

Jeszcze o nityfikacji oczami biologa. Sukcesja nityfikatorów w nowo otwartej oczyszczalni ścieków.

Nitrification as seen by a biologist. Succession of nitrifiers in newly open wastewater treatment plant.

Agnieszka Pajdak-Stós, Edyta Fiałkowska, Janusz Fyda, Roman Babko

Instytut Nauk o Środowisku, Uniwersytet Jagielloński, Gronostajowa 7, 30-387 Kraków

Pedagogical University of Sumy, Department of Zoology, Romenska str. 87, Sumy 40002

Ukraina

Abstract

We monitored the succession of nitrifiers in a newly opened wastewater treatment plant for five weeks. After the first distinct decrease in total nitrogen, we began monitoring the appearance, size and number of nitrifying bacteria colonies using the fluorescence in situ hybridization (FISH) method. Ammonia oxidizing bacteria (AOB) colonies were visualized under green excitation as red, and nitrite oxidizing bacteria (NOB) colonies were visualized

under blue excitation as green. The changes in protozoan community were monitored simultaneously. Ciliates were divided into four functional groups: predatory, bacterivorous free-swimming, bacterivorous crawling, and sessile. The results showed that at the time of the first distinct total nitrogen decrease, the mean length of both AOB and NOB were relatively low, but the colonies, especially those of nitrite oxidizers, were abundant. In time, the distribution of ammonia oxidizer colonies shifted towards larger sizes, but their quantity decreased. In the case of nitrite oxidizers, a similar trend was noticeable but less pronounced. These changes corresponded with an increasing number of crawling bacterivorous ciliates dominated by the “scavenger” genus *Aspidisca*. The increasing size of nitrifier colonies may have been due to the growing grazing pressure from crawling bacterivorous ciliates. The strong grazing pressure did not negatively affect N-NH₄⁺ removal effectiveness.

Monitorowano sukcesję bakterii nityfikacyjnych w początkowej fazie rozruchu oczyszczalni ścieków. Od momentu pierwszego wyraźnego spadku stężenia azotu ogólnego w odpływie przez okres pięciu tygodni badano liczebność, wielkość i morfologię kolonii bakterii nityfikacyjnych w oparciu o metodę fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH). Kolonie bakterii utleniających amoniak (AOB) po barwieniu i wzbudzeniu światłem zielonym były widoczne jako czerwone, a bakterii utleniających azotyny (NOB) po wzbudzeniu światłem niebieskim jako zielone. Jednocześnie monitorowano zespoły orzęsków. Orzęski podzielono na cztery grupy funkcjonalne: drapieżne, bakteriożerne wolnożyjące, pełzające i osiadłe. Badania wykazały, że w momencie pierwszego gwałtownego spadku stężenia azotu ogólnego w odpływie, monokolonie zarówno AOB jak i NOB były bardzo drobne i liczne. Z czasem populacje nityfikatorów utleniających amoniak do azotynów zostały zdominowane przez

bakterie występujące w dużych, ale nielicznych koloniach. Podobny, jednak mniej wyraźny trend zaobserwowano w przypadku bakterii utleniających azotyny do azotanów.

Zaobserwowano wyraźny związek pomiędzy wielkością i liczebnością kolonii, a zagęszczeniem bakteriożernych orzęsków pełzających, wśród których wyraźnie dominowały orzęski z rodzaju *Aspidisca*. Zmiana struktury wielkości i liczebności kolonii z licznych, niekiedy kilkukomórkowych w stronę kolonii dużych i nielicznych może być interpretowana jako wynik presji selekcyjnej bakteriożernych orzęsków pełzających na kłaczkach, dla których dostępne są tylko bardzo drobne kolonie. Bardzo silna presja ze strony orzęsków zdolnych do odżywania się bakteriami nitryfikacyjnymi nie wpłynęła negatywnie na efektywność usuwania $N-NH_4^+$.

Wstęp

Efektywność nitryfikacji jest jednym z ważniejszych parametrów w biologicznych oczyszczalniach ścieków. Kondycja populacji bakterii nitryfikacyjnych jest kluczowym czynnikiem w tym procesie, a jak dotąd pozostaje wiele niewiadomych na temat czynników wpływających na ich aktywność. Ciekawe zestawienie prawd i mitów na temat nitryfikacji przedstawił Miksch i współautorzy (2010) w 3 numerze Forum Eksploatatora. Jednym z najważniejszych czynników umożliwiających rozmnażanie się wolno-rośnących bakterii nitryfikacyjnych w systemie jest utrzymywanie wieku osadu powyżej 10 dni (Gerardi 2006). Długi wiek osadu umożliwia również rozwój takich organizmów jak: orzęski pełzające, wrotki i nicienie, które są potencjalnymi konsumentami bakterii kłaczkujących. W ostatnich latach badano wpływ drapieżnictwa na populacje nitryfikatorów w tlenowych błonach biologicznych (Lee i Welander, 1994), w glebowych mikroekosystemach (Ronn i in. 2002) i

w osadzie czynnym (Lee i Oleszkiewicz, 2003; Petropoulos i Gilbride, 2005; Pogue i Gilbride, 2007). Wiele uwagi poświęcono również wpływowi pierwotniaków na zbiorowiska bakterii w wodach śródlądowych i morzach (Šimek i in., 1999; Hahn i Höfle, 2001; Jürgens i Matz, 2002, Matz i Kjelleberg, 2005), natomiast badania wpływu drapieżnictwa na zbiorowiska bakterii w osadzie czynnym były stosunkowo nieliczne (Macek i in., 1993; Čech i in., 1994). Dotychczasową wiedzę na temat presji selekcyjnej pierwotniaków na zbiorowiska mikroorganizmów podsumowali Hahn i Höfle (2001), Jürgens i Matz (2002) oraz Pernthaler (2005). Podstawowa reguła presji selekcyjnej zakłada, że aparat gębowy konsumenta stanowi ograniczenie dla wielkości połykanych cząstek (bakterii), a bakterie skupione w formie zwartych kolonii lub nitek unikają “bycia zjedzonym” i wygrywają konkurencję w środowisku (Matz i Kjelleberg, 2005).

Aby sprawdzić czy można zaobserwować tego rodzaju wpływ potencjalnych drapieżników na wielkość kolonii nityfikatorów w oczyszczalni monitorowano sukcesję populacji nityfikatorów i orzęsków w nowo otwartej oczyszczalni ścieków.

Badania zmian w osadzie czynnym po rozruchu oczyszczalni

Badania prowadzono w nowo otwartej oczyszczalni ścieków działającej w systemie Bardenpho. Osad czynny zaszczerpiono, dowożąc osad pochodzący z dobrze pracującej oczyszczalni funkcjonującej w podobnym systemie. Głównym założeniem badań było monitorowanie zmian w zagęszczeniu pierwotniaków a także w liczebności i morfologii bakterii nityfikacyjnych w czasie wpracowywania osadu czynnego po rozruchu oczyszczalni.

Badania rozpoczęto w trzy tygodnie po zaszczerpieniu osadu. Przez cały czas monitorowania sukcesji z oczyszczalni nie usuwano osadu nadmiernego. Próby osadu do

analiz mikroskopowych pobierano raz w tygodniu zawsze w tym samym punkcie poboru w komorze napowietrzania, a następnie transportowano bezpośrednio do laboratorium. W każdej próbie identyfikowano w oparciu o klucz Foissnera i Bergera (1996) i liczone orzęski, ameby nagie i ameby domkowe. Orzęski podzielono zgodnie z metodą Madoniego (1994) na cztery grupy funkcjonalne: orzęski drapieżne, bakteriożerne wolnożyjące, bakteriożerne pełzające i osiadłe. W próbach policzono też wrotki i nicienie. Wykonano też analizy mikroskopowe metodą Eikelbooma (2000), bazujące na szacowaniu zagęszczenia poszczególnych organizmów. Zagęszczenie bakterii nitkowatych (Filament Index –FI) szacowano w skali od 0 do 5 porównując obrazy mikroskopowe z obrazami referencyjnymi w kluczach (Eikelboom, 2000, Fiałkowska i in., 2005).

W okresie monitorowania składu mikroorganizmów w laboratorium oczyszczalni wykonywane były rutynowe badania fizykochemiczne. W celu sprawdzenia skuteczności nityfikacji obliczano procentową redukcję $N-NH_4^+$. Od momentu zarejestrowania pierwszego wyraźnego spadku koncentracji azotu całkowitego w odpływie, rozpoczęto badania zmian liczebności, wielkości i morfologii kolonii bakterii nityfikacyjnych. Do wykrywania bakterii nityfikacyjnych użyto metody FISH – fluorescencyjnej hybrydyzacji „in-situ”. w oparciu o zestaw odczynników NITRI-VIT (Vermicon AG, 2001). Kolonie były liczone, a także mierzono ich długość przy pomocy programu analizy obrazu Lucia. Protokół NITRI-VIT umożliwia detekcję bakterii utleniających amoniak: *Nitrosomonas eutropha*, *N. europea*, *N. communis*-cluster, *N. oligotropha*-cluster, *N. aestuarii*, *Nitrosococcus* sp. i *Nitrospira* sp. i bakterii utleniających azotyny do azotanów: *Nitrobacter* sp. i *Nitrospira* sp.

W okresie badania sukcesji nityfikatorów temperatura w reaktorze wahała się w granicach 13-15 °C, pH w zakresie 7,45 – 7,72. W tym czasie zaobserwowano zmiany

liczebności i wielkości kolonii bakterii nitryfikacyjnych z wyraźną tendencją do zmniejszania liczebności kolonii przy jednoczesnym zwiększaniu się ich rozmiarów.

Zwiększenie udziału dużych kolonii nitryfikatorów zbiegło się z pierwszym znaczącym skokiem procentowej redukcji $N-NH_4$ (Ryc. 1). Obserwowane zmiany w wielkości i morfologii kolonii nitryfikatorów miały miejsce w tym samym czasie, kiedy wzrastała liczebność bakteriożernych orzęsków pełzających. Rycina 2 pokazuje zmiany średniego zagęszczenia każdej z grup pierwotniaków. Zagęszczenie bakteriożernych orzęsków pełzających wzrastało powoli ale stale przez cały czas trwania badań. W tej grupie zdecydowanie dominowały orzęski z rodzaju *Aspidisca*. Pojedyncze wrotki i nicienie zaobserwowano jedynie w kilku próbach. Indeks bakterii nitkowatych (FI) wzrósł z 2 do 4 w ciągu 6 tygodni badań.

Kondycja nitryfikatorów a pierwotniaki

Osad czynny jest skomplikowanym systemem, złożonym z wielu grup mikroorganizmów, którego skład ciągle się zmienia. Najwcześniejsze badania relacji pomiędzy mikroorganizmami w osadzie czynnym koncentrowały się na roli pierwotniaków w kłaczkowaniu materii rozproszonej i redukowaniu liczebności wolnopływających bakterii (Watson, 1945; Curds, 1963). Uważa się, że wśród pierwotniaków występujących w osadzie czynnym najważniejszą rolę w usuwaniu większości rozproszonych bakterii odgrywają orzęski (Pike i Curds, 1971).

Innym bardzo ważnym składnikiem osadu czynnego są bakterie nitryfikacyjne odpowiedzialne za pierwszy etap usuwania azotu. Z powodu ich wolnego tempa wzrostu i

wrażliwości na substancje toksyczne proces nityfikacji uważany jest za szczególnie wrażliwy (Wagner i Loy 2002). Badania wykazały, że bakterie nityfikacyjne mogą stanowić pokarm dla różnych przedstawicieli proto- i metazoa (Lee i Welander 1994). Wiadomo jednak, że nityfikatory są zdolne do tworzenia różnej wielkości kolonii, przy czym źródło tej zmienności nie jest do końca poznane. Z badań nad innymi bakteriami wiadomo, że tworzą one kolonie zwiększając tym samym rozmiar, co z kolei pozwala uniknąć połknięcia przez większe organizmy (Matz i Kjelleberg 2005; Young 2006). Zwiększanie rozmiarów kolonii może być interpretowane jako forma obrony przed drapieżnikami.

Nasze badania pokazały, że na początku funkcjonowania oczyszczalni w osadzie występowały liczne kolonie nityfikatorów, ale były one rozproszone a ich wielkość nie przekraczała 4 μm . Z czasem proporcja małych kolonii zmniejszała się a wzrastał udział kolonii o rozmiarach w przedziale 4-6 μm (rozkład wielkości kolonii przyjmował kształt normalny z największą liczebnością w przedziale 4-6 μm) w przypadku AOB i w przedziale 2-5 μm w przypadku NOB. Stopień rozproszenia kolonii w czasie trwania badań zmniejszał się zarówno w przypadku bakterii utleniających amoniak jak i bakterii utleniających azotyny (Ryc. 3). Taką zmianę można tłumaczyć na kilka sposobów. Bakterie mogą rosnać w postaci wielokomórkowych konglomeratów chroniąc się w ten sposób przeciwko potencjalnym drapieżnikom (Young, 2006). Innym mechanizmem tłumaczącym takie zjawisko może być selektywne żerowanie na pojedynczych, małych, łatwo dostępnych bakteriach i tym samym zwiększanie konkurencyjności bakterii zdolnych do tworzenia dużych kolonii. Ten ostatni efekt często opisywano u mikroorganizmów słodkowodnych (Šimek i in., 1999; Hahn i Höfle, 2001). Wydaje się możliwe, że AOB reagują mocniej na wzrastającą presję orzęsków niż kolonie NOB, gdyż kolonie te są najczęściej ulokowane na powierzchni kłaczków ze względu na dostęp do substratów. Ponieważ NOB korzystają z metabolitów AOB, mogą one

pozostawać ukryte w kłaczkach, co czyni je mniej podatnymi na ataki potencjalnych konsumentów.

Badano również zmiany zagęszczenia różnych grup pierwotniaków. Najbardziej interesujące okazały się zmiany liczebności orzęsków pełzających, wśród których dominowały gatunki z rodzaju *Aspidisca*. Ich zagęszczenie wzrastało powoli ale stale, co może sugerować ich odporność na ataki drapieżników, wśród których dominował drobny, uzbrojony w toxicysty orzęsek *Acineria uncinata*. Orzęski z rodzaju *Aspidisca spp.* są jednymi z najczęściej dominujących orzęsków w komunalnych i przemysłowych oczyszczalniach ścieków. Interesujące jest, że wg Luxmy`ego i współautorów (2000) optymalna wielkość ofiar tych orzęsków mieści się w granicach 1,5 do 3,3 μm . Wzrastająca liczebność orzęsków pełzających i równoległe powiększenie się kolonii nityfikatorów do zakresu pomiędzy 4 a 5 μm nasuwa pytanie czy zmiany te są ze sobą powiązane? Czy wzrost presji ze strony orzęsków pełzających wpływa na kondycję nityfikatorów? Wysoka efektywność redukcji amoniaku z jednej strony (Ryc. 1) i zmiany morfologii kolonii nityfikatorów z drugiej, prowadzą do konkluzji, że wpływ bakteriożernych orzęsków na proces nityfikacji przynajmniej w wypadku tej konkretnej oczyszczalni jest raczej pozytywny. Wyniki te są zgodne z doniesieniami Petropoulos i Gilbride (2005) oraz Pogue i Gilbride (2007), którzy wykazali, że AOB i NOB są mniej aktywne przy braku pierwotniaków. Kiedy porównamy rozkład wielkości nityfikatorów z rozmiarami preferowanych ofiar dominujących gatunków, możemy podejrzewać, że zwiększenie kolonii AOB jest strategią unikania połknięcia.

Warto zaznaczyć, że większość ostatnich badań bakterii i ich form morfologicznych pomijała wpływ innych mikroorganizmów występujących w osadzie. Najwyraźniej ich liczebność, skład gatunkowy i wpływ na bakterie były niedocenione. Jest to zaskakujące, zważywszy, że już w latach siedemdziesiątych ubiegłego wieku Güde zwrócił uwagę na fakt,

że występowanie określonych form morfologicznych bakterii w osadzie czynnym może być wynikiem presji selekcyjnej ze strony pierwotniaków (Güde, 1979). Znacznie więcej uwagi poświęcono wpływowi pierwotniaków na kształtowanie zbiorowisk bakterii w środowiskach słodkowodnych i morskich (Šimek i in., 1999; Hahn i Höfle, 2001; Matz i Kjelleberg, 2005). Wcześniejsze badania wykazały, że w efekcie długotrwałej presji konsumpcyjnej ze strony pierwotniaków, w zbiorowisku bakterii zaczynają dominować bakterie nitkowate (Pernthaler i in. 1997). Podobną zależność obserwowaliśmy w naszych badaniach, kiedy jednocześnie z rosnącą presją orzęsków wzrastał indeks bakterii nitkowatych.

Wyniki naszych badań sugerują również, że rosnące rozmiary kolonii bakterii mogą być wynikiem selektywnego żerowania orzęsków i/lub reakcji obronnej przeciwko orzęskom. Większość bakteriożernych orzęsków w osadzie czynnym żywi się bakteriami wolnopływającymi lub luźno związanymi z kłaczkami. Krótkotrwały eksperyment Neubachera i współautorów pokazał, że orzęski żerują na rozproszonych nityfikatorach równie skutecznie jak na innych wolno-pływających bakteriach (Neubacher i in. 2008). Wiadomo jednak, że nityfikatory mają znacznie niższe tempo wzrostu niż inne bakterie, zatem są one potencjalnie znacznie bardziej narażone na wyginięcie. Ponieważ zagęszczenie orzęsków pełzających sięgało 12 000 osobników/ml, z pewnością wywierały one silną presję selekcyjną na bakterie w systemie. Larsen i współautorzy (2008) wykazali, że nityfikatory w osadzie czynnym tworzą bardzo mocne kolonie otoczone warstwą egzopolimerów. Kolonie te są wyjątkowo odporne na działanie czynników fizycznych i chemicznych, o czym wspomina także Miksch w swoim artykule w Forum Eksploatatora (Miksch i inni 2010). Wydaje się prawdopodobne, że presja drapieżników może przyczyniać się do powstawania takich kolonii jak to wykazano u innych bakterii (Hahn i Höfle 2001). Wykazano również, że bakterie nitkowate z osadu czynnego są wyjątkowo plastyczne (Ramothokang i in. 2006). Trzy różne

szczyty bakterii nitkowatych po przeszczepieniu na stałe podłoże zmieniały swoją morfologię i rosły w formie niepołączonych, kulistych lub pałeczkowatych komórek. Również bakterie nityfikacyjne są niezwykle plastyczne. W czystych kulturach najczęściej występują w formie rozproszonych pojedynczych komórek, podczas gdy w osadzie czynnym rosną w formie kolonii. Odkryto także, że u niektórych bakterii z grupy AOB istnieje komunikacja pomiędzy komórkami a ponadto komórki mogą przemieszczać się w kierunku bardziej sprzyjających warunków (Geets i in. 2006). Prawdopodobnie w badanym osadzie rozkład wielkości kolonii AOB i NOB osiągnął optimum pomiędzy narażeniem na połknięcie a dostępnością substratu. Nasze badania doprowadziły nas do wysunięcia hipotezy, że presja selekcyjna ze strony licznych orzęsków pełzających może prowadzić do wzrostu liczebności większych kolonii nityfikatorów. Utrzymywanie się w formie większych kolonii może być również indukowanym mechanizmem obronnym stosowanym przez bakterie w obecności pierwotniaków. Bez względu na mechanizm takiego efektu, ekologiczne i technologiczne korzyści z występowania nityfikatorów w formie dużych kolonii są oczywiste. Duże kolonie obudowane warstwą śluzu są nie tylko bardziej odporne na zgryzanie i oddziaływanie czynników chemicznych, ale także mają większe szanse na pozostanie w osadzie po procesie separacji. Jeżeli wielkość kolonii nityfikatorów jest wynikiem indukowanej reakcji obronnej, to nagły spadek liczebności konsumentów (np. w wyniku zrzutu toksycznych ścieków) może doprowadzić do dezintegracji kolonii. Tego rodzaju strategię obserwowano u cyjanobakterii *Microcystis*, której reakcja była adekwatna do realnego ryzyka (Yang i in., 2006). Jeżeli tworzenie kolonii nityfikatorów jest formą obrony indukowanej, obecność odpowiednich konsumentów może się okazać niezwykle istotna dla utrzymania nityfikatorów w systemie. Wyniki naszych badań prowadzą do wniosku, że w poszukiwaniu przyczyn załamania procesu nityfikacji rola potencjalnych konsumentów nie powinna być pomijana.

Literatura

- Čech J.S., Hartman P. and Macek M. (1994) Bacteria and protozoa population dynamics in biological phosphate removal systems. *Water Science and Technology*, **29**, 109-117.
- Curds C.R. (1963) The flocculation of suspended matter by *Paramecium caudatum*. *Journal of General Microbiology*, **33**, 357-63.
- Eikelboom D.H. (2000) *Process control of activated sludge plants by microscopic investigation*. London, UK: IWA Publishing
- Fiałkowska E., Fyda J., Pajdak-Stós A., Wiąckowski K. (2005) Osad czynny - biologia i analiza mikroskopowa. Oficyna Wydawnicza "Impuls", Kraków
- Foissner W. and Berger H. (1996) A user-friendly guide to the ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. *Freshwater Biology*, **35**, 375-382.
- Geets J., Boon N. and Verstraete W. (2006) Strategies of aerobic ammonia-oxidizing bacteria for coping with nutrient and oxygen fluctuations. *FEMS Microbiology Ecology*, **58**, 1-13.
- Gerardi M. H. (2006) *Wastewater Bacteria*. Wiley- Interscience, Hoboken.
- Güde H. (1979) Grazing by Protozoa as selection factor for activated sludge bacteria. *Microbial Ecology*, **5**, 225-237.
- Hahn M.W. and Höfle M.G. (2001) Grazing of protozoa and its effect on populations of aquatic bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, **35**(2), 113-121.
- Jürgens K. and Matz C. (2002) Predation as a shaping force for the phenotypic and genotypic composition of planktonic bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek Journal of General and Molecular Microbiology*, **81**(1-4), 413-434.
- Larsen P., Nielsen J.L., Svendsen T.C. and Nielsen P.H. (2008) Adhesion characteristics of nitrifying bacteria in activated sludge. *Water Research*, **42**, 2814-2826.

- Lee N.M. and Oleszkiewicz J.A. (2003) Effects of predation and ORP conditions on the performance of nitrifiers in activated sludge systems. *Water Research*, **37**, 4202-4210.
- Lee N.M. and Welander T. (1994) Influence of predators on nitrification in aerobic biofilm processes. *Water Science and Technology*, **29**(7), 355-363.
- Luxmy B.S., Nakajima F. and Yamamoto K. (2000) Predator grazing effect on bacteria size distribution and floc size variation in membrane-separation activated sludge. *Water Science and Technology*, **42**(3-4), 211-217.
- Macek M., Hartman P. and Škopová I. (1993) Participation of a specific substrate degrading strain in a mixed bacteria culture as a result of ciliate grazing. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, **78**, 557-574.
- Madoni P. (1994) A Sludge Biotic Index (SBI) for evaluation of activated sludge plants based on the microfauna analysis. *Water Research*, **28**, 67-75.
- Matz C. and Kjelleberg S. (2005) Off the hook - how bacteria survive protozoan grazing. *Trends in Microbiology*, **13**(7), 302-307.
- Miksch K., Sikora J., Surmacz-Górska J. (2010) Kilka mitów i prawd o nitryfikacji. *Forum Eksploatatora*, **3**, 112-115.
- Neubacher E., Prast M., Cleven E-J. and Berninger U-G. (2008) Ciliate grazing on *Nitrosomonas europaea* and *Nitrospira moscoviensis*: is selectivity a factor for the nitrogen cycle in natural aquatic systems? *Hydrobiologia*, **596**, 241-250.
- Pernthaler J. (2005) Predation on prokaryotes in the water column and its ecological implications. *Nature Reviews Microbiology*, **3**, 537-546.
- Petropoulos P. and Gilbride K.A. (2005) Nitrification in activated sludge batch reactors is linked to protozoan grazing of the bacterial population. *Canadian Journal of Microbiology*, **51**(9), 791-799.

- Pike E.B. and Curds C.R. (1971) The microbial ecology of the activated sludge process. The Society for Applied Bacteriology Symposium Series, **1**, 123-147.
- Pogue A.J. and Gilbride K.A. (2007) Impact of protozoan grazing on nitrification and the ammonia- and nitrite-oxidizing bacterial communities in activated sludge. *Canadian Journal of Microbiology*, **53**(5), 559-571.
- Ramothokang T.R., Naidoo D. and Bux F. (2006) 'Morphological shifts' in filamentous bacteria isolated from activated sludge processes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **22**, 645-850.
- Ronn R., McCaig A.E., Griffiths B.S. and Prosser J.I. (2002) Impact of protozoan grazing on bacterial community structure in soil microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*, **68**(12), 6094-6105.
- Šimek K., Kojecká P., Nedoma J., Hartman P., Vrba J. and Dolan J.R. (1999) Shifts in bacterial community composition associated with different microzooplankton size fractions in a eutrophic reservoir. *Limnology and Oceanography*, **44**(7), 1634-1644.
- Wagner M. and Loy A. (2002) Bacterial community composition and function in sewage treatment system. *Current Opinion in Biotechnology* **13**(3), 218-227
- Watson J.M. (1945) Mechanism of bacterial flocculation caused by protozoa. *Nature*, **155**, 271.
- Young K.D. (2006) The selective value of bacterial shape. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **70**(3), 660-703.
- Yang Z., Kong F., Shi X. and Cao H. (2006) Morphological response of *Microcystis aeruginosa* to grazing by different sorts of zooplankton. *Hydrobiology*, **563**, 225-230.

Spis rycin:

Fig. 1. Zmiany procentowej redukcji amonu amonowego (N-NH_4^+).

Fig. 2. Zmiany liczebności orzęsków w obrębie poszczególnych grup funkcjonalnych.

Fig. 3. Wygląd przykładowych kolonii AOB (czerwone) i NOB (zielone) na początku (a) i na końcu (b) okresu monitorowania zmian morfologii kolonii bakterii.