

# Mechanizmy i kontrola mikrobiologicznych procesów degradacji i utylizacji materii organicznej w ekosystemach jeziornych o różnym stopniu eutrofizacji wód

Ryszard J. Chróst<sup>1</sup>  
Adam J. Gajewski<sup>1</sup>  
Elżbieta Lalke<sup>2</sup>

## 1. Wprowadzenie

**M**ateria organiczna w wodach naturalnych stanowi mozaikę różnorodnych związków chemicznych występujących w stanie rozpuszczonym (DOM) i upostaciowanym (POM). DOM jest dominującą (> 90%) frakcją materii organicznej w ekosystemach wodnych (1). Polimery organiczne zbudowane z mono- i oligomerycznych podjednostek połączonych wiązaniami glikozydowymi, peptydowymi i estrowymi stanowią przeważającą frakcję materii organicznej (> 95% DOM, > 98% POM) w jeziorach (2). Materia ta, a w szczególności jej frakcja DOM, stanowi bazę substratową i energetyczną dla bakterii heterotroficznych w ekosystemach wodnych, która decyduje o tempie ich aktywności metabolicznej i wielkości wytworzonej biomasy.

Bakterie mogą bezpośrednio transportować do wnętrza komórki i asymilować wyłącznie substraty organiczne o niskiej masie cząsteczkowej. Dlatego też szereg biopolimerów organicznych o dużej masie cząsteczkowej, pomimo że są one bogatym źródłem energii i biogenów w wodach, nie stanowi bezpośrednio przyswajalnych substratów dla bakterii (3). Pula bezpośrednio przyswajalnych, niskocząsteczkowych substratów organicznych w wodach jest bardzo mała (waha się od kilkudziesięciu pikomoli do kilkudziesięciu nanomoli) i jest niewystarczająca na pełne pokrycie potrzeb metabolizmu bakterii wodnych co okresowo doprowadza do limitacji ich wzrostu i produkcji wtórnej w jeziorach (1,4). Dlatego też bakterie heterotroficzne syntetyzują ektoenzymy, które umożliwiają im wykorzystywanie pierwotnie niedostępnych biopolimerów organicznych w wodach i osadach dennych (5,6). Ektoenzymy są hydrolazami reagującymi z substratami polimerycznymi zwykle w pozycji egzozszczepiając od nich monomeryczne, niskocząsteczkowe produkty reakcji,

<sup>1</sup> Zakład Ekologii Mikroorganizmów, Uniwersytet Warszawski, Warszawa.

<sup>2</sup> Zakład Mikrobiologii Wód i Biotechnologii, Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika w Toruniu.



które są bezpośrednio transportowane do komórki i wykorzystywane w metabolizmie bakterii (7,8). Sprzężenie procesów enzymatycznej degradacji związków organicznych oraz asymilacji produktów hydrolizy przez mikroorganizmy doprowadza do zwiększenia tempa produkcji wtórnej i biomasy bakterii w jeziorach (4,6,9). Procesy degradacji i utylizacji materii organicznej przez bakterie heterotroficzne związane są jednocześnie z bardzo wydajnym procesem respiracji, w wyniku którego, znaczne ilości asymilowanych związków organicznych (40 – 80%) zostają całkowicie lub częściowo zmineralizowane. Dlatego też aktywność metaboliczna oraz tempo produkcji wodnych bakterii heterotroficznych decydują o szybkości samooczyszczania się wód i wpływają na zachowanie homeostazy i stabilności ekologicznej ekosystemów wodnych (10,11). Procesy te mają szczególne znaczenie w silnie zeutrofizowanych zbiornikach wodnych.

Celem badań było określenie mechanizmów kontrolujących tempo mikrobiologicznych przemian i degradacji biopolimerów organicznych oraz porównanie *in situ* aktywności enzymatycznej bakterii wraz z ich tempem produkcji wtórnej w okresie letniej stratyfikacji jezior o różnym stopniu zanieczyszczenia wód.

## 2. Materiały i metodyka

Badania przeprowadzono w okresie stagnacji termiczno-tlenowej wód jeziornych (czerwiec-wrzesień 1993 r.). Próbki wód powierzchniowych (0,5 m) pobrano z pięciu jezior (Ryńskie, Tałty, Mikołajskie, Bełdany, Śniardwy) położonych w ciągu Wielkich Jezior Mazurskich. Wszystkie badane jeziora są zbiornikami o różnym stopniu eutrofizacji wód. Temperaturę i zawartość tlenu rozpuszczonego w jeziorach mierzono za pomocą sondy termiczno-tlenowej Yellow Spring Instruments model 57 (USA).

Produkcję pierwotną fitoplanktonu i pozakomórkowe wydzielanie produktów fotosyntezy oznaczano wg metody  $^{14}\text{C}$  (100 ml próbki + 10  $\mu\text{Ci}$   $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ , OPiDI Świerk) inkubując próbki *in situ* przez 4 – 6 godz. (12). Zawartość chlorofilu-*a*, w próbkach fitoplanktonu odsączonych na filtrze szklanym Whatman GF/F, oznaczano w ekstraktach etanolowych (13).

Produkcję wtórną bakterii w próbkach wody oznaczano mierząc tempo inkorporacji [ $^3\text{H}$ -metyl]tymidyny ([ $^3\text{H}$ ]TdR) do DNA bakteryjnego (14). Próbki wody z radioaktywną tymidyną (New England Nuclear, akt. spec. 82,3 Ci/mmol) w stężeniu finalnym 18,225 nmol/L inkubowano w temperaturze 18 – 20°C przez 30 min. Ilość [ $^3\text{H}$ ]TdR w próbkach sprecypitowanych 10% zimnym kwasem trójchlorooctowym (0 – 2°C) przeliczano na tempo dzielących się komórek bakterii stosując przelicznik  $1,25 \times 10^{18}$  komórek/mol (4,14). Produkcję bakterii wyrażono jako ilość węgla organicznego wbudowanego w biomase powstałych komórek bakterii stosując przelicznik 20 fg C/komórka bakterii (15).

Liczbę bakterii w wodzie określono za pomocą metody bezpośredniego li-



czenia komórek w mikroskopie epifluorescencyjnym w preparatach wybarwionych oranżem akrydynowym (16) lub DAPI (17).

Liczbę bakteriofagów (zawierających DNA) w wodzie z Jeziora Mikołajskiego określono w preparatach analizowanych w mikroskopie epifluorescencyjnym, w których DNA fagowe wybarwiono barwnikiem fluorescencyjnym DAPI (18). Próbkę wody zostały wstępnie przesączone przez poliwęglanowy filtr membranowy 0,2  $\mu\text{m}$  (Nuclepore) i poddane trawieniu DNazą (w celu zhydrolizowania wolnego, nie związanego z fagami DNA). Zdjęcia bakteriofagów wykonano w elektronowym mikroskopie transmisyjnym (Philips, powiększenie 100 000x) w preparatach barwionych negatywnie za pomocą octanu uranylu (19).

Aktywność enzymów:  $\beta$ -glukozydazy, aminopeptydazy i lipazy w wodzie badanych jezior oznaczano metodą spektrofotometryczną (20,21,22) stosując bezbarwne substraty sztuczne, których enzymatyczna hydroliza wyzwała barwny produkt reakcji (7). Próbkę wody z substratami w stężeniu ostatecznym 250  $\mu\text{mol/L}$  inkubowano przez 24 – 48 godz. w temperaturze *in situ* 18 – 20°C.

Koncentrację rozpuszczonego węgla organicznego (DOC), w wodzie przefiltrowanej przez filtr poliwęglanowy 0,2  $\mu\text{m}$  (Nuclepore), analizowano spalając próbki (250 – 500  $\mu\text{l}$ ) w temperaturze 850°C i oznaczając w podczerwieni za pomocą analizatora węgla Tocomaster model 915B (Beckman Instruments, USA) ilość  $\text{CO}_2$  powstałego po zmineralizowaniu związków organicznych.

Radioaktywność próbek  $^3\text{H}$  i  $^{14}\text{C}$  mierzono w liczniku scyntylicyjnym Beckman LS 600-IC stosując scyntylator ciekły Filter-Count (Packard Lab., USA).

### 3. Omówienie wyników

Badane jeziora różniły się jakością i stopniem eutrofizacji wód oraz ich produktywnością (tab. 1). Najmniej zeutrofizowanym zbiornikiem było jezioro Śniardwy, które charakteryzowało się największą przezroczystością wody (1,8 – 2,6 m). Woda z tego jeziora także zawierała najmniejsze stężenie (8,4 – 8,8 mg C/L) rozpuszczonego węgla organicznego (DOC). Pozostałe jeziora charakteryzowały się podobną przezroczystością wód w zakresie 0,9 – 1,1 m (w czerwcu) i 1,0 – 1,3 m (w sierpniu). Zawartość DOC w wodzie (tab. 1) w czerwcu i sierpniu wynosiła odpowiednio: 9,8 i 9,6 mg C/L (Beldany), 12,6 i 11,2 mg C/L (Mikołajskie), 11,6 i 12,2 mg C/L (Tałty) oraz 12,2 i 12,4 mg C/L (Ryńskie).

Badane jeziora, zarówno w czerwcu jak i w sierpniu, różniły się wyraźnie tempem produkcji pierwotnej fitoplanktonu i zawartością chlorofilu-*a* (rys. 1). Produkcja pierwotna fitoplanktonu oraz chlorofil-*a*, które są dobrym wskaźnikiem stopnia eutrofizacji jezior (23), pozwoliły na uszeregowanie badanych zbiorników od najmniej zeutrofizowanych (Śniardwy i Beldany) do najbardziej eutroficznych (Tałty i Ryńskie). Produkcja pierwotna fitoplanktonu w bada-



nych jeziorach wahała się w czerwcu w granicach od 0,31 (Śniardwy) do 2,33 (Ryńskie) mg C/L/dzień i wzrosła w sierpniu do 0,40 (Śniardwy) i 2,81 (Tały) mg C/L/dzień. Najniższą zawartość chlorofilu-*a* w wodzie stwierdzono w jeziorze Śniardwy (7,4 µg/L w czerwcu i 15,8 µg/L w sierpniu). Najwyższe koncentracje chlorofilu-*a* w badanych jeziorach (rys. 1) stwierdzono w czerwcu w Mikołajskim (38,8 µg/L) i Ryńskim (35,8 µg/L), a w sierpniu w jeziorze Tały i Jeziorze Ryńskim (odpowiednio 39,3 i 39,6 µg/L). Fitoplankton we wszystkich badanych jeziorach w sierpniu (3,81 – 7,96 µg C/µg chlorofilu-*a*/godz.) charakteryzował się znacznie wyższą aktywnością fotosyntetyczną aniżeli w czerwcu (3,47 – 5,43 µg C/µg chlorofilu-*a*/godz.). Najwyższą aktywność fotosyntetyczną fitoplanktonu w produkcji materii organicznej stwierdzono w jeziorach najbardziej zeutrofizowanych Tały i Ryńskim.

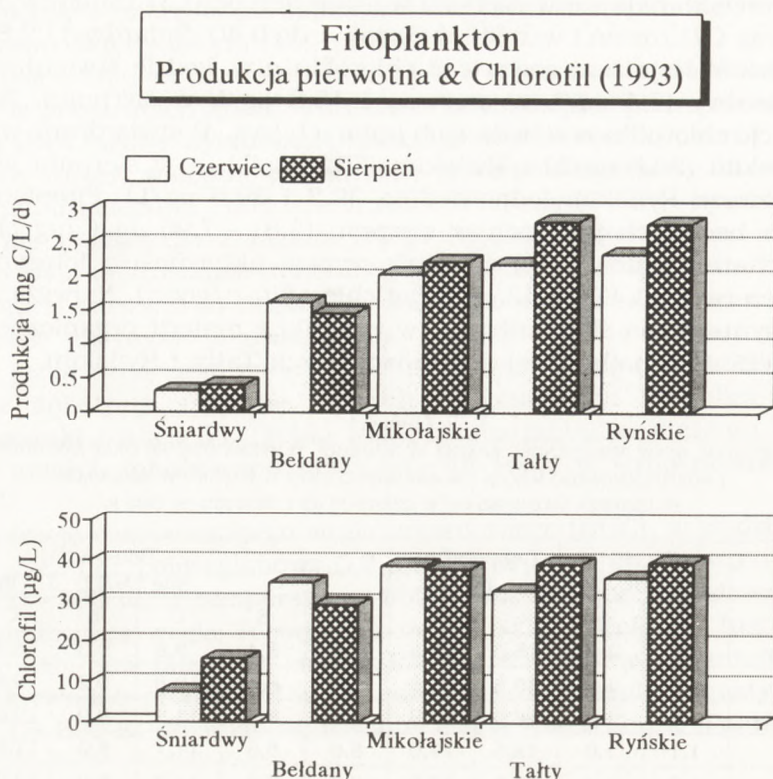
TABELA 1

PRZEZROCYSTOŚĆ WODY (WIDZIALNOŚĆ KRAŻKA SECCHI'EGO), TEMPERATURA, PH ORAZ ZAWARTOŚĆ TLENU I ROZPUSZCZONEGO WĘGLA ORGANICZNEGO (DOC) W BADANYCH JEZIORACH POJEZIERZA MAZURSKIEGO W CZERWCU (C) I SIERPNIU (S) 1993 R.

| Jezioro     | Secchi (m) |     | Temperatura (°C) |      | pH  |     | Tlen (mg O <sub>2</sub> /L) |     | DOC (mg C/L) |      |
|-------------|------------|-----|------------------|------|-----|-----|-----------------------------|-----|--------------|------|
|             | C          | S   | C                | S    | C   | S   | C                           | S   | C            | S    |
| Śniardwy    | 2,6        | 1,8 | 15,0             | 17,5 | 7,9 | 8,4 | 8,8                         | 9,3 | 8,4          | 8,8  |
| Beldany     | 0,9        | 1,3 | 15,8             | 17,0 | 8,4 | 8,4 | 10,8                        | 9,2 | 9,8          | 9,6  |
| Mikołajskie | 1,0        | 1,2 | 16,0             | 17,5 | 8,3 | 8,5 | 11,2                        | 8,9 | 12,6         | 11,2 |
| Tały        | 1,1        | 1,0 | 15,5             | 17,0 | 8,6 | 8,5 | 11,1                        | 8,9 | 11,6         | 12,2 |
| Ryńskie     | 1,0        | 1,1 | 15,5             | 17,0 | 8,2 | 7,6 | 11,2                        | 8,9 | 12,2         | 12,4 |

Tempo produkcji wtórnej bakterii oraz ich liczebność zależały ściśle od stopnia eutrofizacji wód badanych jezior (rys. 2). W najmniej zeutrofizowanych jeziorach Śniardwy i Beldany produkcja bakterii była najniższa. Najwyższe tempo produkcji bakterii stwierdzono w jeziorach Tały i Ryńskim, w zbiornikach najbardziej produktywnych i zeutrofizowanych. Produkcja wtórna bakterii była przeciętnie dwukrotnie wyższa w sierpniu (33,6 – 98,6 µg C/L/dobę) w porównaniu z czerwcem (10,8 – 42,4 µg C/L/dobę) we wszystkich badanych jeziorach (rys. 2). Liczba bakterii w wodzie powierzchniowej jezior, podobnie jak i ich produkcja wtórna, była znacznie wyższa w sierpniu ( $3,57 - 5,25 \times 10^7$  komórek/ml) aniżeli w próbkach pobranych w czerwcu ( $1,25 - 2,32 \times 10^7$  komórek/ml; rys. 2). Najniższa liczebność bakterii była notowana w najmniej zeutrofizowanym jeziorze Śniardwy zarówno w czerwcu ( $1,25 \times 10^7$  komórek/ml) jak i w sierpniu ( $3,57 \times 10^7$  komórek/ml). Natomiast najwyższą liczbę bakterii stwierdzono w Jeziorze Ryńskim (odpowiednio  $2,16$  i  $5,25 \times 10^7$  komórek/ml w czerwcu i w sierpniu), które było najbardziej produktywnym zbiornikiem. Wysoką liczbę bakterii zaobserwowano również w Jeziorze Mikołajskim (odpowiednio  $2,32$  i  $5,17 \times 10^7$  komórek/ml w czerwcu i w sierpniu). Wprawdzie Jezioro Mikołajskie nie należy do zbiorników najbardziej produktywnych, ale jest ono w sposób ciągły zanieczyszczane ście-





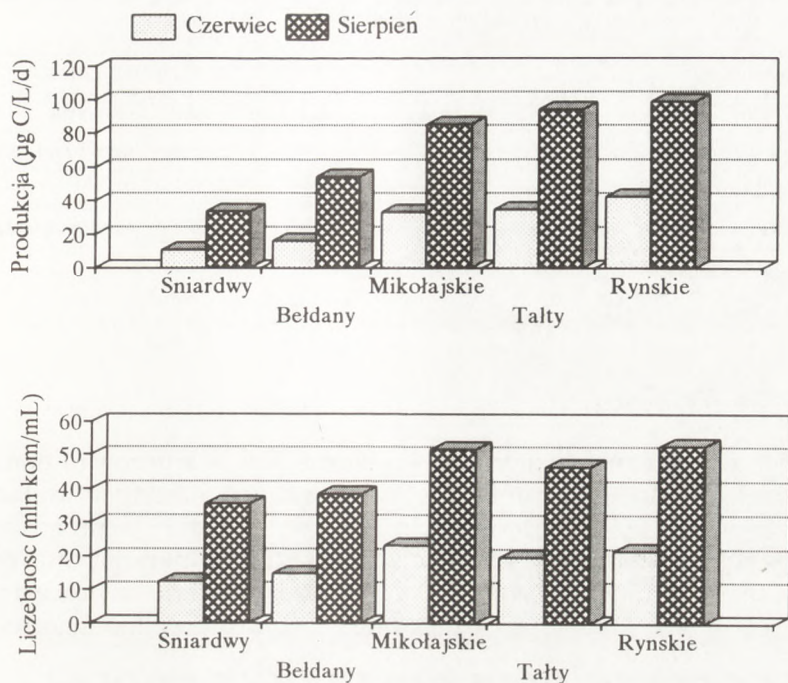
Rys. 1. Produkcja pierwotna fitoplanktonu i zawartość chlorofilu-*a* w wodzie jezior: Śniardwy, Beldany, Mikołajskie, Tałty i Ryńskie w czerwcu i sierpniu 1993 r.

kami komunalnymi odprowadzanymi bezpośrednio do tego jeziora z licznych ośrodków rekreacyjnych zlokalizowanych na jego obrzeżu.

Udział aminopeptydazy,  $\beta$ -glukozydazy i lipazy w rozkładzie biopolimerów organicznych (białka i peptydy, polisacharydy, tłuszcze), które stanowią główną frakcję materii organicznej w wodach naturalnych był zmienny w różnych jeziorach, aczkolwiek sumaryczna aktywność tych enzymów była ściśle proporcjonalna do stopnia eutrofizacji jezior i ich produktywności (rys. 3). Enzymem, który zawsze wykazywał najwyższą aktywność w wodzie badanych jezior była aminopeptydaza (107 – 785 nmol/L/godz.). Nieco mniejszą aktywność (11 – 429 nmol/L/godz.) posiadała lipaza. Najmniej aktywnym enzymem, spośród badanych, była  $\beta$ -glukozydaza (30 – 59 nmol/L/godz.). Stwierdzono znaczne różnice aktywności poszczególnych enzymów w badanych jeziorach, co może sugerować różnice w składzie i jakości materii organicznej w wodzie tych jezior (rys. 4). W sierpniu, najwyższą aktywność aminopeptydazy stwierdzono w jeziorach Tałty i Ryńskim, natomiast  $\beta$ -glukozydaza była najbardziej aktywna w jeziorach Beldany i Ryńskim. Aktywność lipazy w tym miesiącu była najwyższa w Jeziorach Ryńskim i Mikołajskim (rys. 4).



### Bakterioplankton Produkcja wtórna & Liczebność (1993)



Rys. 2. Produkcja wtórna oraz liczebność bakterii w wodzie jezior: Śniardwy, Beldany, Mikołajskie, Tałty i Ryńskie w czerwcu i w sierpniu 1993 r.

W przedstawionych wynikach badań wykazano istnienie ścisłej zależności tempa produkcji wtórnej bakterii od ich aktywności enzymatycznej oraz zasobności substratowej środowiska wodnego. Równoległe podjęte wstępne badania nad występowaniem bakteriofagów w środowiskach wodnych wykazały, że mogą stanowić one jeden z głównych czynników kontrolujących tempo produkcji wtórnej bakterii i ograniczających ich biomasę w wodach naturalnych. W wodzie pobranej z Jeziora Mikołajskiego we wrześniu 1993 r. stwierdzono licznie występujące bakteriofagi DNA (tab. 2). Zdjęcia fagów w mikroskopie elektronowym wykazały, że zdecydowana ich większość posiadała typową główkę w formie heksagonalnego kapsydu zaopatrzoną w ogonek o wymiarach 25 – 150 nm. Liczebność fagów DNA znacznie przewyższała liczbę bakterii i była od niej od 284 do 494 razy wyższa. Stwierdzono ponadto, że zainfekowane fagami, a następnie zlizowane komórki bakterii uwalniały do wody jeziora od 80 do 187 fagów w przeliczeniu na jedną komórkę gospodarza. Tempo namnażania się fagów i uwalniania ich do wody wahało się od 362 000 do 475 000 fagów/ml/godz, co było równoznaczne z równoczesną eliminacją

z wody od 253 000 do 401 000 bakterii/ml/godz., tj. od 26 do 35% ich produkcji wtórnej, na skutek lizy fagowej.

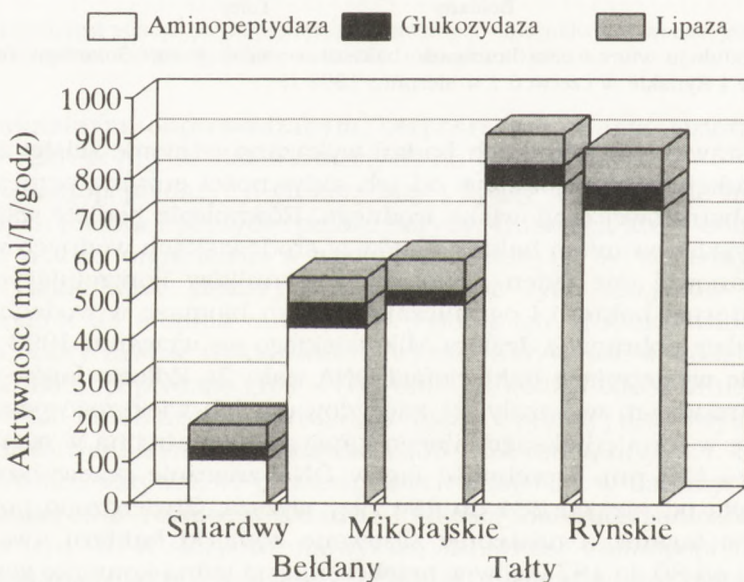
TABELA 2

LICZEBNOŚĆ BAKTERII I BAKTERIOFAGÓW ORAZ TEMPO ŚMIERTELNOŚCI BAKTERII I TEMPO NAMNAŻANIA SIĘ BAKTERIOFAGÓW W WODZIE JEZIORA MIKOŁAJSKIEGO (WRZESIEŃ 1993 R.)

|  |  |
|--|--|
| Liczebność bakterii                                      | 1,98 – 5,79 x 10 <sup>6</sup> komórek/ml       |
| Liczebność bakteriofagów                                 | 9,8 – 16,5 x 10 <sup>8</sup> fagów/ml          |
| Tempo namnażania się fagów                               | 3,62 – 4,75 x 10 <sup>7</sup> fagów/ml/godz.   |
| Ilość fagów namnożonych w 1 komórce bakterii             | 80 – 187 fagów                                 |
| Tempo śmiertelności fagowej bakterii                     | 2,53 – 4,01 x 10 <sup>5</sup> komórek/ml/godz. |
| Procent eliminacji produkcji wtórnej bakterii przez fagi | 25 – 36%                                       |

#### 4. Dyskusja wyników

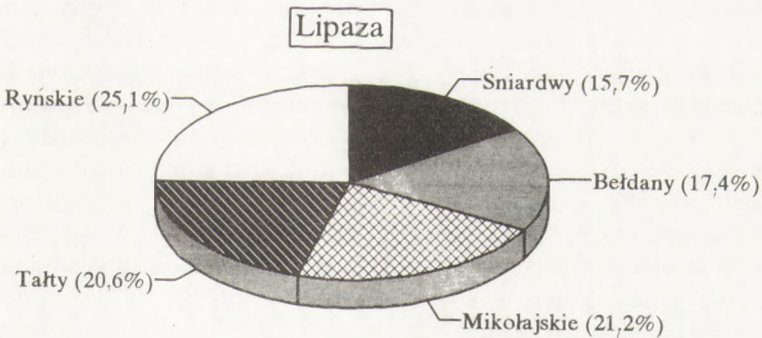
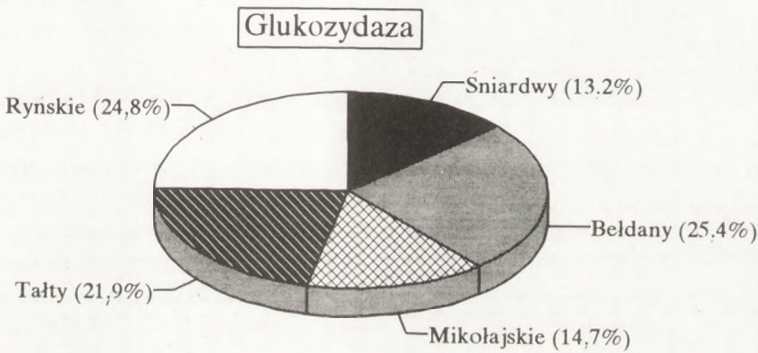
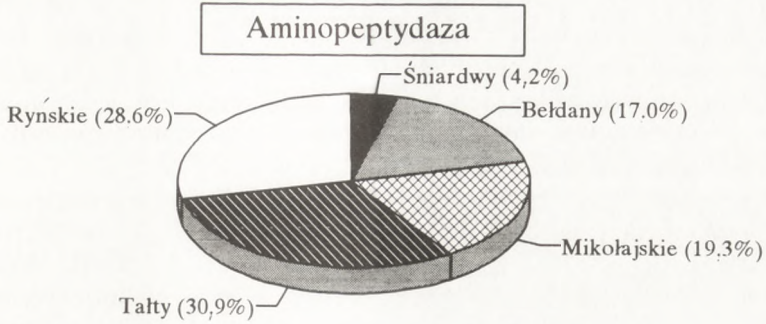
Odkrycie, że mikroorganizmy heterotroficzne pełnią kluczową i dominującą rolę w procesach krążenia mineralnej i organicznej materii w wodach oraz, że duża część (40 – 60%) materii organicznej wytworzonej w procesie produkcji pierwotnej fitoplanktonu nie jest bezpośrednio konsumowana przez roślinożerny zooplankton, lecz jest zużywana przez bakterie w procesie produkcji wtórnej (24), która następnie stanowi bazę pokarmową dla fagotroficznych



Rys. 3. Aktywność enzymatyczna bakterii w wodzie jezior: Śniardwy, Beldany, Mikołajskie, Tały i Ryńskie w sierpniu 1993 r.



### Aktywność enzymatyczna (Sierpień 1993)



Rys. 4. Porównanie aktywności aminopeptydazy,  $\beta$ -glukozydazy i lipazy w wodzie jezior: Śniardwy, Beldany, Mikołajskie, Tałty i Ryńskie w sierpniu 1993 r.



organizmów (mikrowiciowce, orzęski, mikrozooplankton) doprowadziło do sformułowania koncepcji „pętli mikrobiologicznej” (*microbial loop*) w ekologii wód (25,26,27). Głównym ogniwem w tworzeniu „pętli mikrobiologicznej” w środowiskach wodnych jest biokonwersja rozpuszczonej w wodzie materii organicznej (DOM, która może być wyłącznie asymilowana przez bakterie heterotroficzne i inne mikroorganizmy osmotroficzne) do upostaciowanej materii organicznej (POM) stanowiącej w tym przypadku biomasa bakterii heterotroficznych, która jest wykorzystywana jako pokarm przez fagotrofy. Tak zatem, aktywność bakterii heterotroficznych w przemianach i wykorzystywaniu organicznych substratów w wodach i osadach dennych jest jednym z podstawowych procesów bezpośrednio wpływającym na przepływ materii i energii do wyższych poziomów troficznych ekosystemu.

W zależności od stanu troficznego jezior oraz okresu fenologicznego koncentracje DOM wahają się od 1 – 3 mg C/L w wodach oligotroficznych do 3 – 34 (przeciętnie ok. 5 – 10) mg C/L, w jeziorach eutroficznych. Maksymalne koncentracje DOM w jeziorach obserwuje się zwykle w końcowym okresie zakwitów fitoplanktonowych w warstwie powierzchniowej. W wodach pelagicznych najważniejszym źródłem materii organicznej jest proces produkcji pierwotnej fitoplanktonu (pula POM) oraz pozakomórkowe wydzielanie produktów fotosyntezy i metabolizmu glonów, które zasilają pulę DOM (1). Skład chemiczny wytwarzanej przez fitoplankton upostaciowanej materii organicznej zależy od warunków środowiskowych (głównie świetlnych i biogennych) w jakich zachodzi fotosynteza glonowa (28). O składzie DOM decydują przede wszystkim procesy, w których ta frakcja materii organicznej powstaje, jak i tempo jej transformacji i utylizacji przez mikroorganizmy heterotroficzne. Przeważającą frakcję (> 95%) DOM w jeziorach stanowią substancje o wysokiej masie cząsteczkowej (zwykle polimery typu polisacharydów, białek, kwasów nukleinowych, lipidów) często skompleksowane z polifenolowymi związkami humusowymi. Niewielką część (0,5 – 5%) całkowitej ilości DOM stanowią oligomeryczne i monomeryczne związki organiczne o niskiej masie cząsteczkowej, bezpośrednio asymilowalne przez bakterie, takie jak: wolne aminokwasy, krótkie peptydy, cukry proste (heksozy i pentozy), aminocukry oraz dwucukry (1,8,29). Liczne badania wykazały, że o tempie rozwoju i aktywności bakterii heterotroficznych w wodach decyduje nie tylko ilość materii organicznej, ale przede wszystkim jej dostępność i skład chemiczny (1, 30,31,32,33).

Materia organiczna, a w szczególności niskocząsteczkowe produkty fotosyntezy (ok. 25 – 30%) wydzielane przyżyciowo przez fitoplankton w ekosystemach wodnych stanowią niezwykle ważną bazę substratową i energetyczną dla bakterii heterotroficznych (31,34). Pomiary produkcji wtórnej bakterii w wodach badanych jezior wykazały, że jej tempo było niewspółmiernie wysokie w porównaniu do ilości wydzielanych przez glony produktów fotosyntezy, czyli do zasobności pokarmowej wód badanych jezior. Obliczone tempo wydzielania pozakomórkowego niskocząsteczkowych produktów fotosyntezy fitoplanktonu jezior wahało się pomiędzy 4,3 i 28,9  $\mu\text{g C/L/dobę}$  w czerwcu i 11,0 – 49,9  $\mu\text{g C/L/dobę}$  w sierpniu (tab. 3), średnio stanowiąc dla wszy-



stkich jezior w okresie badań  $26,7 \pm 13,1 \mu\text{g C/L/dobę}$ . Zakładając, że jeżeli bakterie w procesie produkcji wtórnej wbudowały w swoją biomasę tylko ok. 40% zasymilowanych substratów organicznych, a resztę (60%) pobranych związków organicznego wykorzystwały jako substraty energetyczne w procesie respiracji (24,34), to w badanych jeziorach całkowite zapotrzebowanie populacji bakteryjnych na węgiel organiczny wahało się w zakresie  $27,0 - 105,9 \mu\text{g C/L/dobę}$  w czerwcu i  $83,9 - 246,5 \mu\text{g C/L/dobę}$  w sierpniu (tab. 3), co średnio stanowi  $125,7 \pm 75,3 \mu\text{g C/L/dobę}$ . Produkty fotosyntezy fitoplanktonu stanowiły jedynie od 9,7 do 62,9 (średnio  $25,8 \pm 15,1$ ) procent całkowitego zapotrzebowania bakterii na substraty organiczne. Jedynym wytłumaczeniem tego paradoksu bakterioplanktonu" (5) obserwowanego w badanych jeziorach jest to, że bakterie musiały wykorzystywać w procesach metabolicznych substraty z bezpośrednio niedostępnej puli organicznych biopolimerów w wodach badanych jezior (5,6,9,20).

TABELA 3

WYDZIELANIE POZAKOMÓRKOWE PRODUKTÓW FOTOSYNTETY FITOPLANKTONU (WPF) BEZPOŚREDNIO PRZYSWAJALNYCH PRZEZ BAKTERIE, ZAPOTRZEBOWANIE BAKTERII NA WĘGIEL ORGANICZNY (ZBWO) ORAZ PROCENT JAKI STANOWIĄ WYDZIELONE PRZEZ FITOPLANKTON SUBSTRATY ORGANICZNE W CAŁKOWITYM ZAPOTRZEBOWANIU BAKTERII HETEROTROFICZNYCH NA WĘGIEL ORGANICZNY (WPF/ZBWO X 100%) W CZERWCU (C) I W SIERPNIU (S) 1993 R.

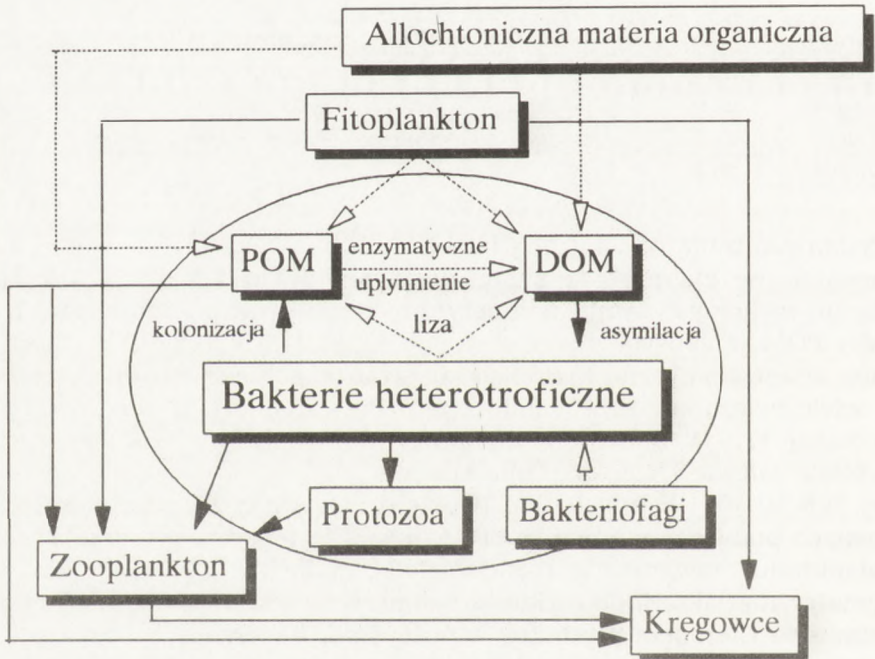
| Jezioro     | WPF ( $\mu\text{g C/L/doba}$ ) |      | ZBWO ( $\mu\text{g C/L/doba}$ ) |       | WPF/ZBWO x 100 (%) |      |
|-------------|--------------------------------|------|---------------------------------|-------|--------------------|------|
|             | C                              | S    | C                               | S     | C                  | S    |
| Śniardwy    | 4,3                            | 11,0 | 27,0                            | 83,9  | 15,9               | 13,1 |
| Beldany     | 25,5                           | 46,8 | 40,5                            | 135,7 | 62,9               | 34,5 |
| Mikołajskie | 28,9                           | 49,9 | 83,1                            | 212,6 | 34,8               | 23,5 |
| Tały        | 24,7                           | 22,8 | 86,5                            | 234,9 | 28,5               | 9,7  |
| Ryńskie     | 25,8                           | 27,5 | 105,9                           | 246,5 | 24,3               | 11,1 |

Przeprowadzone w ostatnich latach badania wykazały, że wodne bakterie heterotroficzne zdolne są do syntezy enzymów hydrolitycznych, które umożliwiają im wykorzystywanie polimerycznych substratów organicznych z puli DOM i POM w ekosystemach wodnych (8,20,21,35,36,37,38). Obecnie wiadomo, że enzymatyczna hydroliza substratów polimerycznych przez bakterie jest ściśle związana z procesami aktywnego transportu uwalnianych produktów reakcji (7,8,9,39) oraz, że tempo produkcji wtórnej bakterii w jeziorach jest ściśle zależne i wprost proporcjonalne do ich aktywności ektoenzymatycznej (4,9,20,40). Wyniki badań potwierdzają istnienie ścisłych korelacji pozytywnych pomiędzy stanem troficznym wód jeziornych, produkcją pierwotną fitoplanktonu, zawartością rozpuszczonej materii organicznej, aktywnością enzymatyczną bakterii do rozkładu polimerycznej materii organicznej oraz ich liczebnością i tempem produkcji wtórnej (tab. 4). Wyniki te wskazują jednoznacznie na istnienie ścisłej zależności pomiędzy procesami produkcji, dopływu, transformacji i utylizacji materii organicznej a tempem aktywności metabolicznej i produkcji wtórnej bakterii w ekosystemach jeziornych. Oznacza



to, że bakterie heterotroficzne spełniają podstawową rolę w procesach obiegu materii w jeziorach, a od ich aktywności biogeochemicznej i tempa produkcji wtórnej zależy przepływ materii i energii do wyższych układów troficznych (39,41). Wzajemne sprzężenie tych procesów decyduje o prawidłowym funkcjonowaniu całego ekosystemu jeziornego (10,11).

Na podstawie przeprowadzonych badań i otrzymanych wyników proponujemy model obrazujący główne zależności pomiędzy materią organiczną a procesami ekologicznymi, w których uczestniczą mikroorganizmy i ich wzajemny związek z innymi biota w ekosystemach jeziornych (rys. 5). W modelu tym wykazano, że aktywność enzymatyczna mikroorganizmów, a w szczególności bakterii heterotroficznych, steruje procesami dekompozycji i mineralizacji materii organicznej oraz obiegiem biogenów mineralnych w jeziorach. Enzymatycznie degradowana materia organiczna, zarówno DOM i POM, zostaje przekształcona w bezpośrednio przyswajalne przez bakterie substraty organiczne i mineralne. Na jej bazie wytwarzana jest duża biomasa bakterii, która następnie staje się pokarmem dla protozoa, tj. organizmów tworzących „pętlę mikrobiologiczną” takich jak: orzęski i mikrowiciowce heterotroficzne oraz dla mikrozooplanktonu. Część (ok. 25 – 36%) wytworzonej biomasy bakterii jest lizowana przez bakteriofagi. Tym samym fagi mogą potencjalnie skutecznie ograniczać wielkość biomasy i tempo produkcji wtórnej bakterii w jeziorze (43,44,45), z drugiej zaś strony powodują, że część upostaciowanej materii



Rys. 5. Rola i miejsce bakterii heterotroficznych w przemianach i obiegu materii organicznej w ekosystemach wodnych.

organicznej związanej w biomacie bakterii jest ponownie „upłynniona” na skutek lizy fagowej i zasila pulę DOM.

TABELA 4  
WSPÓŁCZYNNIKI KORELACJI  $r^2$  POMIĘDZY BADANYMI CZYNNIKAMI TROFICZNYMI  
I PROCESAMI MIKROBIOLOGICZNYMI W WODACH POWIERZCHNIOWYCH PIĘCIU JEZIOR NA POJEZIERZU MAZURSKIM  
W OKRESIE LETNIEJ STRATYFIKACJI WÓD ( $P \leq 0,05$ )

| Czynniki korelowane                      | $r^2$ |
|--|-------|
| Produkcja pierwotna ↔ Chlorofil          | 0,75  |
| Produkcja pierwotna ↔ DOC                | 0,68  |
| Produkcja pierwotna ↔ Liczba bakterii    | 0,49  |
| Produkcja pierwotna ↔ Produkcja bakterii | 0,77  |
| Aktywność enzymów ↔ DOC                  | 0,82  |
| Produkcja bakterii ↔ DOC                 | 0,94  |
| Produkcja bakterii ↔ Aktywność enzymów   | 0,78  |
| Aktywność enzymów ↔ Chlorofil            | 0,68  |

Bakterie kolonizując cząstki materii organicznej (POM) wzbogacają je we własne składniki komórkowe (przez co podwyższają ich wartość pokarmową) stając się jednocześnie pokarmem dla makroorganizmów detrytusożernych (zooplankton, ryby, itp.). Z drugiej strony, bakterie kolonizujące POM powodują enzymatyczne upłynnianie upostaciowanej materii organicznej (tym samym konkurują o tę porcję materii organicznej z makroorganizmami detrytusożernymi) i przekształcenie jej w formę rozpuszczoną w wodzie (DOM). Co więcej, bakterie dzięki enzymatycznej transformacji biopolimerów przekształcają je w bezpośrednio przyswajalne substraty organiczne i przez to asymilują ogromne ilości rozpuszczonej materii organicznej, z której przeciętnie od 25 do 60% jest biologicznie utleniane (mineralizowane) w procesach respiracji. Proces ten doprowadza do uwalniania dużej ilości biogenów mineralnych zużywanych następnie w procesach produkcji pierwotnej fitoplanktonu. Wiele gatunków glonów planktonowych nie byłoby w stanie zasiedlać środowiska wodnego i konkurować z innymi glonami gdyby nie komensalne dostarczanie im  $\text{CO}_2$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ , itp. przez bakterie dzięki ich aktywności enzymatycznej. Dlatego też bakterie heterotroficzne w dość istotny sposób mogą wpływać na sukcesję glonów w jeziorach (10,42).

## Literatura

1. Münster U., Chróst R.J., (1990), *Aquatic microbial ecology: Biochemical and molecular approaches*, Eds. Overbeck J., Chróst R.J., Springer-Verlag, New York, 8 - 46.
2. Münster U., Albrecht D., (1993), *Microbial ecology of Lake Plußsee*, Eds. Overbeck J., Chróst R.J., Springer-Verlag, New York, 24 - 62.



3. Rogers H.J., (1961), *The bacteria*, Eds. Gunsalus I.C., Stanier R.Y., Academic Press, New York, 2, 261 - 318.
4. Chróst R.J., Rai H., (1993), *Microbial Ecology*, 25, 131 - 150.
5. Chróst R.J., (1991), *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 24, 2597 - 2600.
6. Chróst R.J., (1992), *Hydrobiologia*, 243/244, 61 - 70.
7. Chróst R.J., (1990), *Aquatic microbial ecology: Biochemical and molecular approaches*, Eds. Overbeck J., Chróst R. J., Springer-Verlag, New York, 47 - 78.
8. Chróst R.J., (1991), *Microbial enzymes in aquatic environments*, Ed. Chróst R.J., Springer-Verlag, New York, 29 - 59.
9. Chróst R.J., (1989), *Limnol. Oceanogr.*, 34, 660 - 672.
10. Chróst R.J., (1991), *Evolution of freshwater lakes*, Ed. Burchardt L., Wyd. Nauk UAM, Poznań, 113 - 128.
11. Chróst R.J., (1993), *Idee Ekologii (Szkice)*, 3(2), 25 - 37.
12. Chróst R.J., Ważyk M., (1978), *Acta Microbiol. Polon.*, 27, 63 - 71.
13. Golterman H.L., Clymo R.S., Ohnstad M.A.M., (1978), *Methods for physical and chemical analysis of fresh waters*, Blackwell Scientific Publ., Oxford.
14. Chróst R.J., Overbeck J., Wcisło R., (1988), *Acta Microbiol. Polon.*, 37, 95 - 112.
15. Lee S., Fuhrman J.A., (1987), *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 1298 - 1303.
16. Zimmermann R., Meyer-Reil L.A., (1974), *Kieler Meeresforsch.*, 30, 24 - 27.
17. Porter K.G., Feig Y.S., (1980), *Limnol. Oceanogr.*, 25, 943 - 948.
18. Proctor L.M., Fuhrman J.A., (1992), *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 87, 283 - 293.
19. Borsheim K.Y., Bratbak G., Heldal M., (1990), *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 352 - 356.
20. Gajewski A.J., Chróst R.J., Siuda W., (1993), *Arch. Hydrobiol.*, 128, 107 - 128.
21. Gajewski A.J., (1993), *Acta Microbiol. Polon.*, 42, 291 - 302.
22. Gajewski A.J., Chróst R.J., (1994), *Biotechnologia*, (w druku).
23. Wetzel R.G., (1983), *Limnology*, Saunders College Publishing, Philadelphia.
24. Cole J.J., Finglay S., Pace M.L., (1988), *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 43, 1 - 10.
25. Azam F., Fenchel T., Field J.G., Gray J.S., Meyer-Reil L.A., Thingstad F., (1983), *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 10, 257 - 263.
26. Cho B.C., Azam F., (1990), *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 63, 253 - 259.
27. Weisse T., Müller H., Pinto-Coelho R.M., Schweizer A., Springmann D., Baldringer G., (1990), *Limnol. Oceanogr.*, 35, 781 - 794.
28. Siuda W., Wcisło R., Chróst R.J., (1991), *Arch. Hydrobiol.*, 121, 473 - 484.
29. Chróst R.J., Münster U., Rai H., Albrecht D., Witzel K.P., Overbeck J., (1989), *J. Plankton Res.*, 11, 223 - 242.
30. Chróst R.J., (1981), *Kieler Meeresforsch. Sonderh.*, 5, 325 - 332.
31. Chróst R.J., (1986), *Perspectives in microbial ecology*, Eds. Megusar F., Gantar M., Slovene Soc. Microbiol., Ljubljana, 360 - 366.
32. Tranvik L.J., (1988), *Microb. Ecol.*, 16, 311 - 322.
33. Tranvik L.J., (1989), *Bacterioplankton in humic lakes — a link between allochthonous organic matter and pelagic food webs*, Ed. Tranvik L.J., Lund Univ. Press, Lund, 59 - 74.
34. Chróst R.J., Faust M.A., (1983), *J. Plankton Res.*, 5, 477 - 493.
35. Billen G., (1991), *Microbial enzymes in aquatic environments*, Ed. Chróst R.J., Springer-Verlag, New York, 123 - 143.
36. Hoppe H.G., (1983), *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 11, 299 - 308.
37. Hoppe H.G., (1986), *Biotechnology*, Eds. Rehm H. J., Reed G., VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, 453 - 474.
38. Chróst R.J., (1993), *Microbial ecology of Lake Plußsee*, Eds. Overbeck J., Chróst R.J., Springer-Verlag, New York, 118 - 173.
39. Azam F., Cho B.C., (1987), *Ecology of microbial communities*, Eds. Fletcher M., Gray T.R.G., Jones J.G., Cambridge Univ. Press, Cambridge, 261 - 281.
40. Chróst R.J., Rai H., (1993), *Microbial ecology of Lake Plußsee*, Eds. Overbeck J., Chróst R.J., Springer-Verlag, New York, 92 - 117.

41. Cho B.C., Azam F., (1988), *Nature*, 332, 441 - 443.
42. Chróst R.J., Overbeck J., (1987), *Microb. Ecol.*, 13, 229 - 248.
43. Bratbak G., Haldal M., Norland S., Thingstad T.F., (1990), *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 1400 - 1405.
44. Proctor L.M., Fuhrmann J.A., (1991), *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 69, 133 - 142.
45. Proctor L.M., Fuhrman J.A., (1992), *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 87, 283 - 293.

### **Mechanisms and control of microbiological processes of degradation and utilization of organic matter in lacustrine ecosystems of different degrees of eutrophication**

#### Summary

The report presents the results of a study of phytoplankton primary and bacterial secondary production, and enzymatic activities in surface lake water sampled from five lakes (Mazurian Lake District, Poland) of different degrees of eutrophication during summer stratification period. The rates of bacterial secondary production correlated positively to phytoplankton primary production and both processes related to the trophic status of the lakes. The magnitude of bacterial production was strongly dependent on bacterial enzymatic degradation of polymeric organic matter. Through the production of hydrolytic enzymes (aminopeptidase,  $\beta$ -glucosidase, lipase), bacteria were capable of utilizing a variety of polymeric substrates, otherwise not utilizable, which predominated in lake water. The authors also propose and discuss a model of flow of organic matter in aquatic ecosystems and a role of bacteria and phages in this process.

#### **Key words:**

primary production, bacterial production, organic matter degradation, enzymatic activity, phages.

#### *Adres dla korespondencji:*

Ryszard J. Chróst, Adam J. Gajewski, Zakład Ekologii Mikroorganizmów, Uniwersytet Warszawski, ul. Karowa 18, 00-927 Warszawa 64.

Elżbieta Lalke, Zakład Mikrobiologii Wód i Biotechnologii, Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika, ul. Gagarina 9, 87-100 Toruń.