

Rozdział IV

BAKTERIE

W wodach naturalnych występują nie tylko bakterie z gatunków znanych, ale i ogromna rzesza nieopisanych. Wszystkie one są organizmami wodnymi, ponieważ odżywiają się i rozmnażają w środowisku wodnym [1] (nawet te, które występują w suchych glebach żyją w wodzie w porach gruntu). Jednak niewiele zamieszkuje samą toń wodną; większość jest związana z podwodnymi powierzchniami – skałami, osadem, roślinami etc. W osadzie może znajdować się 100000 razy więcej bakterii niż w toni [2]. Żyją często nie jako pojedyncze komórki lub czyste kolonie, ale raczej w biofilmach – złożonych zespołach wraz z innymi bakteriami, glonami czy pierwotniakami.

Bakterie, które spełniają ważne funkcje w akwariach, można zestawiać z innymi organizma-

mi, posługując się jako kryterium związkami chemicznymi, które wykorzystują w swoich procesach metabolicznych (Tabela IV-1). Zwierzęta i bakterie heterotroficzne (cudzożywne) wykorzystują związki organiczne do produkcji energii, a bakterie chemoautotroficzne potrzebują związków nieorganicznych. Większość organizmów żywych korzysta z tlenu jako akceptora elektronów w procesie oddychania.¹

Procesy metaboliczne u bakterii także polegają na przemianach jednych związków w inne. Niektóre z procesów ważnych w akwarystyce zamieszczono w Tabeli IV-2. Na przykład w procesie nityfikacji związki amonowe zostają przekształcone w azotany.

Tabela IV-1. Klasyfikacja organizmów według związków chemicznych, jakich wymagają do życia.

Organizmy	Źródło energii	Źródło węgla	Akceptor elektronów (do oddychania)
człowiek, zwierzęta, w tym ryby	związki organiczne	związki organiczne	tlen
rośliny	światło	CO ₂ i HCO ₃ ⁻	tlen
bakterie chemoautotroficzne	związki nieorganiczne	CO ₂ i HCO ₃ ⁻	tlen
bakterie heterotroficzne: aerobowe (tlenowe) anaerobowe (beztlenowe)	związki organiczne związki organiczne	związki organiczne związki organiczne	tlen NO ₃ ⁻ , NO ₂ ⁻ , Mn ⁴⁺ , Fe ³⁺ , SO ₄ ²⁻ , związki organiczne
Skróty: CO ₂ = dwutlenek węgla; HCO ₃ ⁻ = wodorowęglany; Fe = żelazo; Mn = mangan; NO ₂ ⁻ = azotyny; NO ₃ ⁻ = azotany; SO ₄ ²⁻ = siarczany			

¹ Tlen dostarcza znacznie więcej energii niż inne akceptory elektronów. Przykładowo: bakterie aerobowe (tlenowe) uzyskują 26,5 kcal/mol, wykorzystując tlen, a dla porównania bakterie anaerobowe (beztlenowe) odpowiednio 18 i 3,4 kcal/mol przy zastosowaniu azotanów i siarczanów [25].

Tabela IV-2. Związki chemiczne biorące udział w metabolizmie bakterii.

Proces	Substrat	Produkt
nitryfikacja	NH_4^+	NO_3^-
utlenianie H_2S	H_2S	SO_4^{2-}
utlenianie metanu	CH_4	CO_2
rozkład w warunkach tlenowych	związki organiczne	CO_2 , NH_3 , PO_4^{3-} , H_2S etc.
rozkład w warunkach beztlenowych	związki organiczne	kwasy organiczne, etanol, NH_3 , PO_4^{3-} , H_2S etc.
*denitryfikacja	NO_3^-	N_2O , N_2
*oddychanie azotanowe	NO_3^-	NO_2^-
*redukcja manganu	Mn^{4+} , Mn^{3+}	Mn^{2+} (forma rozpuszczalna)
*redukcja żelaza	Fe^{3+}	Fe^{2+} (forma rozpuszczalna)
*redukcja siarczanów	SO_4^{2-}	H_2S
*fermentacja	związki organiczne	kwasy organiczne, alkohole, CO_2
*metanogeneza	kwasy octowy, CO_2 , H_2	CO_2 , CH_4

* Różne formy rozkładu w warunkach beztlenowych prowadzonego przez bakterie heterotroficzne. Skróty: CH_4 = metan; H_2S = siarkowodor; N_2 = azot gazowy; NH_4^+ = jony amonowe; NH_3 = amoniak; N_2O = podtlenek azotu; PO_4^{3-} = jony fosforanowe. Patrz także Tabela IV-I.

W wyniku wszelkich procesów metabolicznych, w tym także rozkładu materii organicznej, generowane są elektrony. Na przykład glukoza (cukier) dostarcza czterech elektronów, gdy bakterie rozkładają ją do kwasu pirogronowego:



Każdy elektron powstający w procesach metabolicznych wymaga akceptora; jeśli go brak, metabolizm (i życie) ustaje.

Metabolizm w warunkach beztlenowych różni się od przemian w warunkach tlenowych tym, że akceptorem elektronów nie jest tlen. W warunkach anaerobowych bakterie muszą znaleźć inne związki. Zamiast tlenu bakterie wykorzystują azotany, mangan, żelazo, siarczany itd. Gdy wykorzystują siarczany jako akceptory elektronów, są one przekształcane do siarkowodoru.

A. Procesy prowadzone przez bakterie

1. Rozkład przez bakterie heterotroficzne

Rozkład materii organicznej przez zwykle (to jest heterotroficzne) bakterie jest ważny dla akwariów z roślinami. Materia organiczna zawiera wszystkie pierwiastki potrzebne roślinom, ale są one niejako zablokowane w wielkich związkach organicznych. Bakterie cudzożywne zamieniają materię organiczną, czy to w formie pokarmu dla ryb, czy szczątków roślinnych, martwych bakterii itd., w związki odżywcze, które mogą być wykorzystane przez rośliny (patrz s. 76-77). Niektóre z przemian to:

materia organiczna	\Rightarrow związki nieorganiczne (substancje pokarmowe)
organiczny N	\Rightarrow amoniak + CO_2
organiczny P	\Rightarrow fosforany + CO_2
organiczna S	\Rightarrow siarczki + CO_2

Ponieważ materia organiczna z definicji zawiera węgiel, podczas jej rozkładu zawsze powstaje dwutlenek węgla. Ponadto inne pierwiastki, nie tylko N, P, S i C, zostają przekształcone przez bakterie heterotroficzne z formy organicznej do postaci przyswajalnej dla roślin.

Materia organiczna, którą wykorzystują bakterie heterotroficzne, występuje w dwóch postaciach – nierozpuszczonej [POC = *Particulate Organic Carbon – przyp. tł.*] i rozpuszczonej [DOC = *Dissolved Organic Carbon – przyp. tł.*]. POC, która zawiera odchody ryb i włókniste szczątki roślinne, jest dla bakterii trudniejsza do przerobienia niż znacznie drobniejsza DOC (w pierwszym przypadku przydatne są grzyby i ślimaki, ponieważ zmniejszają one rozmiar cząstek, tym samym przyspieszając proces rozkładu [3, 4]).

Paradoksalne jest to, że niewidoczna DOC jest większym rezerwuarem węgla w układach naturalnych [5], dodatkowo jest to ta forma występowania materii organicznej, z której mogą być najszybciej uwalniane substancje pokarmowe wykorzystywane przez rośliny. Średnie stężenie DOC w rzekach na całym świecie wynosi 5,8 mg/l, a dla 500 jezior w stanie Wisconsin to 15,2 mg/l (dla wszystkich wód naturalnych wartość ta wynosi od 1 do 30 mg/l [5]).

W akwariach niemal cała DOC oraz szczątki znajdują się w różnych stadiach rozkładu, ale tempo uwalniania substancji pokarmowych może się znacznie różnić (bakterie heterotroficzne mogą wykazywać własne preferencje odnośnie ulubionego pokarmu i odpowiedniego środowiska). DOC zawiera białka, organiczne fosforany oraz cukry proste, które są szybko metabolizowane, w cieplej wodzie o odczynie obojętnym prawdopodobnie w ciągu kilku godzin (czyli w warunkach, jakie panują w większości akwariów). Trudniej przyswajalne części DOC, takie jak substancje humusowe, mogą być trawione przez bakterie całymi miesiącami.² Całkowite strawienie POC w warunkach beztlenowych może okazać się niemożliwe, dlatego w podłożu stopniowo gromadzą się osady denne (muł).



Torfowiec spiczastolistny (*Sphagnum cuspidatum*). Torfowce, tu reprezentowane przez *S. cuspidatum*, tworzą gęste, gąbczaste dywany na torfowiskach i bagnach. *S. cuspidatum*, gatunek o długich (13–40 cm), pierzastych pędach, często rośnie w całkowitym zanurzeniu. Mchy te są same w sobie kwaśne i stanowią główny składnik torfu. Niektórzy akwaryści wykorzystują je jako wypełnienie filtrów w celu naturalnego zmiękczania i zakwaszania wody (Ca oraz Mg zostają wymienione na jony wodorowe). Za: [7], za zgodą Cambridge University Press.

² Część DOC nie ulega łatwemu przyswojeniu przez bakterie, ale jest dość podatna na rozkład przez światło (fotooksydacja). W wyniku fotooksydacji DOC w niezanieczyszczonych jeziorach Szwecji zostaje uwolnione od 0,086 do 0,41 mg C/l/dzień (dla porównania bakterie uwalniają od 0,1 do 0,27 mg C/l/dzień) [16]. Metale takie jak: żelazo, mangan czy miedź działają jako katalizatory fotooksydacji DOC (patrz s. 158-159).

Jest zupełnie zrozumiałe, że bakterie z części (20-60%) substancji uwalnianych w drodze rozkładu syntetyzują własny materiał komórkowy [8]. Jednakże same też w końcu obumierają i ulegają rozkładowi. W wodzie jeziornej w ciągu 20 dni z rozkładem trzciny były związane cztery odrębne i następujące po sobie populacje bakterii [9]. Nim substancje pokarmowe zostaną pobrane przez rośliny, może zachodzić wiele procesów „recyklingu”.

Rozkład w warunkach tlenowych (tlen jest wymagany) jest znacznie szybszy niż w warunkach beztlenowych. Dlatego mieszanie się wody i powietrza oraz fotosynteza roślin pobudzają rozkład, ponieważ dostarczają tego pierwiastka.

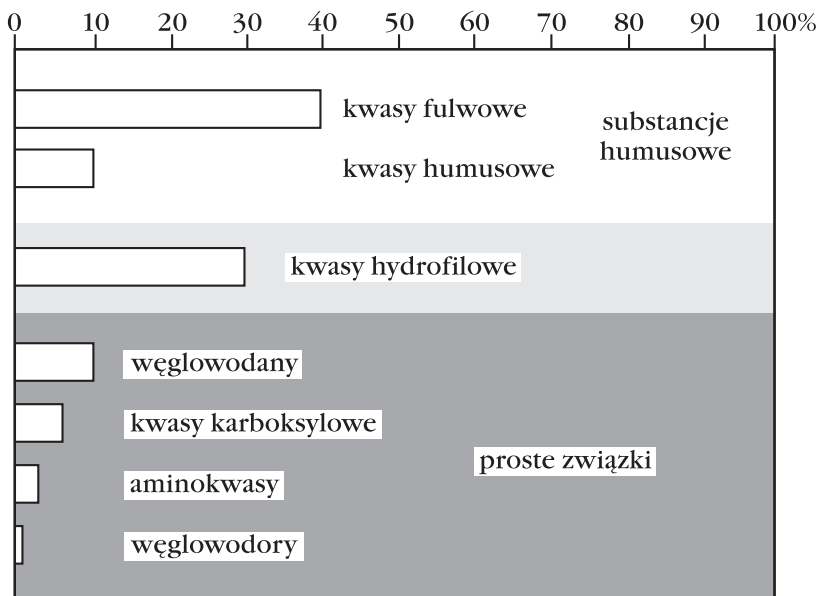
Większość bakterii wymaga odczynu obojętnego, dlatego takie właśnie pH jest najlepsze dla dobrego tempa rozkładu. Przykładowo torfowiska z mchem torfowcem (*Sphagnum*) często są bardzo kwaśne (pH od 3 do 4,5), ponieważ te rośliny same są

kwaśne [6]. Aktywność bakteryjna i rozkład znacznie się obniżają w takim środowisku. Materia organiczna się akumuluje, ponieważ bakterie nie przekształcają jej do postaci gazów takich jak: metan, dwutlenek węgla czy wodór. W wyniku tego torfowiska z torfowcami stopniowo wypełniają się nierozłożoną materią organiczną.

Można powiedzieć, że rozkład w ekosystemie to suma wielu procesów metabolicznych. Zarówno w jeziorach, jak i w ustabilizowanym akwarium, rozkład i uwalnianie składników pokarmowych dla roślin jest zazwyczaj procesem stałym, trwałym i ciągłym.

a) Rozkład w osadach źródłem CO₂

W wyniku rozkładu materii organicznej prowadzonego przez bakterie heterotroficzne w osadach dennych zostają uwolnione do wody dwutlenek węgla i metan. W niemal wszystkich jeziorach znajduje się więcej CO₂, niż wynikałoby to jedynie z równo-



Ryc. IV-1. Skład DOC w „przeciętnej” rzce. Kwasy fulwowe, humusowe i hydrofilowe są substancjami humusowymi o podobnym ciężarze cząsteczkowym (od ~1000 do 2000); różnią się głównie rozpuszczalnością, przy czym kwasy humusowe są najtrudniej rozpuszczalne, a kwasy hydrofilowe najłatwiej. „Proste związki” to aminokwasy, fosfolipidy, peptydy itd., ich budowa chemiczna jest dobrze znana. Za: Thurman [12] (ryc. 4.1), za zgodą Springer Science and Business Media.

wagi z dwutlenkiem węgla znajdującym się w powietrzu atmosferycznym [10]. Znaczna część tej nadwyżki pochodzi z rozkładu zachodzącego w osadach dennych.

Ilość CO₂ powstającego w osadach zależy od ilości i typu materii organicznej w nich zawartej. Dla przykładu: naukowcy [11] porównali tempo rozkładu różnych typów materii organicznej w osadach jeziornych. Osad zawierający 5% świeżej materii roślinnej wytwarzał duże ilości dwutlenku węgla (1000 µg/g suchego osadu/dzień). Natomiast osad zawierający 5% opadłych liści dębowych produkował CO₂ znacznie wolniej (150 µg/g/dzień).³ Analiza chemiczna potwierdziła, że świeża materia roślinna jest bogatsza w składniki pokarmowe niż opadłe liście dębu. Aktywność bakterii była wyższa w bogatszej materii organicznej, tak więc dwutlenek węgla był produkowany szybciej.

b) Powstawanie substancji humusowych (HS)

Przerabianie materii organicznej na dwutlenek węgla i substancje przyswajalne dla roślin to nie jedyne korzyści rozkładu. W wyniku niecałkowitego rozkładu materii roślinnej powstają substancje humusowe, akumulujące się zarówno w wodzie, jak i w podłożu [12].

Substancje humusowe (HS) są mieszaniną rozmaitych cząsteczek i drobin o bliżej niesprecyzowanym składzie, powstającą z rozkładu materiału pochodzenia roślinnego, zwłaszcza ligniny, przez niewyspecjalizowane bakterie. HS często mają naturę związków fenolowych, ponieważ zachowują część grup fenolowych z ligniny. Ciągłe zagadką pozostaje, w jaki sposób bakterie tworzą HS z „chemicznej zupy” składającej się z białek, polifenoli i innych substancji pochodzących z roślin. Może na to się składać polimeryzacja fenoli (po utlenieniu do chinonów) z białkami [13]. Ponieważ tworzenie HS nierozzerwalnie wiąże się z utlenianiem bakteryjnym cząstek pochodzenia roślinnego (prowadzącym dla zdobycia energii), HS zawiera liczne grupy karboksylowe. Nawet przy obojętnym pH grupy karboksy-

lowe mają ładunek ujemny (R-COO⁻). Obecność wielu ujemnych ładunków zwiększa rozpuszczalność HS w wodzie. Poza tym HS łączą się z jonami naładowanymi dodatnio (np. żelazo Fe³⁺ czy mangan Mn⁴⁺). Metale po związaniu mogą zostać uwolnione do wody w procesie indukowanym przez światło, który jednocześnie redukuje (w sensie chemicznym) metal i utlenia materię organiczną (patrz s. 158-159).

Substancje humusowe, które czasami zabarwiają wodę, mogą stanowić w naturalnych wodach słodkich ok. 50% DOC (Ryc. IV-1).

Substancje humusowe znajdujące w środowisku wodnym różnią się od tych, które występują na lądzie. Wodne HS na ogół mają mniej grup fenolowych, słabsze zabarwienie i są łatwiej rozpuszczalne w wodzie niż HS glebowe [12, 15]. Czasami można je wykryć tylko dzięki ich silnej absorpcji promieniowania UV [16].

Korzystny wpływ substancji humusowych w akwariach przejawia się dwojako. Po pierwsze zatrzymują mikroelementy w roztworze, przez co są one dostępne dla roślin (bez HS wiele metali, zwłaszcza żelazo i mangan, zostałoby wytrąconych i rośliny nie mogłyby ich pobierać). Po drugie wiązanie i chelatowanie metali przez HS pomaga przeciwdziałać trującemu wpływowi metali ciężkich na ryby i rośliny (patrz s. 18-20). Oba te zjawiska występują zarówno w podłożu, jak i w wodzie.

2. Nityfikacja

Nityfikacja to dwustopniowy proces, w którym bakterie przekształcają toksyczny amoniak (patrz s. 23-24) w nietoksyczne azotany.⁴ W nowych akwariach bakterie nityfikacyjne stopniowo kolonizują filtry, gdzie znajdują mnóstwo odpowiedniego miejsca na osiedlenie się i dużo tlenu z przepływającej wody (w zbiornikach zawierających podłoże glebowe, w którym już występują takie bakterie, proces ten rozpoczyna się znacznie wcześniej – patrz s. 129).

Bakterie odpowiedzialne za nityfikację należą do wielu gatunków, ale można je podzielić na utlenia-

³ W dwóch badanych osadach powstawał także metan: 310 µg/g/dzień w osadzie z materią pochodzącą z roślin wodnych, a 15 µg/g/dzień w osadzie z opadłymi liśćmi dębu.

⁴ Na przykład Spotte [17] donosi, że N-NO₃ w stężeniach 400 mg/l nie wpływał na wzrost i śmiertelność bassa wielkogłowego i *Ictalurus punctatus*.

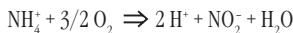
jące amoniak i azotyny.⁵ Chociaż bakterie nityfikacyjne odgrywają drugorzędną rolę w ekosystemach naturalnych, występują we wszystkich typach gleb, osadów i wód naturalnych.⁶

Bakterie nityfikacyjne są chemoautotrofami i różnią się od bakterii heterotroficznych tym, że zdobywają energię, utleniając nieorganiczne związki chemiczne (jony amonowe i azotynowe). Zdecydowana większość bakterii jest heterotroficzna (uzyskują energię z rozkładu związków organicznych, takich jak białka czy cukry).

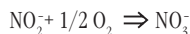
Ponieważ wymagania bakterii nityfikacyjnych bardzo się różnią od potrzeb zwykłych – to jest cudzożywnych – bakterii, naukowcy początkowo mieli trudności z ich hodowlą w laboratorium. Po prostu nie rosły one na pożywkach opartych na składnikach organicznych, które zostały opracowane dla innych bakterii; w rzeczywistości związki organiczne hamowały ich wzrost. Dopiero w 1890 roku rosyjski badacz Winogradski odkrył, że jeśli stosował prostą pożywkę nieorganiczną zawierającą głównie związki amonowe i węglan wapnia, bakterie te mogły rosnąć. Winogradski postawił trafną hipotezę, że bakterie wymagały źródła węgla nieorganicznego takiego jak wodorowęglany [21].

Bakterie nityfikacyjne przypominają rośliny w tym, że syntetyzują duże cząsteczki związków organicznych (białka, cukry itd.) z niewielkich molekuł związków nieorganicznych takich jak: dwutlenek węgla, żelazo, fosforany etc. Rośliny wykorzystują energię promieniowania świetlnego do prowadzenia tego procesu (fotosynteza), natomiast bakterie nityfikacyjne używają energii chemicznej (chemosynteza).

W pierwszym etapie nityfikacji jedna grupa bakterii przekształca jony amonowe do azotynowych:



W drugim inne bakterie przekształcają jony azotynowe do azotanowych:

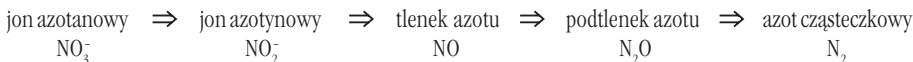


W wyniku całkowitej reakcji nityfikacji ($\text{NH}_4^+ + 2 \text{O}_2 = \text{NO}_3^- + \text{H}_2\text{O} + 2 \text{H}^+$) powstaje wykorzystany tlen. Rzeczywiście – bakterie nityfikacyjne wymagają więcej tlenu niż zwykłe bakterie – do 100 atomów tlenu na każdy związany atom węgla [21]. Organizmy te mogą w kapryśny sposób zakłócać proces oczyszczania ścieków; jeśli stężenie jonów amonowych osiąga wartość 2 mg/l, nityfikacja może pochłonąć tlen całkowicie [22].

Bakterie nityfikacyjne są bardzo użyteczne – o ile nie niezbędne – w zbiornikach bez roślin. W innych typach akwariów konkurują z roślinami o amoniak. Energia, jaką bakterie te uzyskują z utleniania jonów amonowych do azotanowych, oznacza jej utratę dla roślin (patrz s. 104).

3. Denityfikacja

Denityfikacja to proces powszechnie występujący w glebach i osadach, który przekształca azotany do azotu gazowego:



⁵ Niedawno naukowcy badali bakterie nityfikacyjne w filtrach akwariów słodkowodnych przy zastosowaniu bardzo czułych metod molekularnych (amplifikacja rybosomalnego DNA metodą PCR) dla określenia genetycznego zróżnicowania bakterii. Wcześniejsze badania, które wymagały hodowli bakterii, prawdopodobnie pomijały gatunki, które nie mogły rosnąć w warunkach laboratoryjnych. Wydaje się, że utlenianie azotynów, które większość naukowców przypisywała wcześniej gatunkom z rodzaju *Nitrobacter*, jest prowadzone przez dwa nieznanne gatunki zbliżone do *Nitrospira moscoviensis* i *Nitrospira marina* [18]. Wydaje się też, że utlenianie amoniaku dokonywane jest przez gatunek bliski *Nitrosomonas marina* [19]. Barwienie fluorescencyjne materiału genetycznego wyraźnie wykazało, że te gatunki *Nitrospira* i *Nitrosomonas* rosły obok siebie w filtrze akwariowym [19]. Naukowcy [18] postawili hipotezę, że „startery” z kulturami bakterii nityfikacyjnych sprzedawane akwarystom często są nieskuteczne, ponieważ zawierają nieodpowiednie gatunki.

⁶ Na przykład, gdy analizowano glebę uprawną metodami molekularnymi dla określenia materiału genetycznego bakterii utleniających amoniak, wykryto różne szczepy *Nitrosomonas* i *Nitrosospira* [20].

Denitryfikację może prowadzić wiele zwykłych bakterii (*Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Escherichia*, *Bacillus*, *Micrococcus* etc.) [25, 26]. Najpospolitsze są różne szczepy *Pseudomonas*, *Flavobacterium* i *Alcaligenes* [27].

Chociaż denitryfikacja zachodzi wszędzie, gdzie znajdują się azotany oraz materia organiczna i panują warunki beztlenowe, często jest ona powiązana z nityfikacją [23, 28]. Nityfikacja dostarcza azotynów, a poprzez wykorzystywanie tlenu sprawia, że środowisko staje się beztlenowe.

Procesy nityfikacji i denitryfikacji mogą prowadzić do znacznych strat azotu w ekosystemach wodnych. W stawach hodowlanych jeden z naukowców stwierdził, że tylko 43% azotu podawanego w karmie trafia do wody, gleby i ciała ryb; resztę, czyli 57%, uznaje się za straconą w wyniku denitryfikacji [29].

Uważa się, że jezioro Tanganika ma ograniczoną ilość azotu z powodu powiązanych procesów nityfikacji i denitryfikacji [30]. Inni naukowcy [31], badając obieg azotu w pewnej zatoce w stanie Rhode Island, doszli do wniosku, że denitryfikacja obniża mniej więcej o 50% ładunek azotu spływającego rzekami, łądem i ze ściekami.

Jeden z badaczy [32] dokładnie prześledził ubytki azotu w ściekach bogatych w biogeny. Dodano azotany i związki amonowe do 370-litrowych zbiorników, w których znajdowały się osady denne, ścieki oraz różne rośliny wodne. Po 27 dniach zmierzono zawartość azotu w wodzie, podłożu oraz roślinach (Tabela IV-3).

Mimo że rośliny pobierały część dodanego azotu, jego łącznej utraty nie można jednak było

Tabela IV-3. Odzyskanie azotu w systemie zbiorników po 27 dniach [32] (czyli „Gdzie się podział azot?”) Do wszystkich zbiorników dodano zarówno azotany, jak i związki amonowe (po 0,010 ppm N). W pierwszym zestawie czterech zbiorników znakowano azotem radioaktywnym (¹⁵N) tylko związki amonowe, a w drugim tylko azotany. Mierzac radioaktywność w wodzie, glebie i roślinach, badacz mógł ustalić losy dodanych związków. Doświadczenie przeprowadzono dwukrotnie. Przytaczam te wartości dla różnych zbiorników, które nie różniły się istotnie od zakresu odnotowanych wartości.

Badane źródło N	Zestaw zbiorników	N w wodzie [%]	N w osadzie [%]	N w roślinach wyższych (lub glonach) [%]	Utracony N [%]
NH ₄ ⁺	wąkrota	0-3	8-9	67	24
hiacynt wodny	0-3	8-9	41-44	47-54	
pałka i moczarka	0-3	8-9	41-44	47-54	
kontrola (glony)	21	21	5	47-54	
NO ₃ ⁻	wąkrota	0-0,1	6	13	81
hiacynt wodny	12	6	39	43-48	
pałka i moczarka	0-0,1	29-31	24	43-48	
kontrola (glony)	36	29-31	4	29	

wyjaśnić w ten sposób. Przykładowo: 24-54% z dodanych jonów amonowych (NH_4^+) zostało utracone w pierwszym zestawie zbiorników (monitorowano tam azot amonowy). Część ubytku azotu przypisano ucieczce gazowego amoniaku („ulatnianie się amoniaku”, podczas intensywnej fotosyntezy, kiedy pH w tych zbiornikach wzrastało ponad 8,0, znaczna część NH_4^+ została przekształcona w gazowy NH_3). W drugim zestawie, gdzie kontrolowano jony azotanowe (NO_3^-), ubytki azotu były jeszcze większe: od 29 do 81%. Naukowcy większość strat przypisali denitryfikacji, która prawdopodobnie zachodziła w osadzie.

Denitryfikacja może zmniejszyć stężenie azotu także w akwariach takich jak moje, gdzie znajduje się warstwa gleby. Przeprowadziłam kilka doświadczeń [33], aby sprawdzić, czy sama gleba (bez roślin) może usunąć azotany z wody. Użyłam w tym celu dwóch butelek z wodą wodociągową i podłożem z gleby lub piasku. Dodałam do wody azotany, a następnie mierzylam dwa razy w tygodniu przez 32 dni stężenia azotynów i azotanów. Okazało się, że nawet w butlach zawierających duże stężenie azotanów (250 mg/l), zaczęło się ono poważnie obniżać po tygodniu, a całkowicie zniknęły one w ciągu miesiąca. Podczas tego eksperymentu azotyny pojawiły się w wodzie trzeciego dnia, co wskazuje, że zachodziło także oddychanie azotanowe. W butlach bez podłoża glebowego lub zwierowego, w których można oczekiwać niskiej aktywności bakterii, stężenia azotanów utrzymały się na wysokim poziomie.

Moja hipoteza jest następująca: rozpuszczone w wodzie azotany dyfundują do warstwy gleby, gdzie w warunkach beztlenowych są szybko przetwarzane przez licznie tam występujące bakterie.

Zatem dla akwarystów denitryfikacja jest nieszkodliwym procesem bakteryjnym, który pomaga w przeciwdziałaniu akumulacji azotanów.

4. Akumulacja azotynów

Azotyny, które są dość trujące dla ryb (patrz s. 25-26), mogą gromadzić się w wyniku różnych procesów bakteryjnych. Najprawdopodobniej przyczynami ich akumulacji mogą być oddychanie azotanowe i niecałkowita nityfikacja. Jednakże dwa inne procesy prowadzone przez bakterie (dysymilacyjna produkcja amo-

Pytanie: Czy możesz zaproponować jakieś szybko rosnące, pobierające duże ilości azotanów rośliny wodne? W moich zbiornikach trzeba ograniczyć zawartość tych związków, a nie udaje mi się to przy cotygodniowych podmianach 25% wody.

Odpowiedź: Nie liczyłabym na same rośliny, by uniknąć gromadzenia się azotanów. Nawet hobbyści, u których rośliny rosną fenomenalnie, donoszą o ich akumulacji (patrz Pytania i Odpowiedzi na s. 105)

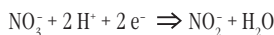
Skupiłabym się raczej na denitryfikacji – procesie prowadzonym przez bakterie. Zachodzi ona w glebie, zapchanych filtrach i w innych środowiskach beztlenowych, w których znajduje się materia organiczna.

Azotany w większości moich akwariów są niewykrywalne nawet po miesiącach intensywnego karmienia ryb i w zasadzie przy braku podmian wody. Nawet gdyby się gromadziły, prawdopodobnie nie byłoby to szkodliwe, ponieważ nie są toksyczne. Dla przykładu: niedawno odnotowałam niewyjaśnione wysokie stężenie azotanów (90 mg/l) w akwariu z tęczankami, ale ryby i rośliny mają się dobrze. Prawdziwymi problemami w akwariu są: niskie pH, obecność amoniaku, azotynów i siarkowodoru, a nie azotanów.

niaku (DAP) oraz denitryfikacja) także mogą dać w efekcie azotyny. Wszystkie te procesy mogą przyczynić się do akumulacji azotynów w akwariach.

a) Oddychanie azotanowe

Oddychanie azotanowe to pospolicie występujący proces prowadzony przez szereg zwykłych bakterii w warunkach beztlenowych. Reakcja, w której bakterie wykorzystują do oddychania jony azotanowe (NO_3^-), wygląda następująco:



W przeciwieństwie do denitryfikacji, podczas której azotyny są przekształcane w gazy (N_2O i N_2), w tym

procesie to właśnie one są produktem końcowym reakcji. Oddychanie azotanowe to główny proces anaerobowy prowadzony przez szereg bakterii. W szerokim przeglądzie bakterii żyjących w osadach i glebach [27] wykazano, że około 80% bakterii zdolnych do życia w warunkach beztlenowych mogło przeprowadzać ten proces (wytwarzały azotyny po wyizolowaniu i hodowli). Pozostałe 20% bakterii anaerobowych zajmuje się denitryfikacją (to znaczy produkowały N_2 zamiast azotynów, gdy je hodowano na pożywkach z azotanami).

b) Niepełna nitrifikacja

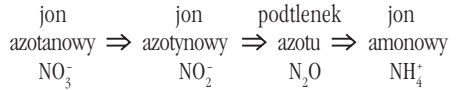
Czasami nitrifikacja nie zachodzi do końca, co w efekcie daje akumulację azotynów. Może się tak dziać, gdy stres środowiskowy (zakwaszenie, niska temperatura itd.) osłabia bardziej bakterie odpowiedzialne za utlenianie azotynów niż te, które zajmują się utlenianiem amoniaku. Azotyny gromadzą się, gdy drugi etap nitrifikacji ($NO_2^- \Rightarrow NO_3^-$) już nie przebiega azotynów powstających w pierwszym etapie ($NH_4^+ \Rightarrow NO_2^-$).

W czasie zakładania akwarium azotyny mogą się gromadzić w wodzie przez kilka tygodni. Dzieje się tak, ponieważ bakterie utleniające amoniak najpierw muszą same dobrze się osiedlić i wytworzyć wystarczająco dużo azotynów, aby pobudzić bakterie utleniające azotyny. Dlatego też w nowym i ultraczystym akwarium typowego początkującego hobbyisty nitrifikacja jest zazwyczaj niepełna przez pierwszych 6-8 tygodni [18, 23, 24]. Akwarysta może przyspieszyć ten proces, dodając spodnią warstwę podłoża z gleby albo zaszczepiając zbiornik żwirem lub materiałem z filtra z ustabilizowanego akwarium.

c) Niepełna DAP i niecałkowita denitryfikacja

Bakterie wykorzystują azotany w jeszcze inny sposób niż tylko w denitryfikacji i oddychaniu azotanowym. Liczne gatunki przekształcają jony azotanowe do amonowych w szlaku zwanym DAP [ang. *dis-simulatory ammonium production* = dysymilacyjna

produkcja amoniaku – *przypp. tl.*]. Szlak ten jest powiązany z fermentacją i wytwarzaniem energii. Zachodzi nawet wówczas, gdy jest wystarczająco wiele związków amonowych.⁷ Reakcja DAP wygląda następująco:



DAP w osadach, zarówno w wodach słodkich, jak i słonych, wytwarza spore ilości związków amonowych. Naukowcy śledzący losy azotanów odkryli, że DAP w ich przetwarzaniu często konkuruje z denitryfikacją [34, 35, 36]. Chociaż znaczna część jonów amonowych powstających w DAP z powrotem zostaje przekształcona do postaci azotanowej (na drodze nitrifikacji), wydaje się, że to główny proces bakterienny występujący w obiegu azotu.

DAP czasami nie zachodzi do końca; gdy się tak dzieje, może dojść do akumulacji azotynów. W pewnych warunkach jedna z bakterii glebowych (*Citrobacter* sp.) przekształciła 97% azotanów w azotyny [37] (w innych warunkach wytwarzała N_2O i NH_4^+).

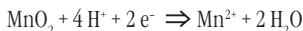
Podobnie ma się sprawa z denitryfikacją (patrz s. 60-62), która także nie zawsze zachodzi całkowicie. Niepełna denitryfikacja może prowadzić do tymczasowej akumulacji azotynów [25]. Nie można wykluczyć, że i w dobrych warunkach zarówno DAP, jak i denitryfikacja, mogą przyczynić się do wzrostu stężenia azotynów w akwariach.

5. Redukcja żelaza i manganu

Gdy zabraknie już tlenu i azotanów, wiele bakterii żyjących w podłożu może wykorzystywać żelazo (Fe) lub mangan (Mn) jako akceptory elektronów powstających w ich procesach metabolicznych. Ta „redukcja biologiczna” żelaza i manganu sprawia, że metale te przechodzą w formę rozpuszczalną, co pozwala korzeniom roślin na ich pobieranie. Dlatego też bakterie anaerobowe odgrywają tak ważną rolę w dostarczaniu roślinom Fe i Mn.

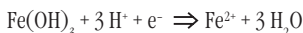
⁷ DAP różni się od „asymilacyjnej redukcji azotanów”, w której bakterie przekształcają jony azotanowe do amonowych, mogące zostać następnie przerobione na aminokwasy i białka [34]. Bakterie wykorzystują ten szlak, gdy nie mają dostępu do jonów amonowych.

Chociaż w glebach jest mniej manganu niż żelaza, utleniony mangan stanowi lepszy akceptor elektronów niż utlenione żelazo (patrz s. 120). Zatem gdy mangan jest dostępny, będzie on wykorzystywany w pierwszej kolejności. Następujące równanie opisuje reakcję redukcji manganu przez elektrony pochodzące z procesów metabolicznych bakterii:



W powyższej reakcji mangan przechodzi ze straconego dwutlenku (MnO_2) do formy rozpuszczalnej, kationowej (Mn^{2+}), którą już może dostać się do korzeni. Jak się wydaje, szereg bakterii i mikroskopijnych grzybów potrafi wykorzystywać MnO_2 jako akceptor elektronów [4].

Gdy dwutlenek manganu zostaje wyczerpany, bakterie wykorzystują żelazo trójwartościowe jako akceptor elektronów:

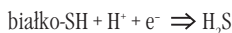


Podobnie jak w przypadku manganu, kiedy był wykorzystywany jego nierozpuszczalny dwutlenek, teraz wodorotlenek $\text{Fe}(\text{OH})_3$ jest przekształcany w formę rozpuszczalną, w jon Fe^{2+} . Korzenie roślin z łatwością pobierają żelazo w tej formie.

6. Wytwarzanie siarkowodoru

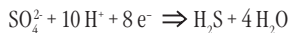
Siarkowodor (H_2S), który łatwo powstaje w podłożu w akwarium, jest cuchnącym i niezwykle trującym gazem (patrz s. 124). Wykazano, że dla małych ssaków jest bardziej toksyczny niż amoniak [38].

Istnieją dwa źródła H_2S . Pierwsze to zwykły rozkład białek przez bakterie heterotroficzne, podczas którego grupa SH zostaje przekształcona w siarkowodor:



Drugim źródłem jest redukcja siarczanów przez bakterie z rodzajów *Desulfovibrio* i *Desulfotomaculum*. Jon siarczanowy jest wykorzystywany jako akceptor

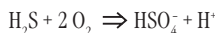
elektronów podczas beztlenowego rozkładu materii organicznej:



Bakterie redukujące siarczany wymagają warunków ściśle beztlenowych [39]⁸. Ich aktywność jest związana właśnie z takimi warunkami (potencjał redoks od -300 do -120 mV) [40] (wyjaśnienie pojęcia redoks – patrz s. 119). Połączenie obfitości siarczanów i materii organicznej sprzyja działalności tych bakterii, co skutkuje tworzeniem się H_2S .

7. Utlenianie siarkowodoru

W obecności tlenu różne bakterie szybko utleniają siarkowodor (H_2S) do siarczanów (reakcja ta jest analogiczna do nitryfikacji, w której bardzo toksyczne cząsteczki są przekształcane do nieszkodliwej soli). Ogólnie można zapisać tę reakcję jako:



Utlenianiem siarkowodoru zajmują się w warunkach tlenowych bakterie chemoautotroficzne, takie jak *Thiobacillus* czy *Beggiatoa*, lub w warunkach beztlenowych w obecności światła bakterie fotosyntetyzujące (*Chlorobacteriaceae* i *Thiorhodaceae*) [4, 41].

Bakterie chemoautotroficzne należą do najpożyteczniejszych w akwarium. Po pierwsze chronią korzenie roślin przed toksycznym wpływem siarkowodoru w podłożu (patrz s. 143).

Po drugie chronią ryby. H_2S powstający w podłożu lub każdym innym miejscu, gdzie gromadzą się szczątki organiczne i panują warunki beztlenowe, jest szybko utleniany przez odpowiednie bakterie. Zamieszkują one górną warstwę substratu i prawdopodobnie utleniają H_2S wytwarzany niżej.

8. Fermentacja i metanogeneza

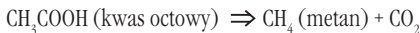
W warunkach ściśle beztlenowych materia organiczna jest tylko częściowo metabolizowana przez bakterie, w wyniku czego gromadzą się etanol i różne kwasy organiczne; natomiast w obecności tlenu bak-

⁸ Tlen jest trujący dla bakterii redukujących siarczany, ponieważ nie mają one cytochromów i katalaz – niezbędnych, by zapobiec gromadzeniu się zabójczego nadtlenu wodoru, który powstaje w obecności tlenu.

terie przetwarzają materię organiczną do dwutlenku węgla i wody. W osadach jeziornych duże ilości materii organicznej są rozkładane przez powiązane ze sobą procesy fermentacji i metanogenezy [4, 42]. Dzieje się tak, gdy brakuje nieorganicznych akceptorów elektronów (NO_3^- , Fe^{3+} , Mn^{4+} , SO_4^{2-}). Gdy zostają wyczerpane tlen i właśnie owe nieorganiczne akceptory elektronów, sama materia organiczna uwalnia i przyjmuje elektrony (część cząsteczki jest utleniana, podczas gdy inna ulega redukcji).

Fermentacja pociąga za sobą rozkład materii organicznej na szereg kwasów tłuszczowych, alkoholi, kwas octowy, gazowy wodór i dwutlenek węgla. Proces ten prowadzą bakterie fermentacyjne. Niektóre kwasy organiczne i alkohole mają umiarkowane działanie inhibujące na korzenie roślin (patrz s. 125).

Metanogenezę prowadzą bakterie z czterech głównych rodzajów: *Methanobacterium*, *Methanobacillus*, *Methanococcus* oraz *Methanosarcina*. Są one ściśle anaerobowe i wykorzystują kwas octowy, cząsteczkowy wodór i dwutlenek węgla powstające w fermentacji do wytwarzania metanu, CO_2 i wody. Dwie reakcje przez nie prowadzone można zapisać jako:



W akwariu metanogeneza i fermentacja zachodzą głównie w podłożu. Chociaż procesy te mogą wywierać pewien negatywny wpływ na wzrost roślin, ostatecznie prawdopodobnie działają korzystnie na ekosystem akwariu, przekształcając materię organiczną znajdującą się w substracie do postaci, w której rośliny mogą ją wykorzystać.

Metan z podłoża dyfunduje do wody albo wydostaje się z niego w postaci pęcherzyków gazu [43].

9. Utlenianie metanu

Bakterie utleniające metan, takie jak: *Methanomonas methanica*, *Pseudomonas methanica* czy gatunki z rodzaju *Thioploca*, są pospolite i mają szeroki areal występowania [44, 45]. Żyją w wierzchniej warstwie osadów dennych i szybko przekształcają metan uwalniany z pozbawionych tlenu osadów na

dwutlenek węgla. Przykładowo: w przybliżeniu 91% metanu powstającego w torfowych osadach Everglades na Florydzie było utleniane do CO_2 i wody [4]. Ogólna postać reakcji utleniania metanu:



Pytanie: W moim zbiorniku zastosowałem głębię do roślin doniczkowych jako spodnią warstwę podłoża i zauważyłem, że wydostaje się stamtąd mnóstwo pęcherzyków gazu. Czy to coś w rodzaju „gazów bagiennych”? Niepokoję się, czy nie zaszkodzi to rybom.

Odpowiedź: Nie martwiłabym się pęcherzykami gazów wydostającymi się z podłoża, mogą one zawierać: CO_2 , H_2 , N_2 , N_2O , CH_4 i H_2S . Niepokoiłabym się dopiero wówczas, gdyby korzenie roślin nie chciały rosnąć, rozpadały się i były czarne, a ryby straciłyby apetyt. Ulatywanie pęcherzyków z podłoża jest korzystne, ponieważ pozwala na wnikanie tam natlenionej wody, co sprawia, że nie panują tam warunki silnie beztlenowe. Świadczy o tym, że podłoże jest „żywe”.

Rośliny wodne niewątpliwie wspierają utlenianie metanu, zapewniając odpowiednie warunki życia tym bakteriom. Jeden z naukowców [46] wykazał, że u wynurzonych rośliny *Pontederia cordata* bakterie utleniające metan występowały nie tylko na powierzchni korzeni, ale także **w ich wnętrzu**.

W akwariach utlenianie metanu sprawia, że metan wytworzony w podłożu staje się dostępny dla roślin. Metan, którego rośliny nie mogą wykorzystywać, jest przekształcany do dwutlenku węgla, a ten może być przez nie przyswajany. Ponieważ często się zdarza, że węgiel jest czynnikiem ograniczającym dla roślin akwariowych, bakterie utleniające metan odgrywają użyteczną rolę.

B. Biofilmy

Często nasze wyobrażenia o bakteriach opierają się na badaniach laboratoryjnych, w których organizmy te żyją jako osobniki zawieszony w pożywkach. Jednakże te same bakterie w świecie przyrody zacho-

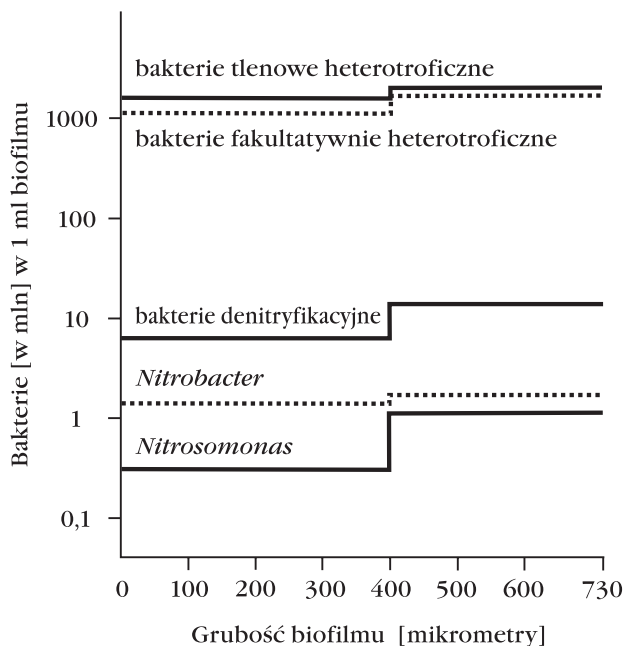
wują się w sposób znacznie odbiegający od życia w pracowniach naukowców. Dzieje się tak, ponieważ natura, gdzie powszechnie występuje zjawisko drapieżnictwa, a składników pokarmowych nie ma zbyt wiele, jest środowiskiem znacznie surowszym niż laboratorium. Aby przetrwać, bakterie musiały się nauczyć przytwierdzać do powierzchni, współżyć z innymi gatunkami i bronić się przed wrogami. Ten mikroświat, utrzymywany w spójności dzięki polisacharydowym „gumom” wytwarzanym przez bakterie, nazywamy biofilmem.

Występowanie biofilmów w naturze jest regulacją. Akwaryści dobrze znają zanieczyszczenia w filtrze czy kożuch na powierzchni wody, a to właśnie przykłady biofilmów. Oczywiście do najlepiej zbadanych należą te, które są źródłem problemów: (1) płytka nazębna; (2) przewlekłe infekcje płuc u chorych na mukowiscydozę; (3) korozja rur wodociagowych i kadłubów statków oraz (4) zanieczyszczenia szkieł kontaktowych, sztucznych serc i innych implantów mechanicznych [47, 51].

Przyczyną, dla której bakterie przylegają do powierzchni i tworzą biofilmy, jest fakt, że to właśnie na

powierzchniach gromadzą się substancje pokarmowe. Dzieje się tak, ponieważ wszystkie powierzchnie obdarzone są ładunkiem ujemnym i przyciągają kationy oraz rozpuszczoną materię organiczną (DOC). Z kolei gromadzenie się związków o ładunku dodatnim przyciąga substancje naładowane ujemnie. Tak więc często nawet w wodzie ubogiej w substancje pokarmowe do powierzchni będzie przywierało wystarczająco dużo związków organicznych, by mogły się tam namnażać bakterie [48]. Gdy związki takie zbierają się na powierzchni wody, przyciągają wykorzystujące bakterie, grzyby i pierwotniaki, które z czasem mogą rozwinąć się w biofilm, nierzaz nazywany neustonem [49].

Bakterie przyczepiają się do powierzchni dzięki różnorodnym strategiom. Niektóre są lepkie same z siebie; są niczym gumowe kule pokryte kleistymi kapsułkami lipopolisacharydowymi lub białkowymi wyrostkami. Inne syntetyzują lepkie substancje tylko wówczas, gdy znajdują się na powierzchni. Przykładowo: u *Pseudomonas aeruginosa* w ciągu 15 minut od trafienia na szklaną powierzchnię zostaje aktywowany gen *AlgC* odgrywający zasadniczą rolę w syntezie polisacharydów [50].



Ryc. IV-2. Populacje bakterii w biofilmie w ściekach.

Badacze rozcięli dojrzwały biofilm o grubości około 730 µm na trzy poziome warstwy (górną = 400 µm, środkową = 200 µm, dolną = 130 µm). Warstwy zhomogenizowano i określono liczbę bakterii tlenowych heterotroficznych, fakultatywnie heterotroficznych, nityfikacyjnych (*Nitrosomonas* sp., *Nitrobacter* sp.) oraz denitryfikacyjnych (fakultatywne heterotrofy to bakterie, które mogą prowadzić metabolizm w warunkach zarówno tlenowych, jak i beztlenowych). Za: Masuda [23], za zgodą Elsevier Science.

Gdy tylko bakterie osiadną na jakiejś powierzchni, dzielą się i w sposób ciągły produkują duże ilości polisacharydów, aby wytworzyć „dojrzały” biofilm. Może mieć on grubość od 600 do 900 μm [23], co stanowi kilkusetkrotność rozmiarów pojedynczego osobnika bakterii (komórka bakteryjna ma ok. 1 μm długości [51]). Biofilm nie jest bezpostaciową, galaretowatą masą polisacharydów i bakterii, jak kiedyś domniemano, ale jest zorganizowany i ustrukturalizowany. Nawet w jego najgęstszych rejonach występują kanały wodne. Woda wpływa przez struktury zbudowane ze skupisk bakterii, tym samym dostarczając mieszkającym pożywienia i unosząc ze sobą ich produkty przemiany materii [47].

Wewnętrzna struktura biofilmu nie jest dziełem przypadku. Naukowcy [53] wykazali, że aktywna komunikacja między bakteriami zapewnia właściwy rozwój biobłony (bakterie zmutowane, niezdolne do porozumiewania się, tworzyły biofilmy nieprawidłowe).

Biofilmy nie są także utworzone z jednolitej powłoki bakterii aerobowych na górze i leżących pod nią jednolitych warstw bakterii anaerobowych. Oba typy tych organizmów żyją obok siebie na całym przekroju biofilmu, a to za sprawą wspomnianych kanałów wodnych. Dlatego naukowcy [23] byli zaskoczeni, gdy odkryli, że denitryfikacja zachodzi w rzekomo aerobowym filtrze stosowanym do oczyszczania ścieków (przypominał on filtr zraszany). W warstwach zarówno wierzchnich, jak i spodnich, odnaleźli bakterie heterotroficzne tlenowe i beztlenowe, nityfikacyjne oraz denitryfikacyjne w zbliżonych proporcjach (Ryc. IV-2). Dodatkowe doświadczenia wykazały, że aktywność metaboliczna bakterii nityfikacyjnych (tlenowych) i denitryfikacyjnych (beztlenowych) była taka sama w warstwie górnej i dolnej.

Bakterie nityfikacyjne i inne prawdopodobnie wypracowały ścisły i wzajemnie korzystny układ w biofilmach filtrów biologicznych. Gdy zwykle heterotrofy uwalniają amoniak w czasie rozkładu związków organicznych, bakterie nityfikacyjne mogą go wykorzystywać jako własne źródło energii. Z kolei bakterie denitryfikacyjne wykorzystujące kwas prawdopodobnie chronią nityfikacyjne, które są szczególnie wrażliwe na zakwaszenie.

Pytanie: Mam nowy problem: kożuch na powierzchni wody. Woda w zbiorniku jest teraz całkowicie pokryta pianistą warstwą, na tyle grubą, że pęcherzyki tlenu wytwarzanego przez rośliny zostają pod nią uwięzione. Tuż pod powierzchnią widać ruch wody, ale samo lustro jest unieruchomione przez tę błonę. Co to jest? Co mogę z tym zrobić?

Odpowiedź: Ten kożuch, będący zespołem bakterii, glonów i pierwotniaków, jest zasadniczo nieszkodliwy. Jeśli rzeczywiście chcesz się go pozbyć, powinieneś po prostu zwiększyć ruch powierzchni wody. Ja robię to, umieszczając na jakiś czas wylot filtra ponad lustrem wody.

Bakterie żyjące w biofilmach odnoszą wiele korzyści w porównaniu z tymi, które są zawieszono swobodnie w toni wodnej. Po pierwsze dzielą się informacją genetyczną i metabolitami. Przykładowo: w biofilmach płytki nazębnej bakterie z rodzaju *Veillonella* wykorzystują mleczany wytwarzane przez *Streptococcus* [52]. Po drugie są chronione przed drapieżnikami i szkodliwymi związkami chemicznymi. W środowisku wodnym biofilmy chronią je przed pierwotniakami, różnymi drapieżnymi glonami (bruzdnice) i bakteriami (bakterie śluzowe).

W przypadku chorób u ludzi biofilmy chronią bakterie przed antybiotykami i innymi związkami chemicznymi, przeciwciałami, komórkami systemu immunologicznego itd. Na przykład wolno żyjące komórki *Pseudomonas aeruginosa* zabił antybiotyk tobramycyna w stężeniu 0,050 mg/ml, podczas gdy stężenie dwudziestokrotnie wyższe (1,0 mg/ml) nie było w stanie tego zrobić, gdy bakterie stanowiły część biofilmu [51]. A gdy nityfikujący *Nitrosomonas europaea* wystawiono na działanie inhibitora - nitrapirynu w stężeniu 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, nie miało to wpływu na wzrost bakterii w kulturach w biofilmie, podczas gdy w kulturach komórek zawieszonych w pożywce ich liczebność zmniejszyła się o 82% [54]. Na podstawie tych wyników badacze wyjaśniają, dlaczego nitrapiryna nie jest tak skuteczna w blokowaniu nityfika-

cji w warunkach rolniczych, jak można by wnioskować na podstawie badań laboratoryjnych. Chociaż nitrapiryna może być silnym inhibitorem wzrostu *N. europaea* w przypadku komórek zawieszonych w laboratoryjnej pożywce, nie będzie tak skuteczna w warunkach polowych, w których bakterie będą osiedlać się na cząstkach gleby i żyć wewnątrz ochronnego biofilmu.

Pytanie: Dlaczego piszesz o biofilmach? Nie wydaje się, żeby miało to coś wspólnego z akwarystyką.

Odpowiedź: Temat biofilmów pozwala nam zajrzeć w naturalny i rzeczywisty świat bakterii. Biofilmy są istotne dla akwarystów z dwóch powodów.

Po pierwsze można wyjaśnić, dlaczego denitryfikacja w zwykłych filtrach akwariowych łatwo zachodzi razem z nityfikacją. Nie ma potrzeby, by akwaryści kupowali specjalne denitryfikatory, by móc prowadzić denitryfikację.

Po drugie biofilmy zapobiegają zmętnieniu, gdy stosuje się w akwarium zwykłą glebę ogrodową. Ponieważ bakterie w glebie przędą własne sieci z polisacharydów, spajają w ten sposób cząstki gleby, co sprawia, że nawet najmniejsze drobiny nie dostają się do wody i nie wywołują jej zmaćnienia (patrz s. 125-126).

C. Procesy bakteryjne w akwarium

Bakterie wpływają na obieg składników pokarmowych i wytwarzanie (a także niszczenie) związków o charakterze inhibującym, takich jak: amoniak, azotyn, kwas octowy czy siarkowodor. Fakt, iż trudno nam dostrzec bakterie, nie może umniejszać ich roli w akwarium.

Prawdopodobnie najważniejszym procesem bakteryjnym w akwarium z roślinami jest rozkład materii organicznej. Ten stopniowy rozkład prowadzony przez bakterie heterotroficzne, w wyniku którego powstają składniki pokarmowe dla roślin, jest procesem naturalnym i ciągłym. Wydaje się, że

w moich akwariach działa on dobrze. Chociaż dla uzyskania dobrego wzrostu roślin można je nawozić dwutlenkiem węgla i innymi związkami chemicznymi, kontrolowany rozkład przez bakterie przekształca nadmiar pokarmu dla ryb i różne szczątki organiczne w składniki pokarmowe, które mogą być wykorzystane przez rośliny. Gdyby materia organiczna nie była ponownie przetwarzana przez bakterie heterotroficzne, po prostu gromadziłaby się i pozostawała niedostępna dla roślin.

W akwariach z glebą rozkład bakteryjny materii organicznej w niej zawartej może dostarczyć roślinom początkowo dużych ilości CO₂. Obliczyłam, że „przeciętne podłoże glebowe” zapewni roślinom wystarczająco dużo dwutlenku węgla mniej więcej przez 11 miesięcy (patrz s. 79).

W Tabeli IV-4 znajduje się lista zachodzących w akwarium głównych procesów bakteryjnych opisanych w tym rozdziale.

Pytanie: Jak czysto jest w Twoich zbiornikach z roślinami?

Odpowiedź: Akwaria, w których rośliny rosną dobrze, nie wymagają wiele pracy przy czyszczeniu. Zazwyczaj podmieniam 50% wody mniej więcej raz na sześć miesięcy. Nie odmulam podłoża. Czyszczę filtry i głowice tylko wówczas, gdy przepływ wody jest już zbyt słaby.

Mniej więcej raz na miesiąc przycinam liście żabienic i zwartek i usuwam nadmiar roślin pływających. Uważam, że takie przereźdzenie ma zasadnicze znaczenie w związku z tym, że pozwala roślinom na wzrost. Jeśli z powodu przegęszczenia rośliny nie będą mogły rosnąć, nie będą oczyszczają wody dla ryb, a obumierając, będą ją nawet zanieczyszczać.

Zarówno bakterie, jak i ryby, zużywają tlen. W czasie tlenowego rozkładu materii organicznej bakterie potrzebują jednej cząsteczki tlenu (O₂) na każdą uwalnaną cząsteczkę CO₂. Dlatego zużywanie tlenu może rodzić problemy w głębokich akwariach lub oczkach, gdzie nie ma cyrkulacji wody, a materii organicznej jest dużo (opadłe liście, mul itd.). Poważniejsze są nagłe

Tabela IV-4. Wpływ procesów bakteryjnych na ekosystem akwarium.

Proces	Gdzie zachodzi	Korzyści	Wady
nitryfikacja	powierzchnia filtra, podłoża, roślin itd.	unieszkodliwia amoniak	konkuruje z roślinami o związki amonowe, może wywoływać spadki pH, gromadzenie się azotanów i azotynów
utlenianie H ₂ S	powierzchnia podłoża	unieszkodliwia H ₂ S	
utlenianie metanu	powierzchnia podłoża	przekształca metan do CO ₂ , który mogą wykorzystać rośliny	
rozkład tlenowy	powierzchnia filtra, podłoża, roślin itd.	przekształca materię organiczną w substancje pokarmowe dla roślin	
rozkład beztlenowy	podłoże i filtry	przekształca materię organiczną w substancje pokarmowe dla roślin i substancje humusowe	
*oddychanie azotanowe	podłoże i filtry		powstają azotyny
*denitryfikacja	filtr i podłoże	usuwa azotany	
*redukcja manganu	beztlenowe podłoże glebowe	dostarcza roślinom manganu	
*redukcja żelaza	beztlenowe podłoże glebowe	dostarcza roślinom żelaza	
*redukcja siarczanów	podłoże całkowicie beztlenowe		powstaje toksyczny H ₂ S
*fermentacja	podłoże całkowicie beztlenowe	dostarcza roślinom CO ₂	powstaje kwas octowy i inne związki organiczne o działaniu inhibującym
*metanogeneza	podłoże całkowicie beztlenowe	usuwa kwas octowy	

* Procesy, które zachodzą razem z rozkładem beztlenowym prowadzonym przez bakterie heterotroficzne.

problemy wywołane dużymi napływami wysoce nie-trwałej (a więc łatwo przyswajalnej) materii organicznej. W akwariach nagła śmierć i rozkład dużej ilości bakterii spowodowana wadliwym działaniem filtra może zabić ryby.

Silne zsenienie ryb wczesnym rankiem, kiedy stężenie tlenu jest najniższe, jest dla mnie sygnałem, że w moich zbiornikach są niewystarczające ilości tego gazu. Chociaż najłatwiejszą metodą zwiększenia natlenienia jest zamontowanie kamienia napowietrzającego, ja użyłabym napowietrzania w najmniejszej, niezbędnej ilości. Nadmierne może usunąć cały dwutlenek węgla z wody i pozbawić tym samym rośliny najważniejszego składnika pokarmowego. Z początku musiałam zmniejszyć liczbę ryb w każdym akwarium, aby ilość tlenu była odpowiednia do sposobu, w jaki karmię ryby i zajmuję się zbiornikami. Obecnie rzadko trzeba coś tam regulować. Wydaje się, że akwaria są ustabilizowane, dzięki czemu zapotrzebowanie na tlen ze strony ryb i bakterii heterotroficznych jest dopasowane do ilości tlenu, jakich dostarcza fotosynteza roślin oraz mieszanie się wody z powietrzem.

Pytanie: Staram się kontrolować stężenie składników pokarmowych w akwarium, oszczędnie karmiąc ryby. Chciałbym dawać im więcej pokarmu, ale nie chcę zanieczyszczać wody.

Odpowiedź: W zbiornikach, gdzie rośliny rosną dobrze, nie musisz wybierać między obfitym karmieniem ryb i utrzymywaniem czystej wody.

Wszystkie moje ryby są karmione dwa razy dziennie. Uważam, że nadmiar pokarmu i drobne resztki np. z jego rozmrażania czy rozdrabniania niepobrane przez ryby są bogatym źródłem składników pokarmowych dla roślin dzięki rozkładowi prowadzonemu przez bakterie heterotroficzne. Dlatego gdy karmię ryby, na ogół wrzucam nieco więcej pożywienia – z myślą o roślinach. A resztki pokarmu i tak ciągle znikają do następnego dnia (choć bakterii nie widać, wiem, że tam są).

BIBLIOGRAFIA

1. Mills AL & Powelson DK. 1996. Bacterial interactions with surfaces in soils. W: Fletcher M (red.), Bacterial Adhesion, John Wiley (NY), s. 25-57.
2. Wetzel RG. 1983. Limnology (wyd. II). Saunders College Publishing (Philadelphia), s. 591.
3. Mann KH. 1972. Macrophyte production and detritus food chains in coastal waters. Mem. Ist. Ital. Idrobiol., 29 (Sup.): 353-383.
4. Westermann P. 1993. Wetland and swamp microbiology. W: Ford TE (red.), Aquatic Microbiology. An Ecological Approach, s. 205-238.
5. Wetzel 1983, s. 667-668.
6. Wetzel 1983, s. 743.
7. Watson EV. 1981. British Mosses and Liverworts (wyd. III). Cambridge University Press (Cambridge), s. 132.
8. Rheinheimer G. 1985. Aquatic Microbiology (wyd. III). John Wiley (NY), s. 147.
9. Wetzel 1983, s. 610.
10. Cole JJ, Caraco NF, Kling GW & Kratz TK. 1994. Carbon dioxide supersaturation in the surface waters of lakes. Science 265: 1568-1570.
11. Barko JW & Smart RM. 1983. Effects of organic matter additions to sediment on the growth of aquatic plants. J. Ecol. 71: 161-175.
12. Thurman EM. 1985. Organic Geochemistry of Natural Waters. Martinus Nijhoff (Boston).
13. Haslam E. 1989. Plant Polyphenols. Vegetable Tannins Revisited. Cambridge Univ. Press (NY), s. 191.
14. Graneli W, Lindell M & Tranvik L. 1996. Photo-oxidative production of dissolved inorganic carbon in lakes of different humic content. Limnol. Oceanogr. 41: 698-706.
15. Gundersen DT, Bustaman S, Seim WK & Curtis LR. 1994. pH, hardness, and humic acid influence aluminum toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in weakly alkaline waters. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 51: 1345-1355.
16. Graneli W, Lindell M & Tranvik L. 1996. Photo-oxidative production of dissolved inorganic carbon in lakes of different humic content. Limnol. Oceanogr. 41: 698-706.

17. Spotte S. 1979. Fish and Invertebrate Culture. Wiley-Interscience Publications (NY), s. 117.
18. Hovanec TA, Taylor LT, Blakis A & DeLong EF. 1998. *Nitrospira*-like bacteria associated with nitrite oxidation in freshwater aquaria. Appl. Environ. Microbiol. 64: 258-264.
19. Burrell PC, Phalen CM & Hovanec TA. 2001. Identification of bacteria responsible for ammonia oxidation in freshwater aquaria. Appl. Environ. Microbiol. 67: 5791-5800.
20. Stephen JR, Kowalchuk GA, Bruns MV, McCaig AE, Phillips CJ, Embley TM & Prosser JL. 1998. Analysis of β -subgroup proteobacterial ammonia oxidizer populations in soil by denaturing gradient gel electrophoresis analysis and hierarchical phylogenetic probing. Appl. Environ. Microbiol. 64: 2958-2965.
21. Thimann KV. 1963. The Life of Bacteria (wyd. II). The MacMillan Co. (NY), s. 399-411.
22. O'Connor JT. 1971. Iron and manganese. W: The American Water Works Assoc., Inc (red.), Water Quality and Treatment (wyd. III). McGraw-Hill Book Co (NY), s. 378-396.
23. Masuda S, Watanabe Y & Ishiguro M. 1991. Biofilm properties and simultaneous nitrification and denitrification in aerobic rotating biological contactors. Water Sci. Technol. 23: 1355-1363.
24. Spotte 1979, s. 10.
25. Payne WJ. 1973. Reduction of nitrogenous oxides by microorganisms. Bacteriol. Rev. 37: 409-452.
26. Wetzel 1983, s. 237.
27. Gamble TN, Betlach MR & Tiedje JM. 1977. Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils. Appl. Environ. Microbiol. 33: 929-939.
28. Kemp WM, Sampou P, Caffrey J & Mayer M. 1990. Ammonium recycling versus denitrification in Chesapeake Bay sediments. Limnol. Oceanogr. 35: 1545-1563.
29. Boyd CE. 1995. Bottom Soils, Sediment, and Pond Aquaculture. Chapman & Hall (NY), s. 141.
30. Edmond JM, Stallard RF, Craig H, Craig V, Weiss RF & Coulter GW. 1993. Nutrient chemistry of the water column of Lake Tanganyika. Limnol. Oceanogr. 38: 725-738.
31. Seitzinger SP, Nixon SW & Pilson MEQ. 1984. Denitrification and nitrous oxide production in a coastal marine ecosystem. Limnol. Oceanogr. 29: 73-83.
32. Reddy KR. 1983. Fate of nitrogen and phosphorus in a waste-water retention reservoir containing aquatic macrophytes. J. Environ. Qual. 12: 137-141.
33. Walstad D. 2001. Nitrates in the planted aquarium. The Aquatic Gardener 14(1).
34. Sorensen J. 1978. Capacity for denitrification and reduction of nitrate to ammonia in a coastal marine sediment. Appl. Environ. Microbiol. 35: 301-305.
35. Gilbert F, Souchu P, Bianchi M & Bonin P. 1997. Influence of shellfish farming activities on nitrification, nitrate reduction to ammonium and denitrification at the water-sediment interface of the Thau lagoon, France. Mar. Ecol. Prog. Ser. 151: 143-153.
36. Jones JG & Simon BM. 1981. Differences in microbial decomposition processes in profundal and littoral lake sediments, with particular reference to the nitrogen cycle. J. Gen. Microbiol. 123: 297-312.
37. Smith MS. 1982. Dissimilatory reduction of NO_2^- to NH_4^+ and N_2O by a soil *Citrobacter* sp. Appl. Environ. Microbiol. 43: 854-860.
38. Bowen HJM. 1979. Environmental Chemistry of the Elements. Academic Press (NY), s. 149.
39. Labrenz M, Druschel GK, Thomsen-Ebert T, Gilbert B, Welch SA, Kemmer KM, Logan GA, Summons RE, De Stasio G, Bond PL, Lai B, Kelly SD & Banfield JF. 2000. Formation of sphalerite (ZnS) deposits in natural biofilms of sulfate-reducing bacteria. Science 290: 1744-1747.
40. Connell WE & Patrick WH. 1968. Sulfate reduction in soil: Effects of redox potential and pH. Science 159: 86-87.
41. Wetzel 1983, s. 324-325.
42. Wetzel 1983, s. 599-600.
43. Thurman 1985, s. 223.
44. Wetzel 1983, s. 602
45. Rheinheimer 1985, s. 117.
46. Calhoun A & King GM. 1997. Regulation of root-associated methanotrophy by oxygen availability in the rhizosphere of two aquatic macrophytes. Appl. Environ. Microbiol. 63: 3051-3058.

47. Potera C. 1996. Biofilms invade microbiology. *Science* 273: 1795-1797.
48. Marshall KC. 1996. Adhesion as a strategy for access to nutrients. W: Fletcher M (red.), *Bacterial Adhesion*, John Wiley (NY), s. 59-87.
49. Wetzal 1983, s. 139.
50. Fletcher M. 1996. Bacterial attachment in aquatic environments: a diversity of surfaces and adhesion strategies. W: Fletcher M (red.), *Bacterial Adhesion*, John Wiley (NY), s. 1-24.
51. Costerton JW, Cheng KJ, Geesey GG, Ladd TI, Nickel JC, Dasgupta M & Marrie TJ. 1987. Bacterial biofilms in nature and disease. *Annu. Rev. Microbiol.* 41: 435-464.
52. London J & Kolenbrander PE. 1996. Coaggregation: Enhancing colonization in a fluctuating environment. W: Fletcher M (red.), *Bacterial Adhesion*, John Wiley (NY), s. 249-279.
53. Davies DG, Parsek MR, Pearson JP, Iglewski BH, Costerton JW & Greenberg EP. 1998. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science* 280: 295-298.
54. Powell SJ & Prosser JI. 1992. Inhibition of biofilm populations of *Nitrosomonas europaea*. *Microb. Ecol.* 24: 43-50.