija ukazuje na mali intenzitet biodegradacije, ali samo njihovo prisustvo ukazuje da ona ipak postoji. Prisustvo *Bacillus* sp. u ispitivanim vodama, ukazuje da su ovi tereni izloženi procesu erozije.

Tabela 2. Rezultati bakteriološke analize ispitivanih uzoraka vode

Lokalitet	Zasejano uzoraka			K [L <sup>-1</sup> ]	$U[L^{-1}]$	В	Sc	Pa	
	$5 \times 1$ ml	0.1 ml	0.01 ml			$10^{-3}$	$10^{-4}$		
1	0	0	0	0	$1.3 \times 10^{7}$	0	0	0	0
2	0	0	0	0	$1.7 \times 10^{8}$	0	1	0	0
3	5	1	1	>24000	$1.2 \times 10^{6}$	0	0	2	0
4	5	0	0	3800	$4.0 \times 10^{6}$	0	0	0	0
5	0	1	1	400	$8.0 \times 10^{6}$	0	20	0	0
6	5	0	0	3800	$1.8 \times 10^{8}$	10	3	0	0
7	5	0	0	3800	$2.7 \times 10^{6}$	1	0	1	0
8	3	0	1	1200	$6.7 \times 10^{6}$	0	Prsten	0	0
9	4	1	0	2100	$1.2 \times 10^{6}$	0	2	0	0
10	2	1	1	10000	$9.1 \times 10^{7}$	0	0	0	0
11	1	0	0	220	$1.0 \times 10^{5}$	0	1	0	0
12	4	0	0	1500	$6.8 \times 10^{7}$	0	1	0	0
13	4	0	0	1500	$1.6 \times 10^{6}$	0	0	0	0

Legenda: K – najverovatniji broj koliformnih bakterija; U – ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija; B – broj bakterija *Bacillus* sp.; Sc – broj sulfitoredukujićih klostridija; Pa – broj bakterija *Pseudomonas aerugynosa*.

Uporednom bakteriološkom analizom reke Jablanice i njenih pritoka primećuje se razlika u brojnosti koliforma i drugih bakterija. Manji broj bakterija egzistira na Rebeljskoj reci, Tari i Sušici, nego duž toka same Jablanice, što ukazuje da ove pritoke u maloj meri utiču na brojnost bakterija u Jablanici.

Gledajući od izvorišta ka ušću, vidi se da broj koliforma raste. Ali, to nije posledica ulivanja pritoka, nego odliva fekalnih materija humanog porekla iz okolnih sela u reku Jablanicu, zbog nepostojanja kanalizacione mreže i odvodnih kanala na ovim područjima.

## Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da izvor Jablanice i izvor Povlenske reke nisu zagađeni, što se ne može reći za izvor reke Tare gde je konstatovano postojanje animalnog fekalnog zagađenja. Celokupni tok Jablanice se u svetlu dobijenih rezultata može proceniti kao srednje zagađen. Utvrđeno zagađenje je fekalnog tipa, poreklom iz ljudskih naselja duž toka reke Jablanice što je posledica nepostojanja kanalizacione mreže.

#### Literatura

Berger-Jekić, O. Jovanović, K. M., Kocić, B., Kulauzov, M. Nedeljković, R. M., Otašević, M., Pecić, J., Švabić-Vlahović, J. M. 1997. *Specijalna bakteriologija*. Beograd: Savremena administracija.

Berger-Jekić, O., Jovanović, M., Lukić, M., Janković, M. 1995. *Mikrobiologija sa parazitologijom i epidemologijom*, 1. deo. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva.

Borojević, S. 1978. Metodologija eksperimentalnog naučnog rada. Novi Sad: Radnički univerzitet "Radivoj Ćirpanov".

Đukanović, M. 1991. Ekološki izazov. Elit.

Karakašević, B. 1969. *Mikrobiologija i parazitologija*. Beograd: Medicinska knjiga.

Knežević-Vukčević, J., Simić, D. 1997. *Metode u mikrobiologiji*, 1. deo. Beograd: Biološki fakultet.

Marković, S. B. 1987. *Praktikum (praktične vežbe iz mikrobiologije)*. Beograd: Naučna knjiga.

Čokić, S. 1994. Fauna zooplanktona i mikrozooperifitona obraštajnih zajednica reke Jablanice. *Petničke sveske*, 38/II: 12.

SGRS 1991. Pravilnik o sanitarnoj mikrobiološkoj analizi otvorenih voda. Službeni glasnik republike Srbije, 17:233.

#### Aleksandar Pavić

#### Microbiological Analysis of Jablanica River

Water polution represents one of biggest environmental problems today. Purpose of this research was to determine degree of microbial polution in Jablanica river (Valjevo – western Serbia), and in it's tributaries. Field work was done during summer period of 1998. Analysis were performed using standard microbiological methods. Results showed presence of fecal contamination on several localities. Detection of *Bacillus* sp. points on erosion around examined area. Conclusions based on these results say that Jablanica river has medium polluted water.

