

## Grzyby keratynofilne w osadach dennych wód powierzchniowych

KRZYSZTOF ULFIG

Instytut Ochrony Środowiska w Katowicach

Ulfig K.: (Institute of Environmental Protection Environmental Pollution Abatement Centre, Kossutha 6, 40-832 Katowice). *Keratinophilous fungi in the sediments of the surface waters bottoms*. Acta Mycol. 23 (2): 3-11, 1987 (1990).

The sediments of rivers, ponds, artificial lakes and sewage were examined for keratinophilic fungi. The depended on the degree of waters contamination with the communal and industrial sewage.

### WSTĘP

Grzyby odgrywają potencjalnie ważną rolę zarówno w ekosystemach lądowych, jak i wodnych. Mają również pewne znaczenie, zwłaszcza gatunki geofilne, w procesach oczyszczania ścieków i jako mikroorganizmy wskaźnikowe w badaniach stopnia zanieczyszczenia wód i zmian eutrofizacji (Ulfig 1983).

Doniesienia na temat występowania geofilnych grzybów keratynofilnych w środowisku wodnym są nieliczne. Grzyby te reprezentowane są w ściekach, osadzie czynnym i wodach zanieczyszczonych przez *Trichosporon cutaneum* (de Beurm, Gougeot et Vaucher) Ota. Z zanieczyszczonych i eutroficznych wód powierzchniowych oraz z osadów ściekowych izolowano również dermatofity geofilne, przedstawiciele rodzaju *Chrysosporium* i inne grzyby (Bertoldi 1981; Šimordová, Hejtmanek 1969; Tomlinson, Williams 1975; Ulfig 1981; Ulfig, Korcz 1983; Woollett i in. 1970).

Grzyby keratynofilne występują w suchych lub okresowo zalewanych wodą siedliskach brzegu morskiego (Pugh, Mathison 1962; Dominik, Majchrowicz 1965; Todaro 1978; Schneider 1969). Nie udało się jednak wyodrębnić dermatofitów z morskich piasków dennych (Gip, Paldrok 1966).

Pilotowe badania nad występowaniem grzybów keratynofilnych, przede wszystkim dermatofitów geofilnych i *Chrysosporium*, w osadach dennych wód śródlądowych przeprowadził Ulfig (1983). Stwierdził, że w osadach dennych wód silnie zanieczyszczonych ściekami grzyby keratynofilne występowały liczniej niż w osadach dennych wód o mniejszym stopniu zanieczyszczenia. Wysunął przypuszczenie, że grzyby te mogą być swoistymi wskaźnikami zanieczyszczenia wód. Celem niniejszej pracy było uchwycenie na podstawie obszerniejszego materiału badawczego zależności pomiędzy wzrostem i składem mikoflory keratynofilnej w osadach dennych a stopniem zanieczyszczenia wód powierzchniowych.

Składam serdeczne podziękowania Państwu: U. Komander, G. Filosek, H. Góreckiej; I. Błachucińskiej oraz J. Švachowi za techniczną pomoc w przygotowaniu niniejszej pracy.

#### MATERIAŁ I METODY

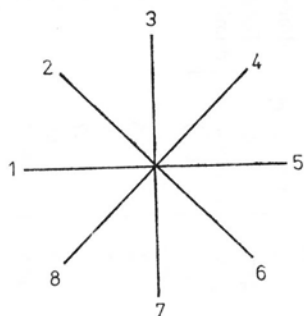
Badaniami mikologicznymi objęto osady denne: zbiorników zaporowych Rybnik, Przeczyce i Pławniowice; rzek Kłodnicy, Czarnej i Białej Przemszy oraz Wisły; a także eutroficznych stawów i kanału ściekowego. Osady denne pobierano najczęściej ze stref brzegowych, łącznie z 28 stanowisk o różnym stopniu zanieczyszczenia ściekami komunalno-przemysłowymi. Na podstawie fizyczno-chemicznych i bakteriologicznych analiz wód strefy nadosadowej, głównie w oparciu o BZT<sub>5</sub>, tlen rozpuszczony, zawartość zawiesiny i miano *coli* typu fekalnego, zaklasyfikowano stanowiska poboru wód i osadów dennych do odpowiednich klas czystości dla wód powierzchniowych:

- |                        |                                                 |
|------------------------|-------------------------------------------------|
| I klasa                | — wody czyste, nie zanieczyszczone ściekami     |
| II klasa               | — wody nieznacznie zanieczyszczone              |
| III klasa i poza klasą | — wody zanieczyszczone i silnie zanieczyszczone |

Grzyby keratynofilne izolowano z osadów dennych metodą przynęty włosowej — To-Ka-Va (Benedek 1961; Vanbreuseghem 1952), którą szczegółowo omówiono wcześniej w pracy Ulfiga (1983).

Wyniki mikologicznych badań osadów dennych z poszczególnych stanowisk ich poboru podzielono na 4 grupy odpowiadające klasom czystości dla wód powierzchniowych. Różnice, jakie zachodziły w składzie mikoflory keratynofilnej osadów dennych wód o różnym stopniu zanieczyszczenia wykazano wskaźnikami wzrostu grzybów: częstością ich występowania w odniesieniu do liczby inkubowanych prób (%), stwierdzoną liczbą gatunków i pojawów, wskaźnikiem LPP, czyli liczbą pojawów przypadającą na próbę (szalkę) ze stwierdzonym wzrostem tych grzybów.

Częstości pojawów dominujących w osadach dennych grzybów zilustrowano diagramem (ryc. 1.). Metoda jego wyznaczania polega na odcinaniu na



Ryc. 1. Osie odpowiadają następującym gatunkom

Axis correspond with the following species

1 — *T. terrestre* complex; 2 — st. dosk. *A. quadrifidum*; 3 — *C. indicum*; 4 — *C. pruinatum*; 5 — *T. ajelloi*;  
6 — *C. keratinophilum*; 7 — *C. pannicola*; 8 — *M. gypseum* complex

odpowiednich osiach procentowej częstości pojawów gatunków obliczonej w stosunku do liczby prób ze stwierdzonym wzrostem grzybów keratynofilnych. Po połączeniu wyznaczonych punktów powstaje charakterystyczna dla danej grupy stanowisk (klasy czystości wód) figura geometryczna.

## WYNIKI

Badane osady denne charakteryzowały się dobrym wzrostem grzybów keratynofilnych (tab. 1). Na ogólną liczbę 467 prób ich wzrost obserwowano w 325 próbach (69,6 %). Łącznie stwierdzono 743 pojawy grzybów z 18 gatunków. Najczęściej występowały: *Trichophyton ajelloi*, *T. terrestre* complex (st. dosk. *Arthroderma quadrifidum*), *Chrysosporium keratinophilum*, *C. pannicola*, *C. pruinatum*, *Microsporum gypseum* complex i *C. indicum*.

Osady denne wód czystych i nieznacznie zanieczyszczonych (I i II klasa) charakteryzował wyraźnie słabszy wzrost grzybów keratynofilnych niż osady denne wód zanieczyszczonych ściekami (III klasa i poza klasą). Wyrażało się to niższymi wartościami wskaźników wzrostu grzybów (ryc. 2).

Pomiędzy osadami dennymi wód I i II klasy czystości różnice we wskaźnikach wzrostu grzybów były niewielkie. W osadach dennych wód zanieczyszczonych stwierdzono zbliżoną liczbę gatunków, wskaźniki LPP były podobnej wielkości; w osadach dennych wód silnie zanieczyszczonych ściekami (poza klasą) wyższa była jednak częstość występowania grzybów.

Z pokroju diagramów (ryc. 3) wynika, że skład ilościowy dominujących w osadach dennych gatunków grzybów keratynofilnych uzależniony był również od stopnia zanieczyszczenia wód powierzchniowych. Na włosach wyłożonych na osadach dennych wód czystych i nieznacznie zanieczyszczonych często rozwijała się monokultura *Trichophyton terrestre* ze st. dosk. *Arthroderma*

Tabela 1 — Table 1

Grzyby keratynofilne w osadach dennych wód o różnym stopniu zanieczyszczenia  
Keratinophilous fungi in the sediments of the waters bottoms with various degree of pollution

Klasy czystości wód — Classes of water clearness Liczba inkubowanych prób (szalek) — Number of incubated samples Liczba prób ze wzrostem grzybów — Number of samples with the growth of fungi Grzyby — Species	I		II		III		Poza klasa Beyond class	Razem Total	Częstość pojawów Frequency of appearances (%)	Szereg dominacji Serie of dominations
1. <i>Microsporium canis</i> Bodin	—	—	—	—	—	—	2	2	0,6	18
2. <i>M. cookei</i> Ajello	—	—	—	—	2	—	1	3	0,9	16
3. <i>M. gypseum</i> complex (Bodin) Guiart et Grigorakis	—	—	—	—	1	1	24	25	7,7	7
4. <i>M. persicolor</i> (Sab.) Guiart et Grigorakis	—	—	—	—	2	—	—	2	0,6	19
5. <i>Trichophyton ajelloi</i> (Vanb.) Ajello	7	5	42	—	—	—	111	165	50,7	1
st. dosk. <i>Arthroderma uncinatum</i> Dowson et Gentles	—	—	—	—	—	—	3	3	0,9	17
6. <i>T. terrestre</i> complex Durie et Frey	18	34	16	—	—	—	62	130	40,0	2
st. dosk. <i>Arthroderma quadrifidum</i> Dowson et Gentles	11	22	6	—	—	—	16	55	16,9	6
7. <i>Chryso sporium</i> st. kon. <i>Arthroderma curreyi</i> Berk.	4	—	1	—	—	—	12	17	5,2	10
8. <i>Chryso sporium</i> st. kon. <i>Arthroderma multifidum</i> Dawson	—	—	8	—	—	—	—	8	2,4	13
9. <i>Chryso sporium</i> st. kon. <i>Ctenomyces serratus</i> Eidam	—	—	2	—	—	—	13	15	4,6	12
10. <i>Chryso sporium indicum</i> (Randh. et Sandhu) Garg	2	6	9	—	—	—	4	21	6,4	8
st. dosk. <i>Aphanoascus terreus</i> (Randh. et Sandhu) Apinis	—	1	4	—	—	—	1	6	1,8	15
11. <i>Chryso sporium keratinophilum</i> D. Frey ex Carm.	1	2	26	—	—	—	83	112	34,4	3
12. <i>C. pannicola</i> (Corda) van Oorshot et Stalpers	3	8	31	—	—	—	34	76	23,4	4
13. <i>C. pannorum</i> (Link) Hughes	—	2	5	—	—	—	13	20	6,1	9

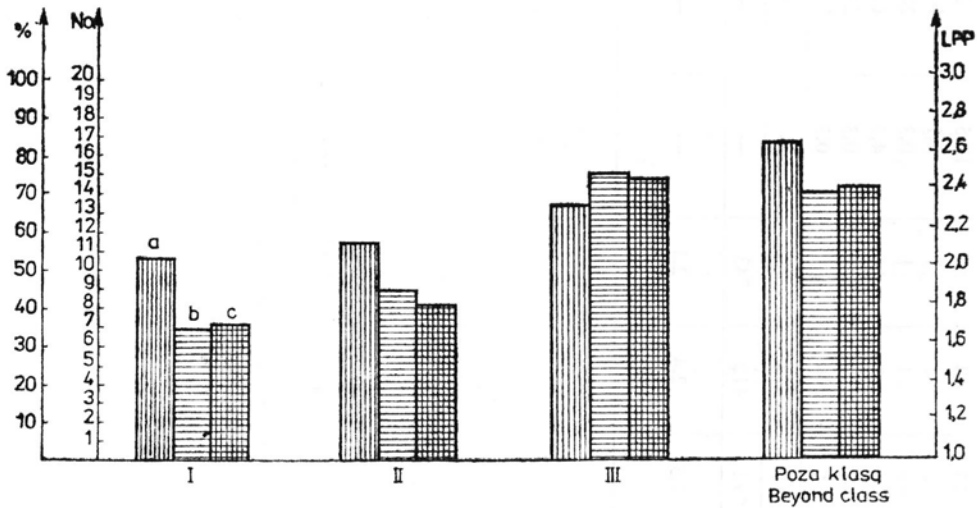
14. *C. pruinatum* (Gilman et Abbott) Carm.  
st. dosk. *Amixtopsis stercoraria* Hansen
15. *C. tropicum* Carm.
16. *Chrysosporium* spp.
17. *Gymnoascaceae* indet.
18. *Malbranchea* sp.

Liczba gatunków — Number of species

Liczba pojawów — Number of appearances

LPP =  $\frac{\text{Liczba pojawów} - \text{Number of appearances}}{\text{Liczba prób ze wzrostem grzybów} - \text{Number of samples with the growth of fungi}}$

4	3	26	24	57	17,5	5
—	—	6	1	7	2,1	14
—	—	—	1	1	0,3	20
—	5	4	7	16	4,9	11
—	1	—	—	1	0,3	21
—	—	1	—	1	0,3	22
7	9	15	14	18	—	9
50	89	192	412	743	—	—
1,7	1,8	2,5	2,4	2,3	—	—



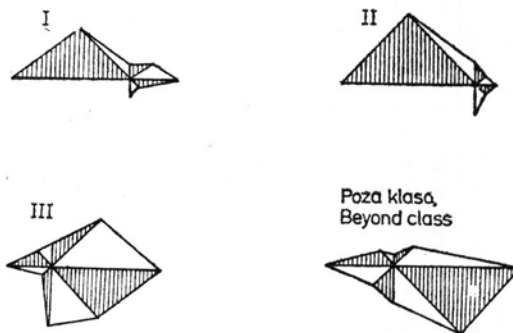
Ryc. 2. Wskaźniki wzrostu grzybów keratynofilnych w osadach dennych wód o różnym stopniu zanieczyszczenia

I, II, III — klasy czystości wód; a — częstość występowania(%); b — liczba gatunków; c — LPP

Indices of keratinophilous fungi growth in the sediments of the waters bottoms with various degree of pollution

I, II, III — classes of water clearness; a — frequency of appearances(%); b — number of species; c — LPP

*quadrifidum*. Inne grzyby rzadko były spotykane w tych osadach. Osady dennie wód zanieczyszczonych ściekami charakteryzowały się intensywnym wzrostem *Trichophyton ajelloi* i *Chrysosporium*, zwłaszcza *C. keratinophilum*. *Chrysosporium pannicola* i *C. pruinosum* występowały częściej w osadach dennych



Ryc. 3. Częstości pojawów dominujących grzybów keratynofilnych w osadach dennych wód o różnym stopniu zanieczyszczenia

I, II, III — klasy

Frequency of appearances of keratinophilous fungi dominating in the sediments of the waters bottoms with various degree of pollution

I, II, III — classes

wód III klasy czystości. W porównaniu z osadami dennymi wód I i II klasy czystości częstości pojawów w osadach dennych wód zanieczyszczonych *T. terrestre* i *A. quadrifidum* były mniejsze. *Microsporium gypsum* i *M. cookei* izolowano wyłącznie z tych osadów.

Wyizolowane z osadów dennych grzyby w większości są saprofitami rzadko wywołującymi grzybicę u ludzi i zwierząt, np. *Microsporium gypsum*. Z osadów dennych wód zanieczyszczonych wyodrębniono jednak dwa gatunki dermatofitów chorobotwórczych: zoofilnego *M. canis* i stojącego na pograniczu zoo- i geofilnej grupy dermatofitów *M. persicolor* (UAMH 4857 = CDC 84-032066), wcześniej błędnie oznaczonego do ziarnistej barwnej odmiany *Trichophyton mentagrophytes* var *mentagrophytes* (Robin) Blanchard (Uifig 1983).

#### DYSKUSJA

Pojawia się zasadniczy problem, czy wyniki uzyskane metodą To-Ka-Va odzwierciedlają rzeczywisty obraz rozwoju grzybów keratynofilnych w osadach dennych, czy tylko nagromadzenie się w tym materiale pewnej liczby zarodników, które w środowisku wodnym nie wykazują wzrostu, ale odwodnienie osadów uaktywnia je, dzięki czemu grzyby te „łapią się” na założoną przynętę włosową. Majchrowicz i Dominik (1968) wysunęli hipotezę, że keratynę włosów atakują bezpośrednio i szybko tylko te grzyby, które występują w glebie w postaci aktywnej grzybni, mogącej wytwarzać zewnątrzkomórkowe enzymy (keratynazy z grupy proteinaz) rozkładające ten substrat. „Wykrycie” keratyny przez pojedyncze nieaktywne zarodniki jest trudne; ich wzrost musi być pobudzony przez czynniki środowiskowe, m.in. przez produkty rozkładu włosów. Zgodnie z powyższą hipotezą można przyjąć, że szybki i obfity wzrost grzybów keratynofilnych na włosach przynęty jest konsekwencją procesów wzrostu tych mikroorganizmów w osadach dennych, w których reprezentowane są prawdopodobnie przez aktywną grzybnię.

Badania potwierdziły wniosek, że grzyby keratynofilne mogą być swoistą grupą mikroorganizmów wskaźnikowych, gdyż intensywność ich wzrostu oraz skład ilościowy i jakościowy w osadach dennych były uzależnione od stopnia zanieczyszczenia wód ściekami komunalno-przemysłowymi.

Silniejszy wzrost grzybów keratynofilnych w osadach dennych wód zanieczyszczonych można wytłumaczyć następującymi czynnikami. Wody te niosą poważne i skumulowane w znacznym procencie w opadającej zawieszinie ładunki materii organicznej, w tym keratynowej, stanowiącej substrat dla grzybów keratynofilnych. Najbardziej prawdopodobnymi drogami przedostawania się zarodników tych grzybów do wód powierzchniowych są spływ terenowy i dopływ ścieków komunalnych. Grzyby te mogą przypuszczać

rozprzestrzeniać się drogą wodną na znaczne odległości. W osadach dennych wód eutroficznymi i zanieczyszczonymi, bogatymi w składniki odżywcze, grzyby keratynofilne mogą znaleźć dogodne warunki ekologiczne do swego rozwoju.

Nasuwa się pewne analogie pomiędzy składem grzybów keratynofilnych w glebach krajowych i glebach naszej strefy klimatycznej (Chmel i in. 1972) a składem w osadach dennych. W siedliskach bogatych w materię organiczną *Trichophyton ajelloi* był dominantem. *Microsporium gypseum* preferowało nisze uboższe o najwyższej jej zawartości, nigdy jednak nie występowało tak licznie jak w niektórych glebach. *Arthroderma multifidum* spotykana była w siedliskach o wysokiej zawartości materii organicznej; *T. terrestre* izolowano częściowo z siedlisk uboższych w nią. Różnica polegałaby na tym, że w przeciwieństwie do gleby występowanie *Chrysosporium* w osadach dennych uzależnione jest od ich stopnia zanieczyszczenia materią organiczną ze ścieków.

Na podstawie porównania flory grzybów keratynofilnych w glebach sprzyjających ich wzrostowi oraz osadach dennych można przypuszczać, że ekologiczne mechanizmy regulujące skład ilościowy i jakościowy tych grzybów mogą być w obydwu środowiskach podobne. Potwierdzałoby to hipotezę, że grzyby keratynofilne rozwijają się w osadach dennych biorąc udział w zachodzących tam procesach biochemicznych.

Ważnym czynnikiem wpływającym na wzrost i skład mikoflory keratynofilnej jest natlenienie wód i osadów dennych. Badania (Ulfig 1986 a) wykazały, że brak tlenu w ściekach warstwy nadosadowej znacznie ograniczał, lecz nie uniemożliwiał późniejszego wzrostu grzybów na włosach wyłożonych na odwodnionych osadach dennych. Nawet nieduże stężenia tlenu w ściekach już w ciągu doby pobudzały grzyby keratynofilne do intensywnego wzrostu na włosach przynęty, poszerzały znacznie skład gatunkowy izolowanych szczepów. Wydaje się, że zjawisko takie nie byłoby możliwe, gdyby grzyby te reprezentowane były w osadach dennych tylko przez nieaktywne zarodniki, które w krótkim czasie nie zdążyłyby rozwinąć się w aktywną grzybnię.

Wyizolowanie z osadów dennych grzybów chorobotwórczych, pochodzących przypuszczalnie z doprowadzanych ścieków, stanowi dodatkowy element sanitarnego zagrożenia badanych wód. Ze wstępnych badań nad wzrostem i przeżywalnością zoo- i geofilnych dermatofitów w osadach dennych (Ulfig 1986 b) wynika, że *Trichophyton mentagrophytes* var. *mentagrophytes* oraz *Microsporium persicolor* mogą prawdopodobnie wykazywać w tym środowisku aktywność saprofityczną. Silny wzrost tych chorobotwórczych dermatofitów na włosach wyłożonych na osadach dennych oraz długi czas przeżywalności, często przekraczający okres roku, mogą świadczyć o tym, że grzyby te uzyskują w osadach dennych biocenotyczne warunki bardziej sprzyjające aniżeli w glebie i osadach ściekowych oraz napotykać mniejszą konkurencję



antybiotyczną. Dalsze badania w tym kierunku mogą rzucić pewne światło na problem przejścia grzybów keratynofilnych z saprofitycznego na pasożytniczy tryb życia.

#### WNIOSKI

1. Grzyby keratynofilne można uważać za swoistą grupę mikroorganizmów wskaźnikowych: intensywność ich wzrostu oraz skład ilościowy i jakościowy w osadach dennych uzależnione są od stopnia zanieczyszczenia wód ściekami komunalno-przemysłowymi.

2. Dotychczasowe wyniki badań świadczą za przyjęciem hipotezy wzrostu i udziału grzybów keratynofilnych w zachodzących w osadach dennych procesach biochemicznych.

3. Osady denne stref przybrzeżnych wód powierzchniowych mogą być dodatkowym lub przypadkowym rezerwuarem grzybów chorobotwórczych z grupy dermatofitów zoo- i geofilnych.

#### LITERATURA

- Benedek T., 1961, *Fragmenta Mycologica*. I. Some historical remarks on the development of „hairbaiting” of *Toma-Karling-Vanbreuseghem* (The To-Ka-Va Hairbaiting Method). *Mycopathol. Mycol. Appl.* 35: 104-106.
- Bertoldi de M., 1981, Pathogenic fungi associated with land application of sludge. World Health Organization, Regional Office for Europe.
- Chmel L., Hasiliková A., Hraško J., Vláciliková A., 1972, The influence of some ecological factors on keratinophilic fungi in the soil. *Sabouraudia* 13: 185-191.
- Dominik T., Majchrowicz I., 1965, Second contribution to the knowledge of keratinolytic and keratinophilic soil fungi in the region of Szczecin. *Ekol. Pol. A* 13: 415-447.
- Gip L., Paldrok H., 1966, Isolation of dermatophytes from beach sand on the west coast of Sweden. *Acta Derm. Vener.* 46: 78-81.
- Majchrowicz I., Dominik T., 1968, Third contribution to the knowledge of keratinolytic and keratinophilic soil fungi in the region of Szczecin. *Ekol. Pol. A* 16: 121-145.
- Pugh G.J.F., Mathison G.E., 1962, Studies on fungi in coastal soils. III. An ecological survey of keratinophilic fungi. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 45: 567-572.
- Schneider J., 1969, Über Niedere Pilze der wistlichen Ostsee. *Ber. Deutch. Bot. Ges.* 81: 369-374.
- Šimordová M., Hejtmanek M., 1969, Výskyt dermatofytu u pudě a vodach aglomerace Gottwaldov. *Českosl. Hyg.* 14: 89-96.
- Todaro F., 1978, Indagine sui funghi cheratinofili come fattori inquinanti delle spiagge. 1, 2. *Nuovi Ann. Ig. Microb.* 29: 347-352, 491-498.
- Tomlinson T.G., Williams L.L., 1975, In: Curds C.R., Hawkes H.A., *Fungi*, Vol. 1, Academic Press, London.
- Ulfig K., 1981, Contribution to the knowledge of dermatophytes flora in sewage sludge. *Rocz. PZH* 32: 285-289.
- Ulfig K., 1983, Badania wstępne nad występowaniem dermatofitów i innych grzybów keratynofilnych w osadach dennych rzek i zbiorników. *Acta Mycol.* 19: 331-340.
- Ulfig K., 1986a, Wpływ napowietrzania ścieków na wzrost dermatofitów i innych grzybów keratynofilnych w osadach dennych. *Rocz. PZH*, 37: 154-159.

- Ulfig K., 1986b, Wstępne badania wzrostu i przeżywalności wybranych dermatofitów chorobotwórczych na osadach dennych i ściekowych. *Rocz. PZH*, 37: 335-340.
- Ulfig K., Korcz M., 1983, Isolation of keratinophilic fungi from sewage sludge. *Sabouraudia* 21: 247-250.
- Vanbreuseghem R., 1952, Technique biologique pour l'isolement des dermatophytes du sol. *Ancn. Soc. Belg. Med. Trop.* 32: 173.
- Woollett L. L., Hedrick L.R., Mae-Goodwin T., 1970, A statistical evaluation of the ecology of yeasts in polluted river. *J. Microb. Serol.* 36: 437-444.