

Miloš Spurný a Milan Dostálek :

Stanovení průvodní mikroflory desulfurikačních bakterií ve vodách sirovodíkových pramenů

(Práce z biochemického odd. Ústavu pro naftový výzkum v Brně)

Úvod a problematika

Stanovení výskytu desulfurikačních bakterií má rozhodující význam pro posouzení intensity síranové redukce ve vodách sirovodíkových pramenů (Spurný, Dostálek, Úlehla 1956); autoři ukázali, že vývoj desulfurikačních bakterií závisí také na průvodní mikroflorě, vyskytující se ve vodách, t. j. poměr ve vodách obsažených desulfurikačních bakterií ke kontaminantní mikroflorě určuje rychlost produkce sirovodíku. Pro účely hydrologické praxe byl vypracován nomogram, (Spurný, Dostálek, Úlehla 1956), v němž k vyhodnocení počtu desulfurikačních bakterií je třeba zjistit četnost jejich průvodní mikroflory; jde o skupinu bakterií, které rostou na téže elektivní půdě jako desulfurikační bakterie, t. j. využívají laktát amonný jako zdroj organického uhlíku a snášejí vyšší koncentrace siřičitanu sodného. Při sledování četnosti bakterií tohoto typu bylo užito thigmataktické metody.

Metoda

Použitá metoda thigmataxe — submerged slide technic (Zobell 1946) — spočívá v tom, že čistá skla, obvykle rozměrů podložních sklíček, se ponořují do studované vody a po vhodné době expozice, závislé na teplotě vody, množství živin a četnosti mikroorganismů, se na nich stanovuje mikroskopicky počet zárodků.

Karzinkin (1934), který po prvé užil této techniky při studiu bakterií v přirozených vodách, označoval tyto bakterie, adsorbující se na povrchu skel, jako bakterijní perifyton; synonymní názvy užívané v literatuře jsou: perifytické bakterie (Henrici 1933), sessilní nebo sedentární organismy, attachment bacteria (Zobell a Allen 1935). Studium této vlastnosti živých bakterijních buněk, zvané thigmataxe nebo stereotropie, byla věnována řada prací; přispěly k tomu některé paradoxní jevy, pozorované při stanovení četnosti mikroorganismů ve vodách. Whipple 1901, Zobell a Anderson 1936, Zobella a Stadler 1940 zjistili ve vzorcích vod, odebraných z přirozených stanovišť a uložených v laboratoři, zvýšenou činnost bakterií, resultující v mnohonásobném jejich pomnožení. Někteří autoři vysvětlovali tyto jevy změnami tense kyslíku v nádobách, nanejvýš doplněných vodou po hrdlo kultivačních nádob. Tyto domněnky byly vyvráceny zjištěním, že pomnožení bakterií a respirace aerobních bakterií je v širokých mezích nezávislá na tensi kyslíku; Zobell a Stadler (1940) udávají meze od 0,30 do 30 mg O₂/l.

Zobell (1936) věnoval pozornost nápadnému pomnožení vodních mikroorganismů ve vztahu k poměru objemu kultivované vody a příslušného povrchu nádoby; prokázal, že pomnožení zárodků úměrně stoupá s hodnotou poměru objemu vody a povrchu kultivační nádoby. Při detailním výzkumu příčin této thigmataxe zjistil též autor, že popsáný jev nastává jen v případech, kdy organické živiny jsou ve vodách obsaženy v koncentraci menší než 10 mg/l. V obráceném případě, je-li koncentrace živin vyšší, je účinek povrchu zastřen, t. j. poměr planktonických forem bakterií k perifytickým je číslo nekonečně velké. Tyto výsledky byly ověřeny pracemi autorů Heukelekian a Heller (1940) a Zobell a Grant — (1943).

Na základě těchto výsledků vyslovil Z o B e l l (1943) teorii thigmataxe; domnívá se, že primárním faktorem je adsorbce ve vodě obsažených organických látek na pevné povrchy a tím jejich zkoncentrování. Tak se vytvoří na površích mikrozona optimální pro enzymatickou činnost bakterií, neboť se zpomaluje difuze exoenzymů a organických živin, částečně natrávených do rozpuštěné formy. Předpoklad adsorbce organických látek na površích pevných látek, ponořených do roztoku, prokázali experimentálně Stark, Stadler, McCoy, a Harvey (1941). Z uvedené koncepce thigmataxe lze vysvětlit zvýšenou bakteriální aktivitu v kulturách, kde byl přidáván písek, asbest nebo skleněné perly (Peele 1936, Breden a Buschwell 1933, Lloyd 1937, Prescott a Winslow 1931, Rubenčik, Roisin a Bieljanskij 1936, Waksman, Reuszer, Carey, Hotchkiss a Renn 1933, Kořínek a Babička 1934).

Rozšíření stereotropie organismů studovali četní autoři; Lloyd (1933) soudí, že autochtonní mořské mikroorganismy nejsou planktonické, Henrici a Johnston (1935) popsali mnoho druhů bakterií, které se vyvíjejí optimálně na pevných površích, Kuzněcov (1937) uvádí, že všechny autochtonní vodní mikroorganismy mají perifytickou schopnost, Z o B e l l (1943) studoval bakteriální populace v moři a výsledky ukázaly, že z 96 druhů mořské mikroflory bylo 29 druhů výslovně thigmataktických, 47 jevílo perifytickou tendenci a 20 druhů postrádalo tuto schopnost vůbec. Z faktorů, které ovlivňují thigmataxi bakteriálních buněk, byla studována závislost na vývojové fázi buněk (Smith a Z o B e l l 1937), byly sledovány změny rychlosti thigmataxe na druhu použitých povrchů a současně vliv mezipovrchového napětí (Z o B e l l 1943). Rozhodujícím faktorem je také stanovení optimální doby thigmataktické expozice (Henrici 1936, Hotchkiss a Waksman 1936). Posledně jmenovaní autoři doporučují tuto metodu pro stanovení četnosti vodních mikroorganismů a dávají jí přednost před plotnovou metodou; v určitých případech vidí výhodu v tom, že podle thigmataktického počtu, který považují za reprezentativní obraz autochtonní mikroflory studované vody, lépe posoudíme bakteriální osídlení vody, kdežto v počtu získaném plotnovou metodou zahrnujeme i ty bakteriální druhy, které jsou vymyty z půdy okolních břehů. Pro vhodnost této metody pro hydrobiologii byly studovány možnosti kvantifikace této metody — "attachement count" (Hotchkiss a Waksman 1936, Kriss a Rukina 1952, Kriss a Markianovič 1954, Ierusalimskij 1954).

Z literárního přehledu je zřejmé, že pro studium bakteriálního osídlení hlubinných vod jsou splněny všechny předpoklady pro vhodnost použití thigmataktické metody, především pro nízkou koncentraci zdrojů organického uhlíku a dusíku ve studovaných vodách (pod 5 mg/l).

Převážná většina autorů pracovala thigmataktickou metodou přímo v terénu, t. j. sklíčka, upevněná ve speciálním nosiči, byla ponořena do studované vody a různě dlouho exponována.

Tento způsob je vhodný potud, že využívá stereotropii organismů přímo v podmínkách jejich přirozeného prostředí. V naší práci však nebylo možno vždy této modifikace užít, neboť některé prameny byly příliš mělké, některé se čerpaly výhradně pumpami. Za těchto okolností byly prováděny thigmataktické analýsy výhradně laboratorně ve speciálních skleněných nádobách, užívaných běžně pro barvení mikroskopických preparátů. Bylo užíváno mikroskopických podložních sklíček velikosti 75×20 mm, jejichž povrchová úprava byla provedena podle údajů v práci Hotchkiss a Waksman (1936): skla se nejprve vyvaří v mýdlové vodě, důkladně vyperou vodou a opláchnou v kyselině chromové. Poté se znovu vyperou v destilované vodě a uloží v alkoholu; před použitím se sklíčka vyžihnou. Vždy 5 sklíček bylo uloženo vertikálně v zárezích sterilované skleněné nádoby a přelito až po okraj 120 ml studované vody; nádobka byla přikryta víčkem. Podle výsledků předběžných pokusů byla zvolena 24hod. expozice a byla dodržována pro každou studovanou vodu. Kultivační teplota byla udržována při 22 °C. Sklíčka s přisedlými bakteriálními buňkami byla pak vyjmuta a lehce opláchnuta v destilované vodě. V silně mineralisovaných vodách nebyly po oschnutí preparátu vykryštalované soli odstraněny, neboť bylo předpokládáno, že na jejich površích

budou uchyceny mikroorganismy; mikroskopické vyšetření takových preparátů potvrdilo tuto domněnku, neboť valná většina kolonií se vytvářela kolem krystalů (obr. 1). Dále bylo postupováno tak, že thigmotaktický preparát byl krátce osušen a sterilní pipetou byla přikápnuta agarová půda elektivní pro kultivaci desulfurikačních bakterií (a tím i pro jejich kontaminanty), roztažená na 45 °C. Bylo užito obměny půdy, uvedené v práci S t a r k e y (1948) s přidavkem siřičitanu sodného a kvasničního extraktu: 0,1% K_2HPO_4 , 0,1% NH_4Cl , 0,01% $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0,01% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,1% Na_2SO_4 , 0,02% Na_2SO_3 , 0,35% laktát amonný, 0,005% kvasničný extrakt, stopa Mohrovy soli, 1,5% agar. Ještě tekutá kapka byla smáčknuta v tenký agarový film přiložením sterilního krycího sklíčka. Preparát byl rámován parafinem, aby byly zaručeny anaerobní podmínky kultivace a současně, aby bylo zabráněno vysychání agaru. Takto zhotovené preparáty byly kultivovány při 32 °C po dobu 10 dní. Počet vyrostlých kolonií byl stanovován mikroskopicky; bylo

P r a m e n L o c a l i t y	Datum odběru Date of water-sampling	Počet kontaminantních bakterií na ploše 400 mm ² Attachement count of contaminants (area 400 sq. mm.)
Napajedla — lázně	5. 8. 1955	1.130
Malenovice — prádelna	10. 6. 1955	7
Malenovice — lázně	10. 6. 1955	76
Malenovice — drůbežárna	10. 6. 1955	4.724
Louky — horní studna	5. 8. 1955	83
Louky — spodní studna	5. 8. 1955	82
Březnice — lázně	14. 7. 1955	60
Vizovice — lázně Dudík	5. 6. 1955	304
Vizovice — lázně Švejda	14. 7. 1955	50
Vizovice — lázně Kučera	14. 7. 1955	49
Želechovice-Zelené údolí	5. 6. 1955	28
Lutonina	5. 6. 1955	204
Pozdřehov (M. Mišun)	20. 6. 1955	61
Bratřejov — studánka u potoka	20. 6. 1955	748
Bratřejov-Chrámečský mlýn	28. 6. 1955	66
Trubisko — prostřední studna	20. 6. 1955	30
Pradlisko — horní studánka	10. 6. 1955	290
Pradlisko — rozcestí	10. 6. 1955	284
Podhradí	14. 7. 1955	400
Lipová — horní studna	10. 6. 1955	52
Slopné-Kozubík	10. 6. 1955	80
Slopné-Čičelova louka	10. 6. 1955	12
Bohuslavice — hostinec	20. 6. 1955	45
Bohuslavice — „petrolejová“	20. 6. 1955	57
Suchá Loz — lázně	28. 6. 1955	0
Nezdenice — lom	28. 6. 1955	8
Bánov — spodní studna	28. 6. 1955	12
Rudice-Žleby (horní studna)	28. 6. 1955	12
Rudice-Žleby (výron pod ssutí)	28. 6. 1955	55
Rudice — pumpa u potoka	28. 6. 1955	138
Ostrožská Nová Ves — lázně (studna) 2	14. 7. 1955	108
Ostrožská Nová Ves — lázně (studna) 3	14. 7. 1955	318
Podolí (Michálek č. 44)	14. 7. 1955	68

užito zařízení pro fázový kontrast při malém zvětšení objektivu Ph 20 a okuláru 17krát. Počet kolonií byl stanovován na standardní ploše 400 mm² jako průměr ze tří preparátů.

Touto metodou byla stanovována četnost průvodní mikroflory desulfurikačních bakterií ve vodách sirovodíkových pramenů kraje Gottwaldov; celkem bylo analysováno 33 vod:

Vzorky uvedených pramenů, pokud se jednalo o hluboké studny, byly odebrány zařízením pro odběr vod z hloubky; vody byly laboratorně zpracovávány druhého dne po svozu vzorků. V této době byly vody uloženy v chladícím prostoru +5 °C, aby nedošlo k pomnožení bakterií ve vodě obsažených.

Výsledky pokusů

Kultivací thigmataktických preparátů se objevily druhého až třetího dne drobné kolonie se zčernalým okrajem (obr. 2 a 3), které po přeočkování byly určeny jako bakterie rodu *Desulfovibrio*. Čtvrtý a pátý den kultivace ztratily tyto kolonie přesné hranice a v dalším průběhu kultivace se difusně rozptýlily po celé ploše preparátu (obr. 4). V téže době se počaly vytvářet kolonie odlišného tvaru; byl nalezeny v zásadě tři morfologicky odlišné typy:

1. okrouhlé kolonie, vytvářené kokovitými formami bakterií (obr. 5, 6, 7),
2. okrouhlé kolonie, tvořené krátkými tyčkovitými formami (obr. 8 a 9),
3. nepravidelné ohraničené kolonie, tvořené tenkými, vláknitými bakteriemi (obr. 10 a 11).

Vzhledem k tomu, že tyto typy kolonií se vytvářely v převážné většině preparátů ze studovaných sirovodíkových vod, byly považovány za obligátní průvodní mikroorganismy desulfurikačních bakterií; jejich celkový počet byl stanoven ve studovaných vodách (tabulka).

Zhodnocení výsledků a diskuse

Základní předpoklady pro úspěšné využití thigmataktické metody stanovení četnosti průvodní mikroflory desulfurikačních bakterií ve studovaných vodách byly podle údajů literatury v této práci splněny, t. j. vodní mikroorganismy jsou převážně perifytické a nízká koncentrace organických živin v hlubinných vodách je příznivá pro využití thigmataktické aktivity bakteriálních buněk. Zůstává však problém, zda získaný thigmataktický preparát je po kvantitativní a kvalitativní stránce reprezentativním obrazem bakteriální populace studovaných vod a zvláště zda byla zachycena bakteriální asociace kontaminantní desulfurikačním bakteriím. Stálo mimo rámec této práce uspořádat serií pokusů k získání adekvátního obrazu o perifytických poměrech pro všechny druhy bakterií, vyskytující se ve studovaných vodách. Ověření thigmataktické schopnosti kontaminantů bylo provedeno při analýze vod sirovodíkových pramenů ve Vizovicích; vzorky vody byly obohaceny živinami, jak uvedeno v metodice při přípravě živného agarů a kultivovány za anaerobních podmínek. Do nádoby byla vložena sklička, jejichž povrch byl upraven pro thigmataxi (viz metodiku v odd. II.). Po 5 dnech kultivace byl stanovován mikroskopicky thigmataktický obraz bakteriálních kultur (obr. 12). Jednotlivé bakteriální formy, vyjímaje vláknité formy desulfurikačních bakterií, jsou shodné s oněmi, které byly stanoveny nejčastěji v preparátech, kultivovaných pod sklíčkem v agarovém filmu. Při hodnocení počtu kontaminantních bakterií z počtu vyrostlých kolonií naskytá se otázka,

zda každá kolonie vyrostla z jediné buňky; tento předpoklad v některých případech neplatí, neboť již na thigmotaktických sklíčkách se vytvářejí často mikrokolonie. Po 24 hodinách thigmotaktické expozice byl zjištěn výskyt kolonií vytvářených až 100 bakteriemi. Tento fakt nikterak neskresluje výsledky počtu kolonií, vyrostlých v agarovém filmu, má však vliv na velikost počítaných kolonií.

V celkovém zhodnocení možno říci, že metoda thigmotaxe by mohla v dalším propracování nahradit plotnovou analysu, zvláště při studiu mikrobiálního osídlení vod. Výhodu oproti klasickým metodám možno vidět v tom, že s minimálními nároky na laboratorní vybavení sklem a na množství spotřebovaného agaru, lze získané thigmotaktické preparáty kultivovat v elektivních agarových filmech a kolonie stanovovat mikroskopicky.

Souhrn

1. Spurný, Dostálek a Úlehla (1956) ukázali, že vývoj desulfurikačních bakterií a produkce sirovodíku závisí také na počtu v kulturách obsažených zárodků průvodní mikroflory; při sledování četnosti bakterií této fyziologické skupiny bylo užito thigmotaktické metody.

2. Z kritického literárního přehledu je diskutována vhodnost této metody pro hydro-mikrobiologická studia.

3. Popsanou metodou byla stanovována četnost průvodní mikroflory desulfurikačních bakterií ve vodách 33 sirovodíkových pramenů kraje Gottwaldov.

4. Výhodu použité metody lze vidět v tom, že kultivací thigmotaktických preparátů v elektivních agarových filmech lze stanovit poměrné zastoupení jednotlivých fyziologických skupin mikroorganismů (při minimálních nárocích na laboratorní vybavení sklem a spotřebu agaru).

Došlo 15. II. 1956.

Literatura

- Breden, C. R., Buswell, A. M. (1933). The use of shredded asbestos in methane fermentations. *J. Bact.*, 26 : 379—383.
- Henrici, A. T. (1933): Studies of freshwater bacteria. I. A. direct microscopic technique. *J. Bact.* 25 : 277—287.
- Henrici, A. T. (1936): Studies of freshwater bacteria. III. Quantitative aspect of the direct microscopic method. *J. Bact.* 32 : 265.
- Henrici, A. T., Johnson, D. E. (1935): Studies of freshwater bacteria. II. Stalked bacteria, a new order of Schizomycetes. *J. Bact.* 30 : 61—93.
- Heukelekian, H., Heller, A. (1940): Relation between food concentration and surface for bacterial growth. *J. Bact.* 40 : 547—558.
- Hotchkiss, M., Waksman, S. A. (1936): Correlative studies of microscopic and plate methods for evaluating the bacterial population of the sea. *J. Bact.* 32 : 432—432.
- Ierusalimskij, N. D. (1954): Vyčíslenie skorosti rosta vodnych mikroorganizmov na steklach obrastanija. *Mikrobiologija* 23 : 561—570.
- Karzikin, G. S. (1934): Zum Studium des bakteriellen Periphytons. *Proc. Kossino Limnolog. Sta.*, 17 : 21—48.
- Kořínek, J. a Babička, J. (1934): Zur Biologie der Bakterienkolonie. *Zentralbl. f. Bakt.* II. 91.
- Kriss A. E., Rukina E. A. (1953): Purpurnyje serobakterii v serovodorodnyh glubinach Černogo morja. *DAN SSSR* 93 : 1107—1110.
- Kriss, A. E., Markianovič, E. M. (1954): Nabluděnija za skorostju razmnoženija mikroorganizmov v morskich vodoemach. *Mikrobiologija* 23 : 551—560.
- Kuzněcova, Z. I. (1937): Methode der Ausscheidung der Plankton- und Periphytonbakterien und ihre Anwendung zum Studium der Dynamik der bakteriologischen Prozesse im Wasserbecken. *Proc. Kassino Limnolog. Stat.*, 21 : 89—104. Citováno podle ZoBella 1936.
- Lloyd, B. (1937): Bacteria in stored water. *J. Roy. Tech. College, Glasgow* 4 : 173—177.
- Peele, T. C. (1936): Adsorption of bacteria by soil. *Cornell Univ. Agr. Expt. Sta. Memoir* 179 : 1—18.

- Prescott, S. C., Winslow, C. A. (1931): Elements of water bacteriology. New York 1931.
- Rubenčik, L. Roisin, M. B., Bieljanskij, F. M. (1936): Adsorption of bacteria in salt lakes. J. Bact. 32 : 11—31.
- Smith, W. W., ZoBell, C. E. (1937): Direct microscopic evidence of an autochthonous bacterial flora in Great Salt Lake. Ekology 18 : 453—458.
- Spurný, M., Dostálek, M., Úlehla, J.: Metoda kvantitativního stanovení desulfurikačních bakterií. Čs. mikrobiologie 1 : 272—281 (1956).
- Stark, W. H., Stadler, J., McCoy, E. (1938): Some factor affecting the bacterial population of freshwater lakes. J. Bact. 36 : 653—654.
- Starkey, R. L. (1948): Characteristics and cultivation of sulphate reducing bacteria. J. Am. Wat. Works. Assoc. 40 : 1291—1298.
- Waksman, S. A., Reuszer, H. W., Carey, C. L., Hotchkiss, M., Renn, C. E. (1933): Studies on the biology and chemistry of the Gulf of Maine. III. Bacteriological investigations of the sea water and marine bottoms. Biol. Bull., 64 : 183—205.
- Whipple, G. C. (1901): Changes that take place in the bacterial contents of waters during transportation. Techn. Quart., 14 : 21—29.
- ZoBell, C. E. (1936): Periphytic habits of some marine bacteria. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 35 : 270—272.
- ZoBell, C. E. (1943): The effect of solid surfaces upon bacterial activity. J. Bact. 46 : 39—56.
- ZoBell, C. E., Allen, E. C. (1935): The significance of marine bacteria in the fouling of submerged surfaces. J. Bact. 29 : 239—251.
- ZoBell, C. E., Anderson, D. Q. (1936): Observation on the multiplication of bacteria in different volumes of stored sea water and the influence of oxygen tension and solid surfaces. Biol. Bull. 71 : 324—342.
- ZoBell, C. E., Grant, C. W. (1943): Bacterial utilization of low concentrations of organic matter. J. Bact. 45 : 555—564.
- ZoBell, C. E., Stadler, J. (1940): The effect of oxygen tension on the oxygen uptake of lake bacteria. J. Bact. 39 : 307—322.

Vysvětlení k tab. XI.—XII.

- Obr. 1. Preparát z vody pramene Louky — horní studna. Vývoj kolonie v agarovém filmu ze zárodků, adsorbovaných na povrchu krystalu. Fázový kontrast 250×.
- Fig. 1. Submerged slide preparation obtained from the spring water of Louky. Colony developed in the nutrient agar film from bacteria attached on the surface of a crystal. Phase contrast 250×.
- Obr. 2. Preparát z vody sirovodíkového pramene lázní Dudík ve Vizovicích. Vývoj kolonií desulfurikačních bakterií v agarovém filmu po 48 hod. kultivace. Fázový kontrast 200×.
- Fig. 2. Submerged slide preparation obtained from the hydrogen sulphide water of the Dudík spring in Vizovice. Colonies of sulphate reducing bacteria in the nutrient agar film after 48 hours' cultivation. Phase contrast 200×.
- Obr. 3. Preparát z vody sirovodíkového pramene lázní Dudík ve Vizovicích. Detail kolonie desulfurikačních bakterií v agarovém filmu po 48 hod. kultivace. Fázový kontrast 500×.
- Fig. 3. Submerged slide preparation obtained from the hydrogen sulphide water of the Dudík spring in Vizovice. Colony of sulphate reducing bacteria in the nutrient agar film after 48 hours' cultivation. Phase contrast 500×.
- Obr. 4. Preparát z vody sirovodíkového pramene lázní Dudík ve Vizovicích. Přerostlé kolonie desulfurikačních bakterií v agarovém filmu po 96 hodinách kultivace. Fázový kontrast 200×.
- Fig. 4. Submerged slide preparation obtained from the hydrogen sulphide water of the Dudík spring in Vizovice. The overgrown colonies of sulphate reducing bacteria in the nutrient agar film after 96 hours' cultivation. Phase contrast 200×.
- Obr. 5. Preparát z vody sirovodíkového pramene Lútonína. Okrouhlé kolonie, tvořené kokovitými formami mikroorganismů v agarovém filmu po 96 hod. kultivace. Fázový kontrast 200×.
- Fig. 5. Submerged slide preparation obtained from the hydrogen sulphide water of Lútonína. Colonies of ovoid forms of microorganisms in the nutrient agar film after 96 hours' cultivation. Phase contrast 200×.
- Obr. 6. Preparát z vody sirovodíkového pramene Lútonína. Kolonie, tvořené kokovitými formami mikroorganismů v agarovém filmu po 96 hod. kultivace. Fázový kontrast 600×.
- Fig. 6. Submerged slide preparation obtained from the hydrogen sulphide water of Lútonína. Colonies of ovoid forms of microorganisms in the nutrient agar film after 96 hours' cultivation. Phase contrast 600×.

- Obr. 7. Preparát z vody sirovodíkového pramene lázní Dudík ve Vizovicích. Kolonie, tvořené kokovitými formami mikroorganismů v agarovém filmu po 96 hod. kultivace. Fázový kontrast 300×.
- Fig. 7. Submerged slide preparation obtained from the hydrogen sulphide water of the Dudík spring in Vizovice. Colonies of ovoid forms of microorganisms in the nutrient agar film after 96 hours' cultivation. Phase contrast 300×.
- Obr. 8. Preparát z vody sirovodíkového pramene lázní Malenovice. Kolonie, tvořené krátkými tyčkovitými formami bakterií v agarovém filmu po 96 hod. kultivace. Fázový kontrast 200×.
- Fig. 8. Submerged slide preparation obtained from the hydrogen sulphide water of the Malenovice spring. Colonies of short rod-shaped bacteria in the nutrient agar film after 96 hours cultivation. Phase contrast 200×.
- Obr. 9. Preparát z vody sirovodíkového pramene lázní Ostrožská Nová Ves. Kolonie, tvořené krátkými tyčkovitými formami bakterií v agarovém filmu po 120 hod. kultivace. Fázový kontrast 450×.
- Fig. 9. Submerged slide preparation obtained from the hydrogen sulphide water of the Ostrožská Nová Ves spring. Colonies of short rod-shaped bacteria in the nutrient agar film after 120 hours' cultivation. Phase contrast 450×.
- Obr. 10. Preparát z vody sirovodíkového pramene Pozdřechov. Kolonie, tvořené tenkými, vláknitými formami bakterií v agarovém filmu po 96 hod. kultivace. Fázový kontrast 450×.
- Fig. 10. Submerged slide preparation obtained from the hydrogen sulphide water of Pozdřechov. Colonies of filamentous bacteria in the nutrient agar film after 96 hours' cultivation. Phase contrast 450×.
- Obr. 11. Preparát z vody sirovodíkového pramene Pradlisko—horní studánka. Kolonie, tvořené vláknitými formami bakterií v agarovém filmu po 120 hod. kultivace. Fázový kontrast 450×.
- Fig. 11. Submerged slide preparation obtained from the hydrogen sulphide water of Pradlisko. Colonies of filamentous bacteria in the nutrient agar film after 96 hours' cultivation. Phase contrast 450×.
- Obr. 12. Preparát z kultury vody sirovodíkového pramene lázní Dudík ve Vizovicích. Bakteriální formy po 5 dnech kultivace. Fázový kontrast 850×.
- Fig. 12. Submerged slide preparation obtained from the hydrogen sulphide water of the Dudík spring in Vizovice. Bacterial forms after 5 days' cultivation. Phase contrast 850×.

М. Спурны, М. Досталек:

Применение метода счета бактерий на поверхности стекол обрастания для определения первоначальной микрофлоры сульфатвосстанавливающих бактерий в водах сероводородных источников

Авторы Спурны, Досталек и Улегла (1956) показали, что количество образовавшегося сульфатвосстанавливающими бактериями сероводорода зависит от числа сопровождающих бактерий; для интерпретации их количества в 33 образцах сероводородных вод района Готвальдов использовался метод счета бактерий на поверхности стекол обрастания.

2. Результаты показали преимущество применения метода определения осевших на стекле бактерий в сочетании с культивацией бактерий на среде в пленке агара.

М. Spurný, M. Dostálek:

The use of submerged slide technique for evaluating the sulphate reducing bacteria's contaminants occurring in hydrogen sulphide waters

1. In the paper of Spurný, Dostálek, Úlehla (1956) there was stated that the amount of hydrogen sulphide produced by the sulphate reducing bacteria depends upon the number of the contaminant microorganisms; submerged slide technique was used for evaluating the number of the bacterial group mentioned above by analysing of 33 hydrogen sulphide water in the region of Gottwaldov.

2. It was shown that the use of submerged slide technique is convenient in connection with the direct cultivation of periphytic bacteria attached on the slide overlaid by the elective nutrient agar film.