



ПРОГРАМА ЗА ПОДДРШКА НА МЛАДИ ЕКОЛОЗИ

„Д-Р ЉУПЧО МЕЛОВСКИ“ 2021

- ЗАВРШЕН ИЗВЕШТАЈ ЗА МАЛ ГРАНТ -

НАСЛОВ НА ПРОЕКТОТ

Застапеност на микроорганизми во глацијални езера од националниот парк Пелистер: Одговор кон условите на животната средина (MICRO ECO ICE)

Раководител: Никола Радмановиќ

Извештај за периодот: 10.3.2022-15.12.2022

Датум на поднесување: 15.12.2022



1. Резиме (на Македонски и Англиски).

Резимето содржински соодветствува на апстракт и треба да даде краток преглед на целокупното истражување (Контекст (зошто го правите истражувањето); Цел на истражувањето; Методологија; Најзначајни резултати (краток и јасен приказ на Вашите најзначајни резултати); Научен придонес (зошто Вашето истражување е значајно од научен аспект); Придонес кон зачувување и заштита (кој е апликативниот придонес на Вашето истражување, кое е апликативното значење на Вашите резултати/заклучоци

1.1) Контекст / Context (до 50 збора)

Рекреативната употреба на Пелистерските очи е општопозната појава (Dimitrov *и сор.*, 2016), но тековно не постојат податоци за ефектите на истата врз присутната микрофлора. Неопходни се темелни истражувања за да може соодветно да се валоризираат овие биогеографски елементи. Преку испитување на микробните заедници на овие езера може да се увидат ефектите на антропогена активност.

The recreational use of the glacial lakes of Pelister is a well known occurrence, however the effects of this phenomenon on the present microflora is largely undocumented. Thorough research is necessary to properly valorise these biogeographical elements. Studying their microbial communities allows us to determine the effects of anthropogenic activities.

1.2) Цел на истражувањето /Aims and research questions (до 50 збора)

Целта на овој проект беше да се определи присуството и бројноста на хетеротрофната микрофлора во двете Пелистерските очи од валоризациски (Yao *и сор.*, 2016) и контаминолошки аспект (Khatab, 2012), односно дали:

- Постојат разлики во микрофлората на различните езера (Altinoluk-Mimiroglu и Samur-Elipek, 2018; Liao *и сор.*, 2019)
- Постои сезонална варијација од рано до доцна лето на испитаните физичко-хемиски и микробиолошки параметри (Reed и Hicks, 2011)

The projects goal was to determine the presence and number of heterotrophic microflora in the two glacial lakes of Pelister. The goal was to determine if:



- There are microbial differences between the two lakes
- There are seasonal variations from early to late summer of assayed characteristics and microbial parameters.

1.3) *Методологија / Methodology (до 50 збора)*

- Инструментални методи за определба на физичко-хемиски параметри
- Култивациски техники за испитување присутна хетеротрофна микрофлора, базирани на селективни и диференцијални медиуми
- Енумерациски техники со децимални разредувања за определување бројност на испитаните групи бактерии, со употреба на pour-plate и spread-plate техники на засејување
- Определување разлики со релативна промена и релативна разлика на параметри
- Instrumental methodology for physical and chemical parameters
- Cultivation techniques for determining present heterotrophic microbiota, based on selective and differential media
- Enumeration techniques based on decimal dilutions for determining numbers of assayed bacterial groups, using pour plate and spread plate inoculation techniques
- Determining relative change and relative differences in assayed parameters.

1.4) *Најзначајни резултати / Results (до 100 збора)*

Испитувањата укажаа на суштински разлики во микрофлората на Големо и Мало Езеро. Само во примероците вода од Мало Езеро беше констатирано присуство на *Pseudomonas* spp., микромицетни габи и *Vacillus* spp. Дополнително, Мало Езеро покажа значително поголема бројност (над 80% разлика) на актинобактерии, колиформни бактерии и мезофилни хетеротрофни бактерии. Микробните заедници кои поминуваат низ интензивен пораст (над 100% релативен пораст) од Јули до Август на ниво на Големо Езеро се



актинобактерии, сулфур-оксидачки бактерии и психрофили. Спротивно од очекувањата, колиформни бактерии и мезофили покажаа помала бројност на поголема температура и зголемена антропогена активност (општопознато рекреативно капење во летната сезона) на ниво на Големо Езеро.

Analyses showed intrinsic differences between the microbial communities of Golemo and Malo ezero. Certain groups of microorganisms, including *Pseudomonas* spp, micromycetic fungi and *Bacillus* spp, were discovered only in the samples of Malo ezero. Additionally, Malo ezero showed significantly larger values (above 80% relative difference) of actinobacteria, coliforms and mesophiles. Microbial communities which showed intensive blooms (above 100% relative growth) from July to August in Golemo ezero included actinobacteria, sulphur-oxidizing bacteria and psychrophiles. Contrary to previous expectations, coliforms and mesophiles were present in smaller quantities in samples from the warmer season, despite the increased temperature and anthropogenic activity.

1.5) *Научен придонес / Contribution to science (до 50 збора)*

Микробната екологија на овие биотопи е фасцинантно поле за научен напредок. Отсуството на вакви податоци за нашите сопствени глацијални езера претставува несообразност која тековно е во фаза на корегирање. За прв пат е опишана хетеротрофната микрофлора на овие локалитети и сезонските варијации присутни во рамките на Големо Езеро.

The microbial ecology of these biotopes is a fascinating field of inquiry. The absence of data concerning our own glacial lakes is a mistake, receiving attention only recently. The heterotrophic microflora of these location and the seasonal variations within Golemo Ezero are described for the first time in this project.

1.6) *Придонес кон зачувување и заштита / Conservation importance (до 50 збора)*

Иднината на ледничките езера е загрозна во контекст на глобалните треднови на климатските промени (Peter и Sommaruga, 2016) . Овие вонфазни сезонални осцилации можат да доведат до непроценливи загуби (Margesin и Collins, 2019; Liu и соp., 2019). Потребни се шеми



на мониторинг. Резултатите на проектот можат да послужат како референца за идни конзервациски студии.

The future of glacial lakes is compromised within the context of global climate changes. These disharmonious oscillations cause irreparable losses. Without proper monitoring, glacial lakes will remain silent when faced with upcoming waves of changes. The results of this project may serve as a reference point in future conservation studies.

2. Опишете ги планираните активности една по една и прогресот кој резултирал од истите.

Напредок низ бројки (%)	Иницијално планирани активности	Постигнат напредок (реализирани активности)	Очекувани резултати	Постигнати резултати
1.Прегледување на досегашни податоци и теоретска поткрепа на ниво на тим (100%)	1.1.Колективна анализа на позната методологија на микробната екологија на планинските глацијални екосистеми	-Тимски се поминаа сите методи кои ќе се работат во лабораторијата -Се организира тимска рекапитулација на индивидуално поделени трудови за разработка	-Рекапитулација на вк 10 трудови -Виртуелни состаноци за тимска дискусија околу методите кои ќе се работат	-Се поделија трудови по mail -Се организира средба во живо за рекапитулација на трудовите -Се реализира средба во живо за рекапитулација на методите кои ќе се работат
	1.2.Анализа на досегашни податоци за тековниот биоконзервациски и хидрогеолошки статус на н.п. Пелистер	-Тимски се дискутираа публикациите и извештаите со релевантни податоци за н.п Пелистер	-Разработка на 3-6 владини или невладини извештаи/публикации	-Се анализираа 4 извештаи за н.п Пелистер, вклучувајќи 1 извештај од МЖСПП, 1 стратешка оцена, 1 студија за ревалоризација и 1 елаборат финансиран од ЕУ
	1.3. Пристап до официјални информации преку контакт со истакнати организации	- Успешен контакт се воспостави со сите предвидени организации -Контакт се оствари дополнително со н.п. Пелистер	- Контакт со 3 организации - Контакт со ПМФ катедри - Контакт со ИДСБ	- Единечен контакт со Хидробиолошки завод Охрид -Единечен електронски контакт со канцеларијата на UNDP - Повеќекратен контакт со тоерр - Повеќекратен контакт со ИДСБ и со релевантни ПМФ

				катедри
<i>Методологија на активност 1</i>	-Групна дискусија, пребарување низ литература (ncbi.nlm.nih.gov) , телефонски и дигитален контакт (Хидробиолошки завод Охрид, UNDP, ИДСБ и МОЕРР)			
<i>2. Планирање и подготовка за теренски истражувања (100 %)</i>	2.1. Планирање и подготовка за терен	- Собирање совети од горенаведени извори - Дополнително реализиравме прелиминарна посета во месец мај	- Практични совети, апликативни за нашите можности	- Добивме совети за избегнување ризик од единки со искуство релевантно на територијата на н.п.Пелистер
<i>Методологија на активност 2</i>	-Контакт со организациите наведени во активност 1, дискусија за план, делегација на предвидени активности. -Стерилизација на потребен материјал за активност 3, припрема на полипропиленски транспортни услови			
<i>3. Теренски истражувања (Колекционирање на примероци) (75 %)</i>	3.1. Прва теренска работа	- Реализиравме делумно успешна теренска посета	- Очекувавме посета во месец Мај	-Прва посета се реализира во месец Јули, бидејќи добивме информации од вработени во н.п. Пелистер дека езерата беа замрзнати до крај на месец Јуни. - Професионални рендери овозможува логистичка поддршка
	3.2. Втора теренска работа	- Реализиравме успешна теренска посета	- Очекувавме посета во месец Август	-Втора посета се реализира во месец Август. Повторно во консултација со вработени во н.п. Пелистер бевме информирани дека од почетокот на месец септември можно е теренот до езерата да е непристапен заради временските услови - Професионални рендери овозможува

				логистичка поддршка
	3.3. Колекционирање на примероци	- Успешно колекционираме примероци	-Очекувавме да колекционираме примероци од двете глацијални езера	- При прва посета, примероци се колекционираа само од Големо езеро (Мало езеро беше недостапно) -При втора посета, примероци се колекционираа од двете глацијални езера
<i>Методологија на активност 3</i>	-Теренски маневри до глацијалните езера. -Узоркување со отварање на стерилно шише со отворот неминовно под површината на водата и постепено придвижување на садот до 15 cm длабочина од површината на водата.			
<i>4. Определување на физико-хемиски и микробиолошки параметри (100 %)</i>	4.1.Определување на физичко-хемиски карактеристики	-Термометрија -pH метрија -органолептички анализи -Турбидиметрија -Кондуктометрија	-Термометрија на терен -Сите останати во лабораторија	- Температура на Големо Езеро (Јули) = 15°C, pH =7.45, бистра вода без мирис, заматеност под долниот лимит на детекција на апаратот (<10FAU), кондуктивитет = 0.1mS/cm - Температура на Големо Езеро (Август) = 18°C, pH =7.25, бистра вода без мирис, заматеност под долниот лимит на детекција на апаратот (<10FAU), кондуктивитет = 0.12 mS/cm - Температура на Мало Езеро (Август) =18.4°C, pH =5.98, бистра вода без мирис, заматеност под долниот лимит на детекција на апаратот (<10FAU). кондуктивитет = 0.31 mS/cm

	4.2. Микробиолошки анализи	<ul style="list-style-type: none"> - Хетеротрофи - Олиготрофи - Мезофили - Психрофили - Актинобактерии - <i>Bacillus</i> spp. - <i>E. coli</i> и колиформни - <i>Pseudomonas</i> spp. - <i>Clostridium</i> sp. - Квасци и мувли -Дополнително анализираше сулфуро-оксидирачки бактерии 	<ul style="list-style-type: none"> - Успешни анализи - Доминантност на психрофили над мезофили и олиготрофи над хетеротрофи. Најголема бројност на актинобактерии и. Ниска бројност на квасци и мувли. 	<ul style="list-style-type: none"> - Сите резултати се прикажани како CFU/ml, категории кои не се наведени не беа детектирани во 1 ml од релевантната езерска вода. - Големо езеро (Јули) = 240 мезофили, 120 психрофили, 10 актинобактерии, 200 сулфурооксидирачки, 12 колиформни бактерии. - Големо езеро (Август) = 150 мезофили, 737 психрофили, 270 актинобактерии, 640 сулфурооксидирачки бактерии - Мало езеро (Август) = 710 мезофили, 420 психрофили, 2225 актинобактерии, 1 <i>Bacillus</i> spp, 1 <i>Pseudomonas</i> spp, 4 колиформни, 530 сулфурооксидирачки бактерии и 3 микромицетни фунги.
Методологија на активност 4	<ul style="list-style-type: none"> -Термометрија се реализираше на лице место во рамките на активност 3, pH-метрија се реализираше со pH метар, кондуктиметрија со кондуктиметар, заматеност се анализираше со турбидиметар. -Подготовка на подлоги -Предтретман на примероци вода за селекција на споруирачки бактериски соеви (<i>Bacillus</i> spp. и <i>Clostridium</i> spp.) -Дилуциона серија со децимални разредувања на оригиналниот примерок во трипликат со последователно pour plate и spread plate. -Инкубација на инокулираните медиуми на соодветни температури (37 степени Целзиусови за мезофили, контаминанти и <i>Bacillus</i> spp., 22 за психрофили, квасци и мувли и сулфурооксидирачки бактерии 			
5. Анализа на резултати (100%)	5.1. Отчитување на резултати	<ul style="list-style-type: none"> - Дискусија околу резултати и тимски развој за читање микробиолошки резултати 	<ul style="list-style-type: none"> - Очекувана дискусија околу резултати 	<ul style="list-style-type: none"> -Тимски се отчитаа сите од горенаведените резултати - Сите членови на тимот беа запознаени со начинот на декларирање микробиолошки наоди

	5.2. Сумирање на финални резултати и статистичка обработка	- Конструкција на графички зависности и статистичка обработка се сеуште во почетна фаза	- Очекувана е конструкција на повеќе графици и селекција на идеален модел за презентирање заклучоци	-Идеален модел за презентирање на наодите се покажа со релативна разлика и релативна промена на параметрите
<i>Методологија на активност 5</i>	-Групна дискусија, воочување груби трендови на промени, внесување на резултати во табели, пресметки на релативна разлика и релативна промена			
6. Презентирање на финални резултати (100%)	6.1. Изработка на визуелна репрезентација на микробиолошките профили на езерата	- План за работа и прераспределба на одговорности е постигната - Избор на визуелни модели е реализиран - Одлука за визуелно изразување на резултати со CFUs/100ml како стандардна величина е донесена за попрецизна графичка визуелизација	- Очекувана е конструкција на повеќе графици и селекција на идеален модел за презентирање заклучоци	-Се креираа столбови дијаграми за споредба на двете пробни сезони на Големо езеро и за споредба на двете езера (дијаграми 1 и 2) -Релативните промени на параметри се евидентираа со столбови дијаграм (дијаграм 3)
	6.2. Учество на конференција	- Апстракти се пратени при апликација, во исчекување за резултат	- Очекувавме повеќе избор за конференции, меѓутоа компликацијата околу првата теренска активност не пренасочи на потесен избор	-Учество на ИДСБ конференција, одржана 18.10.2022
<i>Методологија на активност 6</i>	-Изработка на графици со податоците од активност 5, дискусија околу идеалниот избор на визуелна репрезентација -Генерирање апстракти и апликација на конференција -Подготовка за презентација на наоди			

3. Детален опис на резултатите

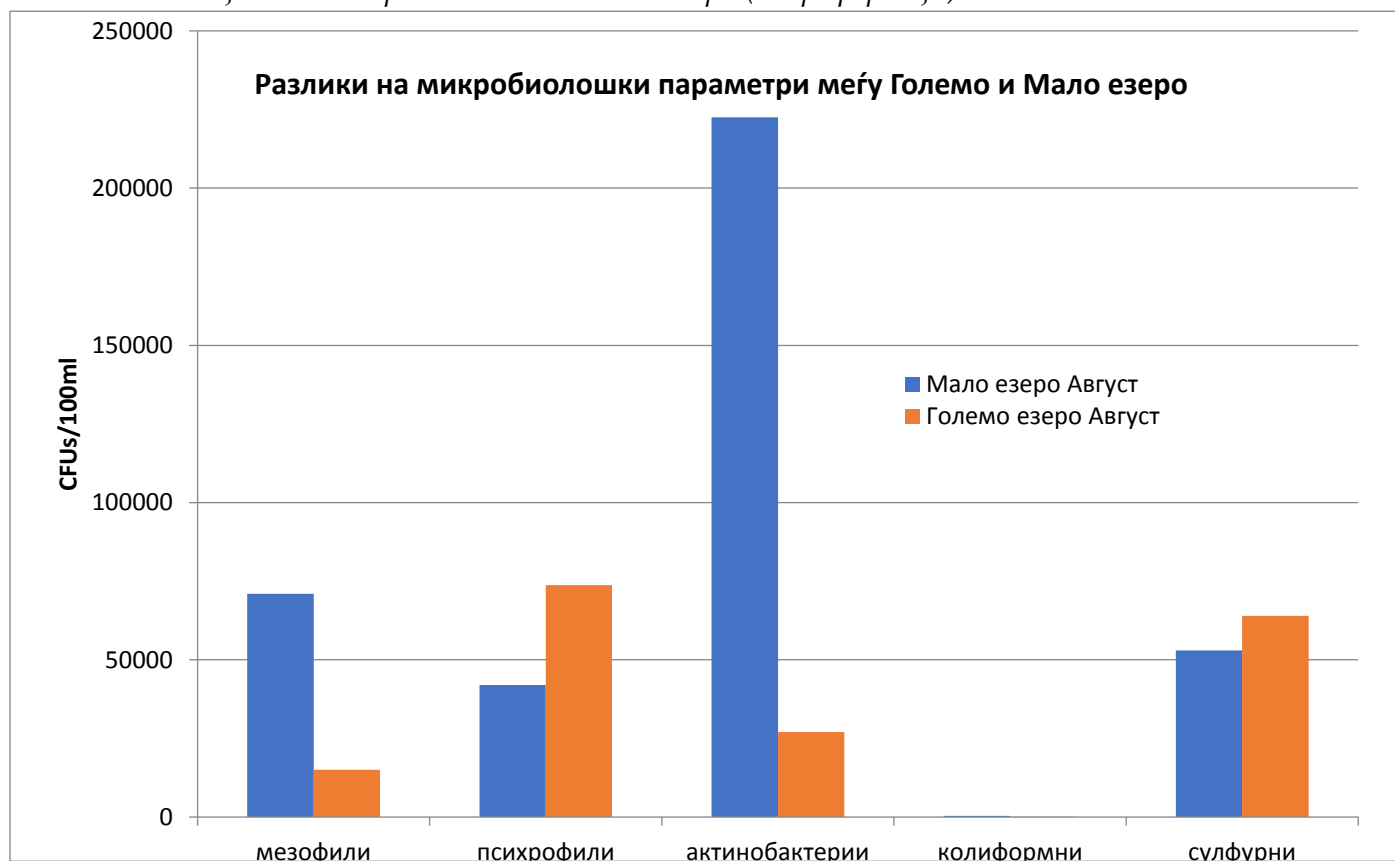
Дајте подетален описен, табеларен и/или графички преглед на вашите резултати согласно дефинираните цели/хипотези.

Оригинаалните одобрени цели од апликацијата се:

- Постојат разлики во микрофлората на различните езера (Altinoluk-Mimiroglu и Samur-Eliprek, 2018; Liao и сор., 2019)
- Постои сезонална варијација на испитаните физичко-хемиски и микробиолошки параметри (Reed и Hicks, 2011)
- Постои присуство на контаминанти кај Мало езеро (Dimitrov и сор., 2016)

Цел 1: Увидување дали постојат разлики во микрофлората на различните езера

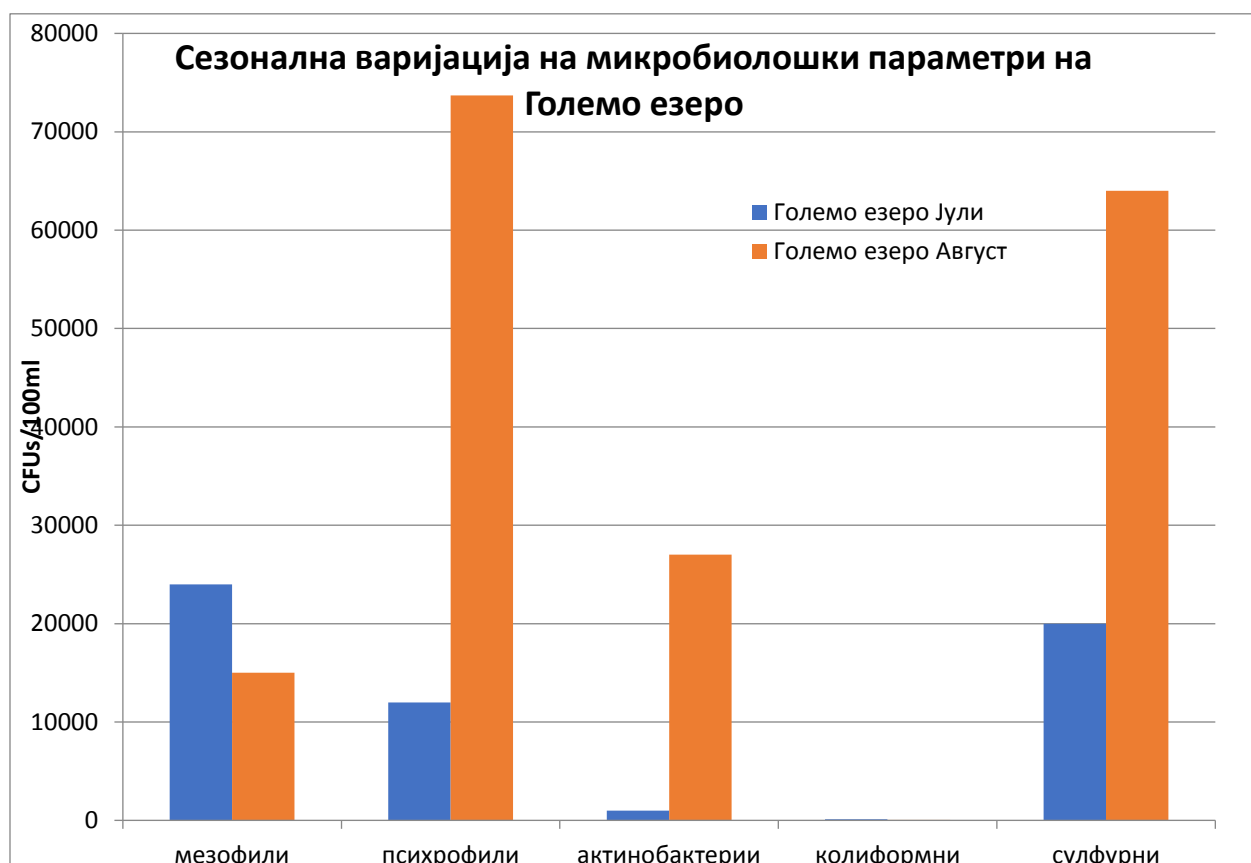
Референцирајте во заграда кон нумерирањата во колоната „постигнати резултати“ од табелата погоре (на пр. 1.2.1). Описниот преглед на резултатите во целост не треба да надмине 200 збора (без референци).



Слика 1: Бројност на микробни категории во Мало езеро и Големо езеро во месец август

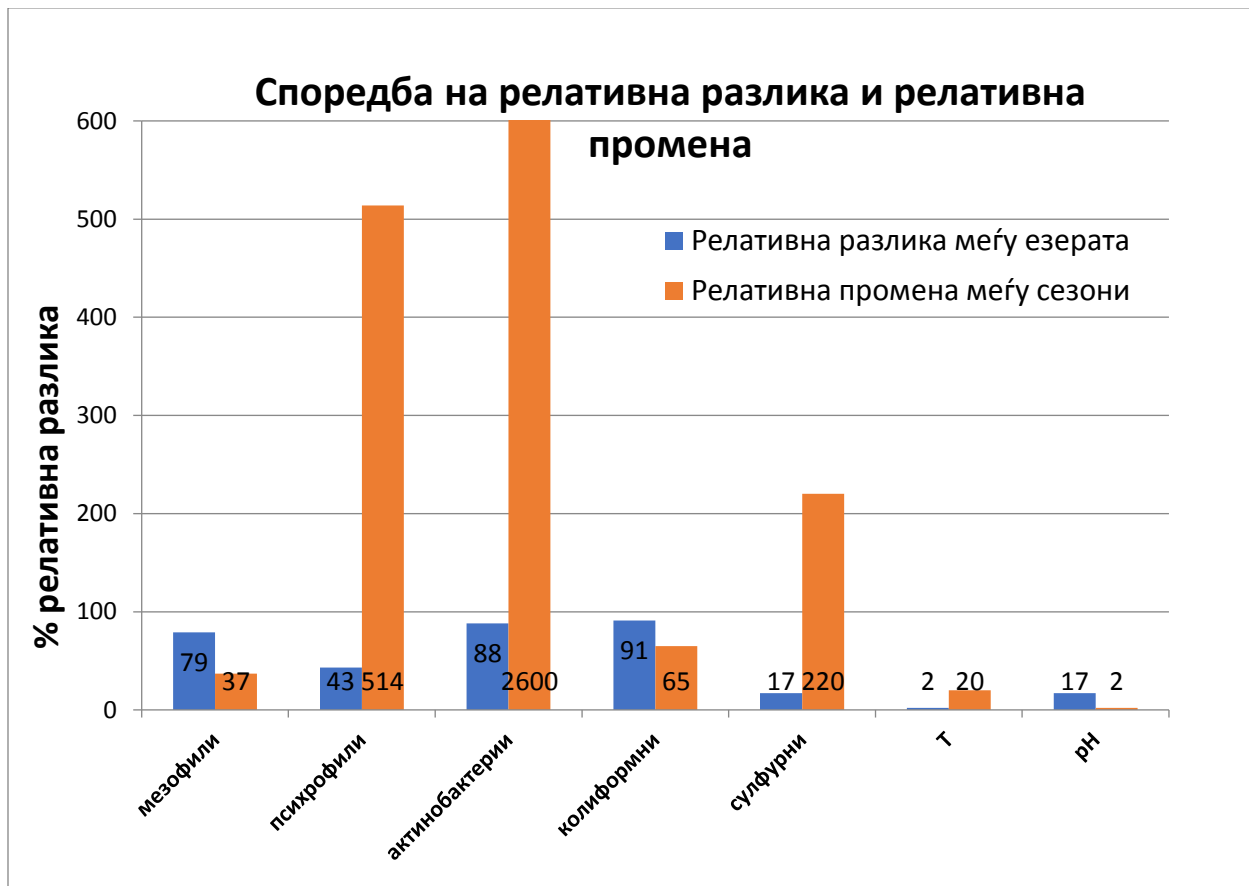
Горенаведениот дијаграм јасно (Niem и Nieama, 2001) укажува на различен микробен состав на езерата, со особена разлика на бројот на колиформни бактерии (91% релативна разлика), актинобактерии (88% релативна разлика) и мезофилни бактерии (79% релативна разлика). Најмала разлика се воочи меѓу бројноста на сулфурни бактерии (17% релативна разлика).

Цел 2: Увидување дали постои сезонална варијација на испитаните физичко-хемиски и микробиолошки параметри



Дијаграм 2: Бројност на испитани микробни категории во Големо езеро во јули и август

Горенаведениот дијаграм покажува најголем пораст на актинобактерии (релативен пораст од 2600%), психрофили (релативен пораст од 514%) и сулфурни бактерии (релативен пораст од 220% од јули во август, согласно поимот пораст или пад кои се во функција на време, кое согласно досегашни искуства, е праволиниски ориентирано кон иднината).



Дијаграм 3: Споредба на релативната разлика меѓу езерата и релативната промена во рамките на сезоналните промени на Големо езеро.

Цел 3: Увидување дали постојат контаминанти на ниво на Мало езеро

Контаминанти	CFUs/100ml	Дозволен лимит
<i>Bacillus</i>	100	/
<i>Pseudomonas</i>	121	0
Фунги	300	0
<i>E. coli</i>	0	0
Колиформни мезофили	423	0
психрофили	71000	10000
	42000	20000

Табела 1: Контаминанти утврдени во водата од Мало езеро во Август

Горенаведените резултати укажуваат на присуството на контаминанти во водата на Мало езеро над дозволеният лимит изразен во Правилникот на вода на Р.С.Македонија (релативно на питка вода)

4. Кои беа главните предизвици и како ги надминавте?

Овде наведете ги и промените кои настанале заради одредени предизвици и објаснете зошто биле неопходни. Кои се научените лекции кои

Најклучен предизвик кој се пројави во текот на проектните активности претставуваше компликација околу првиот терен во месец Јули. Контакт со професионални ренџери ни овозможи увид во моментот на одмрзнување на езерата, со цел координирање на теренската активност во период кога може да се земат примероци вода. Меѓутоа покрај нивната логистичка поддршка на теренот, патот до Мало езеро сè уште не беше во состојба за совладување од неискусни млади истражувачи во месец Јули. Втората теренска активност во месец Август се реализираше сосема планирано, благодарение на логистичката поддршка на ренџерите и на советите на искусни лица од ПМФ.



5. Забелешки околу финансискиот менаџмент.

Овде може да ги опишете и значајните промени, временските недоследности и зошто биле неопходни. Доколку сте испратиле барања кои ви биле одобрени, наведете ги тука.

6. Користена литература

Altinoluk-Mimiroglu, P., Camur-Elipek, B. (2018). Comparative Analysis of chemical and Bacterial distribution of coastal lagoons and freshwater lakes in Turkish Thrace. *Hidrobiologica*. 28. 61-69.

Dimitrov, N., Koteski, C., Jakovlev, Z., Angelkova Petkova, T., Metodijeski, D., Josevski, D. (2016). Valorization of the Pelister National Park: Macedonia: For hiking, sport, education and recreational tourism. *Turizam*. 20. 141-152.

Khattab, M. (2012). Distribution of heterotrophic bacteria and water quality parameters of Mosul Dam Lake, Northern Iraq. *WIT Transactions on Ecology and the Environment*. 164. 10.2495/WP120171.

Liao, B., Yan, X., Zhang, J., Chen, M., Li, Y., Huang, J., Lei, M., He, H., Wang, J. (2019). Microbial community composition in alpine lake sediments from the Hengduan Mountains. *Microbiology Open*, 8(9), e00832.
<https://doi.org/10.1002/mbo3.832>

Liu, K., Liu, Y., Han, B. P., Xu, B., Zhu, L., Ju, J., Jiao, N., Xiong, J. (2019). Bacterial community changes in a glacial-fed Tibetan lake are correlated with glacial melting. *The Science of the total environment*, 651(Pt 2), 2059–2067.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.104>

Margesin, R., Collins, T. (2019). Microbial ecology of the cryosphere (glacial and permafrost habitats): current knowledge. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(6), 2537–2549. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09631-3>

Niemi, M., Niemelä, S. (2001). Measurement uncertainty in microbiological cultivation methods. *Accreditation and Quality Assurance*. 6. 372-375.



Peter, H., Sommaruga, R. (2016). Shifts in diversity and function of lake bacterial communities upon glacier retreat. *The ISME journal*, 10(7), 1545–1554.

<https://doi.org/10.1038/ismej.2015.245>

Reed A., Hicks R. (2011). Microbial ecology of Lake Superior Bacteria and Archaea: An overview. *Aquatic Ecosystem Health & Management*. 14 (4): 386–395.

<https://doi.org/10.1080/14634988.2011.630282>

UNEP. (2020). Студија за валоризација на Шар Планина. *Регионална канцеларија на УНЕП во Виена*. стр. 683.

Yao, M., Elling, F. J., Jones, C., Nomosatryo, S., Long, C. P., Crowe, S. A., Antoniewicz, M. R., Hinrichs, K. U., Maresca, J. A. (2016). Heterotrophic bacteria from an extremely phosphate-poor lake have conditionally reduced phosphorus demand and utilize diverse sources of phosphorus. *Environmental microbiology*, 18(2), 656–667. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13063>

* Куса објава за социјалните мрежи (100-120 збора на Македонски и Англиски)

Овде дадете поклоквијална верзија на кусото резиме (првото прашање), на Македонски и Англиски јазик. Задржете се на највозбудливите и најинтересни аспекти и активности од вашиот проект, но за разлика од кусото резиме, публиката за која пишувате овде не се биолози и други истражувачи, туку профили на луѓе кои често немаат никаква допирна точка со вашата работа. При испраќањето на овој извештај по мејл испратете и една до три фотографии кои би биле комплементарни на опишаните аспекти и активности. Овде предложете и текст, односно наслов за секоја споделена фотографија референцирајќи го името на датотеката од секоја фотографија (доколку е повеќе од една). Доколку треба да биде „тагната“ некоја страница во објавата, објаснете го тоа добро (@_____).

Пелистерските очи се незаменливи богатства, кои како сите наши природни ресурси, се загрозени од климатски промени и човековата активност. Неопходно е овие глацијални езера да се заштитат од негативните антропогени ефекти. Меѓутоа, за да се заштити нешто



мора да се осознае во целост, од најголемите до најмалите детали. Денес со задоволство изјавуваме дека за прв пат се воочија најмалите детали на Големо и Мало езеро – микробиолошкиот свет во нив. Макотрпната работа овозможи согледување на дел од бактериите кои природно ги населуваат овие води, се воочија разликите меѓу нив и разликите кои се појавуваат со порастот на температурата и човековата рекреативна употреба. Само преку вакви истражувања може да се воспостават правилни шеми за следење и зачувување на овие природни богатства.

The glacial lakes of Pelister are priceless wonders, which are endangered by climate change and human activity. It's imperative to protect these lakes from negative effects of anthropogenic activity. However in order to protect something – it must be known in its entirety, from the largest to the smallest details. Today - with great pleasure we announce that for the first time the smallest details of Golemo and Malo ezero have been elucidated – the microbial world within. Extensive work allowed us to determine part of the bacteria which naturally dwell in these waters, showing us the differences between the lakes and which occur with growing temperatures and human exploitation. Studies like this one are key to protecting these natural wonders.



Слика А: Мало езеро



Слика Б: Мезофили од примероците од Мало езеро



Слика В: Тимот пред узоркување вода од Големо езеро