

# Pomen pršenja slapov pri razširjanju bakterij

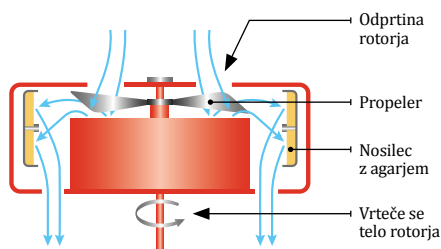
Besedilo in foto: Miha Mihelič

Atmosfera je za živa bitja izjemnega pomena. Poleg plinov, ki so nujni za osnovno delovanje organizmov, in tistih snovi, ki uravnavajo vplive iz vesolja, je nepogrešljiva tudi njena vloga življenjskega prostora. Tu se organizmi lahko gibajo v iskanju hrane, partnerjev ali gostiteljev. Številni vremenske pojave v zračnem prostoru uporabljajo kot glavni vektor za kolonizacijo novih območij bodisi neposredno bodisi z razširjanjem svojih spor oz. semen. Največje razdalje med vsemi lahko premagujejo mikroorganizmi, ki zaradi svoje majhnosti različne pojave s pridom uporabljajo.

Mikrobi se lahko razširjajo predvsem prosto ali pritrjeni na organske (pelodna zrna, spore gliv) in anorganske delce (prašni delci, puščavski pesek, toča ...). Ko vstopijo v atmosfero, jih imenujemo bioaerosoli. Pod to poimenovanje sodijo bakterije, glive, alge, praživali, njihove trajne oblike ali spore, virusi pa tudi cvetni prah. Kot bioaerosoli lahko vplivajo na kemizem in fizikalne dejavnike v atmosferi, torej na podnebje in celotno biosfero ter nenazadnje tudi na zdravje ljudi. Na dolge ali kratke razdalje jih večinoma prenašajo vetrovi, nahajajo pa se tudi v megli in oblakih. Verjetno ste na svojem avtomobilu že kdaj videli saharski puščavski prah, ki pri vertikalnem dviganju zračnih mas lahko doseže celo amazonski pragozd.

Nekateri mikrobiologi govorijo o »atmosferskem biomu« kot ločenem globalnem ekosistemu z živahno aktivnostjo mikroorganizmov, ki bi se v tem okolju lahko celo razmnoževali. Čeprav je lahko atmosfera izredno pomemben medij za prenos mikroorganizmov, pa nam mikrobiologija zraka ponuja še veliko neznank.

Da lahko bakterije izkoriščajo atmosfero, morajo biti sposobne prehoda v aerosolno fazo, prenosa in preživetja po zraku ter depozicije nazaj na površino. O teh pojavih še vedno vemo premalo. Opazovanje sposobnosti aerosolizacije mikroorganizmov (tj. prenos mikroorganizma iz tekoče oz. trdne faze v plinasto) je v dosedanjih raziskavah večinoma omejeno na laboratorijske razmere in umetna okolja (čistilne naprave, bazeni), pri katerih ne dobimo vpogleda v sposobnost aero-



Ob vrtenju rotorja in rezila se skozi odprtine na obeh koncih bobna sesa zrak in tako enakomerno porazdeljuje aerosole na trakasti nosilec (strip).

solizacije mikroorganizmov v naravnem okolju. Eden takšnih primerov naravnega okolja je visokogorski slap. Zaradi padanja vode v globino in njenega mešanja ob padcu nastajajo vodne kapljice, v katere se lahko ujamejo mikroorganizmi, ki se lahko tako z zračnim tokom prenesejo iz vodnega okolja na novo površino. Tako smo pri raziskavi v okviru diplomske naloge avtorja v sodelovanju skupine za limnologijo Biotehniške fakultete in Lapanjevega laboratorija Inštituta za metagenomiko in mikrobne tehnologije predvidevali, da lahko slap služi kot lokalni aerosolizator. Ker se le-ta napaja s precipitacijo v gorah, lahko opazujemo povezavo med že aerosoliziranimi bakterijami v oblakih, ki padajo s padavinami na površje, in njihovo ponovno sposobnostjo aerosolizacije.

Glavni namen raziskave je bil ugotoviti, katere bakterije ob precipitaciji v gorah

svojo strmo pot navzdol nadaljujejo s potoki in nato ob prehodu v slap ujete v vodne aerosole vstopijo nazaj v atmosfero. Tako smo ugotovljali, ali bakterije, ki so s padavinami zapustile oblake, lahko iz vode s pomočjo aerosolov slapov ponovno vstopijo v atmosfero. To nam je narekovalo, da smo vzorčili vodo oz. sneg nad slapom, vodo iz tolmana slapu ter zrak pri slapu. Zanimalo nas je tudi, ali obstajajo razlike med bakterijami, da se torej nekatere bolje aerosolizirajo kot druge.

Terensko delo smo opravljali v Zgornjesoški dolini, na slapu Kozjak pri Kobaridu, v katerega potok z istim imenom se izteka kanalizacija štirih manjših vasi, in na slapu Parabola potoka Fratarice pri Logu pod Mangartom, kjer ni neposrednega človekovega vpliva. Pri organsko obremenjenem slapu smo pričakovali drugačno bakterijsko sestavo kot pri neobremenjenem.

Opravili smo štiri terenska vzorčenja vode, snega in zraka – dvakrat spomladi leta 2009 in dvakrat pozimi naslednjega leta. Tako smo čas vzorčenja prilagodili času, ko je temperatura vode bolj (pozimi) in manj (spomladi) pomemben dejavnik pri pojavnosti bakterij. Pri Paraboli nas je zanimal tudi vpliv taljenja spomladanskega snega na bakterijsko sestavo vode in aerosolov. Želeli smo tudi ugotoviti, katere bakterije se bolje aerosolizirajo.



V rdeči vrtljivi bobni, ki se z magnetom pritrdi na vzorčevalnik zraka RCS High Flow, se na terenu vstavi plastični nosilec gojišča za bakterije, na katerem je medij za vzorčenje.



Februarsko vzorčenje zraka pri Paraboli. Pomagali smo si tudi z bencinskim generatorjem za polnjenje baterij vzorčevalnika zraka.



Vzorčenje zraka z napravo RCS High flow in merjenje atmosferskih parametrov z meteorološko postajo pri slapu Kozjak.

Pri vzorčenju aerosolov smo uporabljali t. i. napravo RCS High Flow, ki vsebuje rotor z vgrajenim fiksnim propelerjem, kar ob vrtenju povzroča sesanje zraka skozi odprtine rotorja in enakomerno razporejanje ujetih delcev na za to posebej oblikovan trakasti plastični nosilec gojišča za bakterije (strip). Povzorčeni staljeni sneg in vodo smo po prihodu v laboratorij nacepili na različna gojišča.

Za dokazovanje hipoteze, da se bakterije, ujete v dež ali snežinke, lahko ponovno aerosolizirajo, je bilo treba poiskati enake bakterijske vrste v snegu, vodi in zraku. To smo ugotavljali z računalniškim programom, ki sorodnost organizmov ugotavlja preko izračunavanja evolucijske razdalje na podlagi rezultatov izračuna sorodnosti na nivoju 16 S rRNA gena.



Pri vzorčenju zraka so na trakastih nosilcih zrasle bakterijske kolonije, ki smo jih nato precepili in gojili na različnih gojiščih.

Izolirani bakterijski sevi so si morali biti med seboj čim bolj sorodni ali pripadati isti vrsti, saj to pomeni, da imajo enake fiziološke odzive na okolje.

V okviru vzorčenj smo izolirali 649 sevov iz 50 različnih rodov. Pri skupno petih

primerih pri obeh slapovih nam je hipotezo uspelo potrditi. Majsko vzorčenje pri Paraboli je pokazalo, da je bil na vseh vzorčnih mestih prisoten *Pseudomonas* z izstopajočim višjim številom iz vzorca v snegu. *Pseudomonas* spada med bakterije, prilagojene na ekstremne razmere, ki so sposobne preživetja in mogoče celo razmnoževanja v snegu in ledu. Uspeli so ga namreč izolirati celo iz 750.000 let starega ledu. Pri marčevskem vzorčenju pri Kozjaku sta hipotezo potrdila *Flavobacterium* in *Janthinobacterium*. Bakterije iz rodov *Flavobacterium*, *Chryseobacterium* in *Pseudomonas* bi lahko imele dobre sposobnosti aerosolizacije, saj so imele visoke vrednosti sevov v vzorcih zraka; predvsem pri slednjem je bilo znotraj rodu skupno iz zraka izoliranih kar 43 % sevov. V naboru izoliranih rodov so se v vzorcih iz obeh slapov znašle tudi nekatere enterobakterije: *Serratia*, *Erwinia* in *Shigella*, ki so potencialno patogene bakterije. Kljub skromnemu številu vseh sevov pri Kozjaku prevladuje pojavnost enterobakterij, katerih izvora bi najverjetneje lahko bila izliv kanalizacije v potok in izpiranje iz pašnikov. Organsko onesnaževanje vode na območjih, iz katerih se ta steka v slapove, bi torej lahko pospeševalo širjenje patogenov po zraku. *Serratia* se je pojavila tudi pri obeh vzorčenjih Parabole. Nekateri človeški in tudi rastlinski patogeni naj bi imeli visoke sposobnosti aerosolizacije, saj na tak način uspešno kolonizirajo nove gostitelje. Torej bi *Serratia* do Parabole lahko prišla tako kot številne ostale vrste preko padavin, zračnih tokov ali pa iz odmrlih živali oziroma njihovih iztrebkov iz višje ležečih predelov.

Enterobakterije so sicer velika skupina po Gramu negativnih paličastih bakterij. So širše prisotne, tudi v celinski ter slani vodi in v zemlji, v splošnem pa so del normalne mikrobne flore ljudi in živali. Veliko vrst enterobakterij se nahaja v črevesju, od koder so tudi dobile ime. Mednje uvrščamo tudi »bolj znane« bakterije, npr. salmonele (*Salmonella*) in *E. coli*.

Številni mikroorganizmi se pojavljajo po celem planetu, vremenski pojavi pa jim služijo kot vektor za osvajanje novih območij. Pojavljanje nekaterih rodov, izoliranih med raziskavo, je potrjeno tudi z Mount Everesta, Antarktike, japonskega gorovja Tateyama, bolivijskih Andov itd. Študijo bi bilo zanimivo razširiti na vzorčenje iz zračnih balonov ali pa ugotavljati bakterijsko vsebnost aerosolov slapov v velikih jamskih sistemih. ✨