

# GRZYBY NITKOWATE I DROŹDŻOIDALNE W WODZIE I OSADACH DENNYCH CZARNEJ HAŃCZY JAKO BIOINDYKATORY ZANIECZYSZCZEŃ ANTROPOGENICZNYCH

**Stanisław NIEWOLAK, Ewa KORZENIEWSKA,  
Anna GOTKOWSKA-PŁACHTA**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Katedra Mikrobiologii Środowiskowej

*Słowa kluczowe: grzyby drożdżoidalne, grzyby nitkowate, osady denne, rzeka, woda*

## Streszczenie

Przeprowadzono badania liczebności grzybów nitkowatych i drożdżoidalnych w wodzie i osadach dennych Czarnej Hańczy na odcinku od miejscowości Stary Bród (przed Suwałkami) do miejscowości Wysoki Most, na krańcach Wigierskiego Parku Narodowego. Określano również ich liczbę w ściekach oczyszczonych, odpływających z oczyszczalni w Suwałkach. Na podstawie liczebności tych drobnoustrojów (zwłaszcza grzybów drożdżoidalnych) w wodzie wyróżniono dwa odcinki rzeki – jeden do jej ujścia do jeziora Wigry (suwalski) i drugi – od jej ujścia z tego jeziora (wigierski). Pierwszy odcinek rzeki charakteryzował się dużą liczebnością badanych drobnoustrojów, zwłaszcza grzybów drożdżoidalnych, w ciągu całego okresu badawczego (od czerwca do listopada), z maksimum w miesiącach czerwiec i sierpień oraz mniejszym pikiem w listopadzie. Na drugim występowała średnio 2-krotnie mniejsza liczebność grzybów nitkowatych i kilkakrotnie mniejsza liczebność grzybów drożdżoidalnych w wodzie. Piaszczyste osady denne Czarnej Hańczy charakteryzowały się mniejszą liczebnością badanych drobnoustrojów niż osady muliste. Na przestrzenne rozmieszczenie grzybów nitkowatych i drożdżoidalnych mogą mieć wpływ wprowadzane do rzeki oczyszczone ścieki z oczyszczalni w Suwałkach i zanieczyszczenia ze zlewni podczas opadów burzowych oraz rozcieńczenie mas wodnych przez jeziora Wigry i Postaw. Udział grzybów barwnych w ogólnej liczbie tych drobnoustrojów, zmienny w zależności od czasu i miejsca poboru prób, był mniejszy w osadach dennych, większy zaś w wodzie Czarnej Hańczy.

## WSTĘP

Grzyby nitkowate i drożdżoidalne odgrywają istotną rolę w ekosystemach glebowych i wodnych. Biorą udział nie tylko w rozkładzie i mineralizacji substancji organicznej oraz przemianach związków mineralnych [STERFLINGER, 2000], lecz również w syntezie substancji organicznej i biologicznie czynnych związków (aminokwasy, witaminy i in.), wykorzystywanych przez organizmy wyższe [NOVOŽILOVA, 1970]. Uczestnicząc w procesach biogeochemicznych, związanych z akumulacją pierwiastków biogennych w substancji organicznej ekosystemu i w ich biomacie, regulują obieg węgla, azotu, fosforu i siarki w środowisku, udostępniając je roślinom w przyswajalnej formie [SMYK, 1984]. Typowo glebowe gatunki grzybów z rodzaju *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Trichoderma* *Cladosporium* wytwarzają różne kwasy organiczne (octowy, szczawiowy, cytrynowy, mrówkowy, fumarowy, glioksalowy, glukonowy, w mniejszym stopniu winowy) rozpuszczających trudno rozpuszczalne związki mineralne fosforu (fosforany wapnia, magnezu, glinu, żelaza), co ma znaczenie w odżywianiu się roślin. Glinokrzemiany i krzemiany są również łatwo rozkładane przez te drobnoustroje. Niektóre (*Trichoderma*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium*, niektóre drożdże), utleniając siarkę i jej związki do kwasu siarkowego, zakwaszają środowisko, co sprzyja pobieraniu fosforu przez rośliny. Acidofilne drożdże z rodzaju *Rhodotorula* występują często w towarzystwie bakterii tlenowych (*Thiobacillus ferrooxidans*) utleniających  $\text{FeSO}_4$  w glebie i dostarczają im witamin z grupy B. Grzyby nitkowate i drożdżoidalne, dzięki zdolnościom biosorpcyjnym w stosunku do Fe, Ni, Zn, Ag, Cu, La, Pb, Cr, Mo [GADD, 1990], mogą chronić zwierzęta i rośliny przed zbyt toksycznymi ilościami tych metali w różnych ekosystemach w glebie, osadach dennych zbiorników, wodzie itp., kumulując te pierwiastki [STERFLINGER, 2000].

Grzyby nitkowate i drożdżoidalne można znaleźć w różnych ekosystemach (w wodzie, osadach dennych, ściekach). Głównym źródłem tych drobnoustrojów są gleby uprawne, zwłaszcza nawożone obornikiem lub kompostem, oraz ścieki bytowo-gospodarcze, z przemysłu rolno-spożywczego i celulozowo-papierniczego, bogate w białko i węglowodany. Ścieki bytowo-gospodarcze nawet po oczyszczeniu mogą zawierać jeszcze dość pokaźną ilość grzybów nitkowatych i drożdżoidalnych [COOKE, 1987; FILIPKOWSKA, GOTKOWSKA-PŁACHTA, KORZENIEWSKA, 2008], w tym również potencjalnie chorobotwórczych z rodzaju *Candida* [DYNOWSKA, 1993]. Niepozbawione tych drobnoustrojów jest również powietrze, zwłaszcza w rejonie oczyszczalni ścieków [AMATO i in., 2007; FILIPKOWSKA i in., 2007a, b], skąd podczas opadów burzowych wraz z innymi aerozolami mogą przedostawać się do wód powierzchniowych. Podczas opadów burzowych do wód powierzchniowych drobnoustroje te mogą się przedostawać z drenażu lądowego gleb uprawnych, łąk, pastwisk, obszarów zabudowanych, ulic i placów w miastach.

Niektóre rodzaje grzybów drożdżoidalnych (*Candida*, *Torulopsis*, *Deuteromyces*, *Trichosporon*) były wykrywane częściej w wodach zanieczyszczonych [DY-

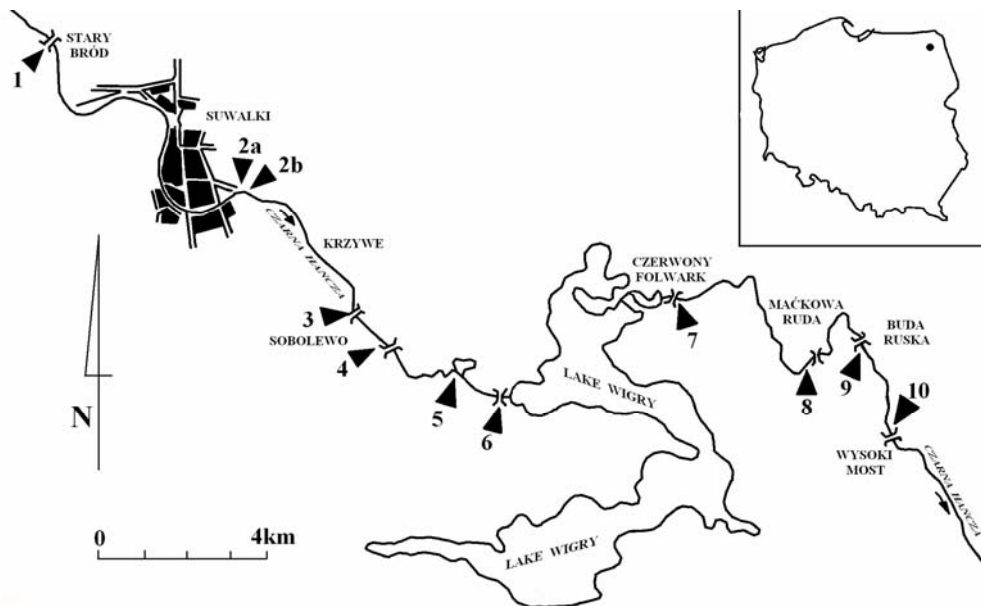
NOWSKA, 1993; MARIÑO i in., 1995a, b; MENDES i in., 1998], inne w mniej zanieczyszczonych (*Cryptococcus*, *Rhodotorula*) [DYNOWSKA, 1997; NIEWOLAK, 1976; VOGEL i in., 2007]. Sugeruje to możliwość zastosowania tych drobnoustrojów jako bioindykatorów czystości lub zanieczyszczenia wód powierzchniowych [DYNOWSKA, 1997; HAGLER, MENDONCA-HAGLER, 1981; NIEWOLAK i in., 2007]. Inne (*Candida krusei*, *Pichia membranaefaciens*), nierosnące w wodach o odczynie zasadowym i z małym stężeniem fosforu (czyli w warunkach niesprzyjających przeżywalności tych drobnoustrojów) mogą być wskaźnikiem świeżego zanieczyszczenia tego typu wód [HAGLER, MENDONCA-HAGLER, 1981]. Ogólna liczba grzybów nitkowatych i drożdżoidalnych w wodach powierzchniowych wydaje się być bardziej miarodajnym wskaźnikiem stopnia czystości wód niż oznaczanie określonych rodzajów i gatunków tych drobnoustrojów. Sugerowane w literaturze ilościowe oznaczanie w tym celu bardziej specyficznych grzybów drożdżoidalnych barwnych, podobnie jak wymienionych wyżej rodzajów i gatunków tych drobnoustrojów, może być opatrzone większym błędem z uwagi na dużą zmienność procentowego ich udziału w ogólnej liczbie tych drobnoustrojów w wodach powierzchniowych i w osadach dennych zbiorników [HAGLER, DE OLIVEIRA, MENDONCA-HAGLER, 1982; HAGLER, MENDONCA-HAGLER, 1981]. Publikowane dotychczas oceny mikrobiologicznego stopnia czystości Czarnej Hańczy oparte były na powszechnie przyjętych wskaźnikach bakteriologicznych [NIEWOLAK, 1998a, b]. W niniejszym opracowaniu przedstawiono ocenę stopnia zanieczyszczenia wody Czarnej Hańczy na podstawie liczebności grzybów (zwłaszcza drożdżoidalnych) i rolę jeziora Wigry w zmniejszeniu ilości zanieczyszczeń.

## MATERIAŁY I METODY BADAŃ

Rzeka Czarna Hańcza wypływa ze źródeł znajdujących się na Pojezierzu Wschodniosuwalskim. W górnym biegu przepływa przez stosunkowo czyste jezioro Hańcza (jezioro mezotroficzne) o głębokości 108,5 m. Na całej długości od źródeł do jeziora Wigry ma spadek typowy dla rzek górskich, a po wypłynięciu z jeziora wykazuje charakter rzeki nizinnej, o słabym nurcie. Według BAJKIEWICZ-GRABOWSKIEJ [1992], w górnym odcinku rzeki średni przepływ, mierzony przy ujściu do jeziora Wigry, wynosi  $1,39 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ . Podczas roztopów maksymalny przepływ wiosenny w kwietniu jest 2–3-krotnie większy. Drugie wezbranie, notowane we wrześniu lub w październiku, jest mniej wyraźne. Najmniejsze przepływy, notowane w styczniu i lutym oraz w sierpniu i z początkiem września, osiągają zaledwie 58% średniego przepływu rocznego. W górnym odcinku rzeki poniżej Suwałk zlokalizowana jest oczyszczalnia ścieków z III stopniem oczyszczania, odprowadzająca oczyszczane ścieki do rzeki oddzielnym kanałem. Do oczyszczalni tej dopływają zanieczyszczenia z miasta, łącznie  $16\text{--}18 \text{ tys. m}^3 \cdot \text{doba}^{-1}$ . Do Czarnej Hańczy odprowadzane są ścieki oczyszczone, zawierające:  $0,72 \text{ mg N-NH}_4 \cdot \text{dm}^{-3}$ ,

6,8 mg N-NO<sub>3</sub>·dm<sup>-3</sup>, 3,8 mg N-Kjeld.·dm<sup>-3</sup>, 1,1 mg P-og·dm<sup>-3</sup>. Wskaźniki zawartości materii organicznej odprowadzanych ścieków wynoszą: BZT<sub>5</sub> 7,7 mg O<sub>2</sub>·dm<sup>-3</sup>, ChZT 50 mg·dm<sup>-3</sup>, zawiesina ogólna 24 mg·dm<sup>-3</sup> (dane otrzymane z oczyszczalni w Suwałkach). Do kanalizacji miejskiej dopływają również podczyszczone w oczyszczalni biologicznej ścieki mleczarskie w ilości 2 tys. m<sup>3</sup>·doba<sup>-1</sup>.

**Pobieranie próbek.** Próbkę wody i osadów dennych Czarnej Hańczy (rys. 1) pobierano w środku koryta (w nurcie) co miesiąc na stanowiskach: 1. – w miejscowości Stary Bród, przy kładce przed Suwałkami, 2.a – poniżej Suwałk w odległości ok. 10 m powyżej rury kanalizacyjnej, którą odprowadzane są oczyszczone ścieki, 2.b – w odległości ok. 10 m poniżej dopływu oczyszczonych ścieków, 3. – w miejscowości Sobolewo przy I moście, 4. – w miejscowości Sobolewo przy II moście (koło młyna wodnego), 5. – w rejonie starorzecza Czarnej Hańczy, na terenie podmokłym i zalesionym, 6. – przy moście, ok. 100 m przed ujściem Czarnej Hańczy do jeziora Wigry, 7. – w miejscowości Czerwony Folwark przy moście w pobliżu jeziora Postaw, 8. – w miejscowości Maćkowa Ruda przy moście, 9. – w miejscowości Buda Ruska przy moście, 10. – w miejscowości Wysoki Most przy moście. Na stanowiskach 1., 5., 8.–11. dno było piaszczyste, 2.a, 2.b, 3. i 4. – kamieniste, 6. i 7. – ilasto-muliste. Próbkę wody do badań na tych stanowiskach pobierano do jałowych butelek o pojemności 300 cm<sup>3</sup> z doszlifowanym korkiem.



Rys. 1. Lokalizacja stanowisk na rzece Czarna Hańcza; 1, ..., 10 – stanowiska poboru próbek wody i osadów dennych

Fig. 1. Location sketch of the Czarna Hańcza River; 1, ..., 10 – water and sediment sampling sites

Próbki osadów dennych (z warstwy 0–0,5 cm) pobierano bezpośrednio do jałowych słoików szklanych typu twist o pojemności 250 cm<sup>3</sup>. Na stanowisku 2.a próbek osadów dennych nie pobierano (dno kamieniste). Pobierane próbki wody i osadów dennych umieszczano natychmiast w termotorbach z wkładem firmowym, umożliwiającym schłodzenie do temperatury 4–6°C. Czas od momentu pobrania próbek wody do wykonania analiz nie przekraczał 12–18 godzin.

**Badania mikrobiologiczne.** Pobierane próbki wody rozcieńczano w jałowym roztworze fizjologicznym NaCl (0,85% NaCl) w stosunku 1:10, 1:100 i 1:1000, próbki osadów dennych zaś w stosunku 1:10, 1:100, 1:1000 i 1:10 000 po uprzedniej homogenizacji 10-gramowych naważek w 90 cm<sup>3</sup> jałowego roztworu fizjologicznego NaCl na mieszkadle magnetycznym przez 30 minut. Po 1 cm<sup>3</sup> odpowiednich rozcieńczeń badanych próbek wody i osadów dennych przenoszono do płytek Petriego i zalewano upłynnionym i ostudzonym do 42°C podłożem agarowym, właściwym dla danej grupy grzybów. Oddzielnie oznaczano liczebność grzybów nitkowatych i grzybów drożdżoidalnych.

Liczbę grzybów nitkowatych (pleśni) oznaczano na podłożu Bacto Rose Bengal Agar o pH 6,6. Podłoże zawiera w 1 dm<sup>3</sup> wody destylowanej: 10 g Bacto Neopeptone, 10 g dekstrozy, 20 g agaru oraz dodatkowo 0,035 g rózu bengalskiego i 0,03 g aureomycyny [COOKE, 1987].

Liczbę grzybów drożdżoidalnych oznaczano na podłożu Sabourauda o pH 6,8. Podłoże zawiera w 1 dm<sup>3</sup> wody destylowanej 10 g Bacto Neopeptone, 20 g dekstrozy i 20 g agaru firmy Difco [Difco Manual, 1985].

Inkubację prowadzono w temperaturze 25°C przez 5 dni, po czym liczone odpowiednio kolonie tych drobnoustrojów, zakładając że każda kolonia powstała z pojedynczych strzępek lub nici grzybów nitkowatych (pleśni) lub pojedynczych komórek grzybów drożdżoidalnych. W przypadku grzybów drożdżoidalnych oddzielnie zliczano kolonie typowe dla tych drobnoustrojów oraz kolonie barwne (w tym z rodzaju *Rhodotorula* i inne). Wyniki tych obliczeń podano w jednostkach tworzących kolonie (jtk) w 1 cm<sup>3</sup> wody lub w 1 g świeżej masy osadów. Wszystkie te oznaczenia wykonywano w 3 równoległych powtórzeniach z tej samej próby.

Jednocześnie z badaniami mikologicznymi prowadzono badania sanitarno-bakteriologiczne wody i osadów dennych w odpowiednich próbkach [NIEWOLAK, 1998a, b] oraz liczebności bakterii potencjalnie chorobotwórczych z rodzaju *Pseudomonas*, *Aeromonas* i *Staphylococcus* [NIEWOLAK, OPIEKA, 2000].

Wyniki badań mikologicznych poddano ocenie statystycznej, określającej wartości współczynników korelacji między liczbą grzybów drożdżoidalnych a ogólną liczbą bakterii, oznaczaną na agarze zwykłym (bulionowym) w temperaturze 20 i 37°C (TVC 20 i TVC 37), ogólną liczbą bakterii z grupy coli, liczbą kałowych bakterii z grupy coli (*Escherichia coli*) oraz liczbą paciorkowców kałowych (odpowiednio TC, FC i FS) w odpowiednich ekosystemach. W przypadku grzybów nitkowatych oceny takiej nie przeprowadzano z uwagi na często stwierdzany brak tych drobnoustrojów w badanych próbkach wody i osadów dennych.

## WYNIKI BADAŃ

Wyniki badań liczebności grzybów nitkowatych i drożdżoidalnych w wodzie Czarnej Hańczy dają podstawy do wyróżnienia co najmniej 2 odcinków tej rzeki, różniących się liczebnością tych drobnoustrojów. Pierwszy, tzw. suwalski, obejmuje stanowiska 1. i 2.a (usytuowane powyżej dopływu oczyszczanych ścieków) charakteryzujące się niewielką liczebnością tych mikroorganizmów w wodzie oraz stanowiska 2.b–6. (poniżej dopływu oczyszczonych ścieków), w których ich liczba osiągała większe wartości. Drugi odcinek, tzw. wigierski, obejmuje stanowiska 7.–10., charakteryzujące się mniejszą liczebnością badanych grzybów.

**Grzyby nitkowate.** W wodzie Czarnej Hańczy na odcinku suwalskim liczba tych grzybów wynosiła od 0 do  $3,5 \cdot 10^2$  jtk w  $1 \text{ cm}^3$ , na odcinku wigierskim zaś od 0 do  $2,0 \cdot 10^2$  jtk w  $1 \text{ cm}^3$  (tab. 1), a w osadach dennych odpowiednio od 0 do  $2,1 \cdot 10^4$  i od 0 do  $2,0 \cdot 10^3$  jtk w 1 g świeżej masy (tab. 2). W wodzie średnia liczba grzybów nitkowatych osiągała większe wartości na stanowisku 1. oraz na stanowiskach poniżej dopływu wód oczyszczonych z oczyszczalni ścieków (stanowiska 2.b, 3., 4., 5.), mniejsze zaś na stanowiskach 7.–10. W osadach dennych średnia liczba tych drobnoustrojów osiągała większe wartości na stanowisku 2.b poniżej dopływu oczyszczonych ścieków. Zarówno w wodzie, jak i w osadach dennych z reguły więcej występowało ich w czerwcu i w sierpniu (rys. 2).

W ściekach oczyszczonych, dopływających do rzeki z oczyszczalni w Suwałkach, liczba grzybów nitkowatych była porównywalna z ich liczebnością w wodzie z rzeki na stanowiskach 2.b–6. poniżej zrzutu ścieków (tab. 1). Podobnie, jak w wodzie z rzeki więcej występowało ich w czerwcu i w sierpniu.

**Grzyby drożdżoidalne.** W wodzie Czarnej Hańczy ogólna ich liczba na odcinku suwalskim mieściła się w granicach od 0 do  $7,5 \cdot 10^3$  jtk w  $1 \text{ cm}^3$ , na odcinku wigierskim zaś z reguły mniejsza była i wynosiła od 0 do  $1,5 \cdot 10^3$  jtk w  $1 \text{ cm}^3$ . Szczepy barwne stanowiły odpowiednio od 0 do 50% i od 0 do 60% ogólnej ich liczby (tab. 1). W wodzie z rzeki średnio więcej grzybów drożdżoidalnych w okresie badawczym występowało na stanowiskach od 2.b do 6., barwnych szczepów tych drobnoustrojów natomiast na stanowiskach 2.b i 6. Biorąc pod uwagę sezonowość poboru próbek w wodzie rzeki, kilkakrotnie więcej tych drobnoustrojów występowało w czerwcu i wrześniu, a na odcinku suwalskim także w listopadzie. W osadach dennych odpowiednio na odcinku suwalskim i na odcinku wigierskim ogólna liczba grzybów drożdżoidalnych wynosiła od  $4,5 \cdot 10^2$  do  $4,4 \cdot 10^5$  jtk i od  $4,0 \cdot 10^2$  do  $5,5 \cdot 10^5$  jtk w 1 g świeżej masy. Szczepy barwne stanowiły od 0 do 54,5% i od 0 do 28% ogólnej ich liczby (tab. 2). W osadach dennych więcej grzybów drożdżoidalnych występowało na stanowiskach 5.–8., jednakże uwzględniając stosunek ilości izolowanych szczepów barwnych do ogólnej liczby tych drobnoustrojów, stwierdzano większy ich procentowy udział na stanowiskach 1., 3. i 6. Ogólna liczba grzybów drożdżoidalnych w odpływach ściekowych z oczyszczalni w Suwałkach wynosiła od  $1,0 \cdot 10^2$  do  $3,6 \cdot 10^3$  jtk w  $1 \text{ cm}^3$ . Szczepy barwne stanowiły

**Tabela 1.** Średnia i zakres liczebności ( $\text{jtk}\cdot\text{cm}^{-3}$ ) grzybów nitkowatych i drożdżoidalnych w wodzie Czarnej Hańcy w całym okresie badawczym**Table 1.** Mean number and the range of filamentous and yeast-like fungi ( $\text{cfu}\cdot\text{cm}^{-3}$ ) in water of the Czarna Hańca River during the whole study period

Stanowisko Site	Grzyby nitkowate Filamentous fungi	Grzyby drożdżoidalne Yeasts-like fungi		
		ogółem total	barwne pigmented	udział barwnych, % share of pigmented, %
1	97	360	40	11,0
	0–250	50–700	10–105	2,5–26
2a	20	583	37	6,0
	0–80	0–2 500	0–110	0–20
2b	80	1 012	130	12,8
	0–250	110–2 380	0–200	0–0
3	70	900	75	8,3
	5–175	165–3 450	10–150	0–28
4	83	1 223	44	3,5
	0–350	50–3 730	0–165	0–14
5	77	1 090	42	3,8
	0–300	110–2 000	0–90	0–26
6	58	1 610	180	11
	0–200	15–7 500	0–850	0–35
7	39	55	5	9,0
	0–160	10–180	0–10	0–40
8	38	410	18	4,3
	0–100	6–1 500	0–70	0–60
9	45	480	16	3,3
	0–200	0–900	0–60	0–27
10	40	216	11	5,0
	0–200	45–800	0–50	0–26
Ścieki oczyszczone Treated sewage	54	1 495	53	3,5
	0–150	105–3 600	0–150	0–19

Objaśnienia: nad kreską – wartości średnie, pod kreską – zakres.

Explanations: above the line – mean values, under the line – range.

0–19% ogólnej ich liczby (tab. 1). W osadach dennych większą liczebność grzybów drożdżoidalnych stwierdzano w czerwcu (na większości stanowisk), w ściekach zaś w lipcu i jesienią (rys. 3).

Wyniki obliczeń statystycznych wskazują na wysoce istotną dodatnią współzależność między ogólną liczbą grzybów drożdżoidalnych w wodzie Czarnej Hańcy a zawartymi w niej bakteriami oznaczanymi na agarze zwykłym w temperaturze 20

**Tabela 2.** Średnia i zakres liczebności ( $\cdot 10^3$  jtk $\cdot g^{-1}$  św.m.) grzybów nitkowatych i drożdżoidalnych w osadach dennych Czarnej Hańczy w całym okresie badawczym

**Table 2.** Mean number and the range of filamentous and yeast-like fungi ( $\cdot 10^3$  cfu $\cdot g^{-1}$  wet wt.) in bottom sediments of the Czarna Hańcza River during the whole study period

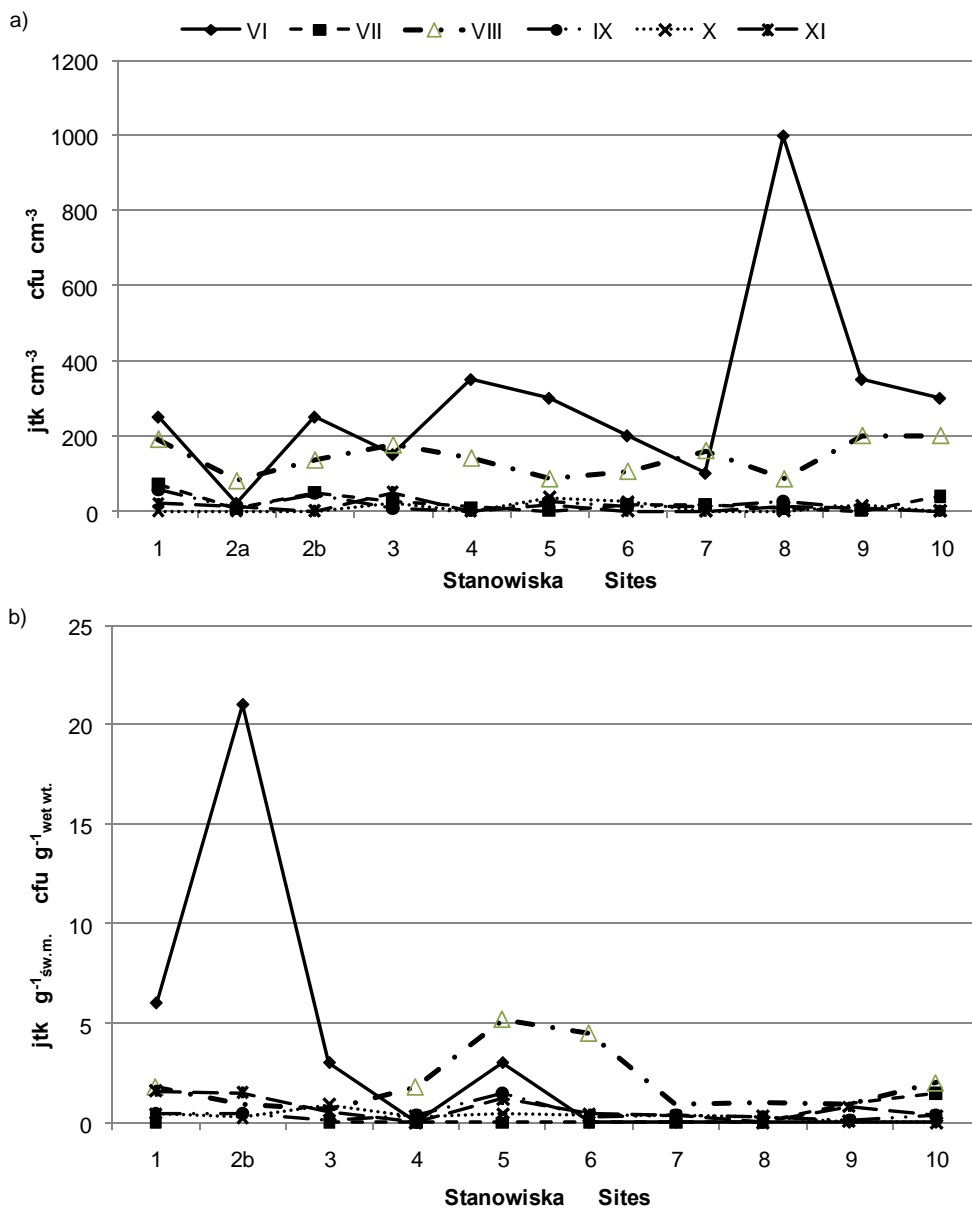
Stanowisko Site	Grzyby nitkowate Filamentous fungi	Grzyby drożdżoidalne Yeasts-like fungi		
		ogółem total	barwne pigmented	udział barwnych, % share of pigmented, %
1	1,7	19,4	0,9	4,5
	0–6,0	2,4–72,0	0,1–2,2	1,2–11,0
2b	4	25,6	0,4	1,5
	0,25–21	3,5–92,0	0,15–1,2	1,2–12,0
3	0,87	5,7	0,5	8,7
	0–3,0	0,45–14,0	0,05–1,25	4,6–14,0
4	0,41	26,4	0,34	1,28
	0–1,8	0,8–105,0	0–16	0–21,0
5	1,89	95,9	1,5	1,5
	0–5,2	1,97–436,0	0,5–5,6	1,0–54,5
6	0,93	82	4,3	5,2
	0–4,5	1,65–216,0	0,15–10,5	1,5–30,3
7	0,34	79,3	0,16	0,2
	0–0,95	1,9–4,2	0–0,4	0–9,8
8	0,26	103,6	3,2	0,3
	0–1,0	0,4–550,0	0–14,0	0–26,0
9	0,7	32,2	0,2	0,6
	0–1,0	0,5–100,0	0–0,55	0–11,4
10	0,7	55,0	1,2	2,1
	0–2,0	1,05–245,0	0,05–4,0	2,5–28,0

Objaśnienia, jak pod tabelą 1.

Explanation as in Table 1.

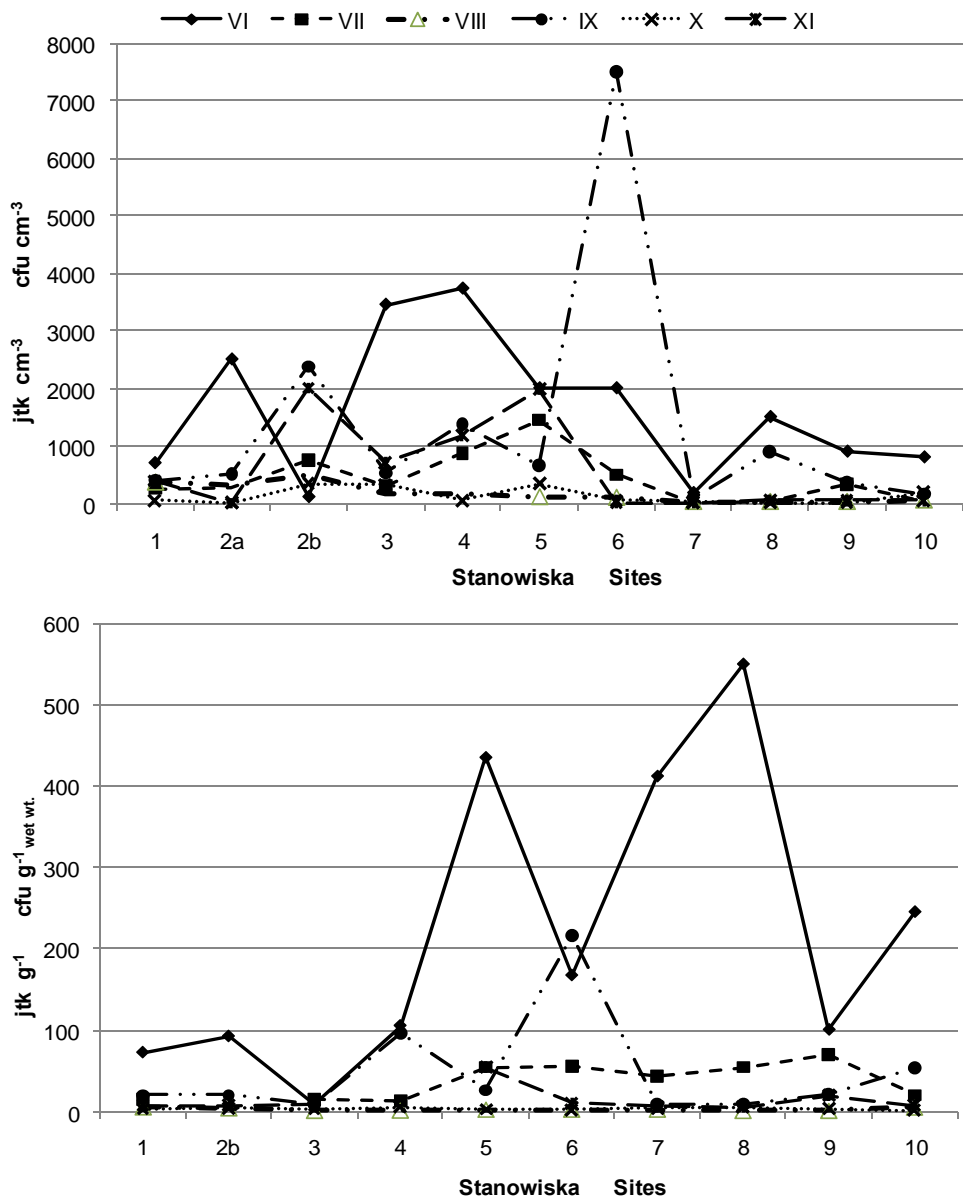
i 37°C, ogólną liczbą bakterii z grupy *coli*, liczbą kałowych bakterii z grupy *coli* (*Escherichia coli*) i liczbą paciorkowców kałowych oraz między ogólną liczbą grzybów drożdżoidalnych w osadach dennych tej rzeki a ogólną liczbą bakterii oznaczaną na agarze zwykłym w temperaturze 20°C i liczbą paciorkowców kałowych (tab. 3).





Rys. 2. Liczba grzybów pleśniowych w poszczególnych miesiącach badawczych; Czarna Hańcza: a) w wodzie (jtk·cm<sup>-3</sup>), b) osadach dennych (jtk·g<sup>-1</sup> św.m.)

Fig. 2. The number of filamentous fungi during particular months of study; Czarna Hańcza: a) in water (cfu·cm<sup>-3</sup>), b) in bottom sediments (cfu·g<sup>-1</sup> wet wt.)



Rys. 3. Liczba grzybów drożdżoidalnych w poszczególnych miesiącach badawczych; Czarna Hańcza: a) w wodzie ( $\text{jtk cm}^{-3}$ ) i b) osadach dennych ( $\text{jtk g}^{-1}$   $\text{św.m.}$ )

Fig. 3. The number of yeasts-like fungi during particular months of the study; Czarna Hańcza: a) in water ( $\text{cfu cm}^{-3}$ ) and b) in bottom sediments ( $\text{cfu g}^{-1}$  wet wt.).

**Tabela 3.** Korelacje porządku rang Spearmana między liczbą grzybów drożdżoidalnych a liczbą bakterii wskaźnikowych stanu sanitarno-bakteriologicznego w wodzie i osadach dennych Czarnej Hańcy; BD usuwane parami

**Table 3.** Spearman's rank correlation between the number of yeast-like fungi and the number of microorganisms indicative of the sanitary and bacteriological status in water and bottom sediments of the Czarna Hańcza River; MD eliminated in pairs

Grupa drobnoustrojów Group of microorganisms	Grzyby drożdżoidalne w wodzie Yeast-like fungi in water	Grzyby drożdżoidalne w osadzie Yeast-like fungi in sediments
TVC 20	0,584686*	0,365454*
TVC 37	0,374034*	-0,108503
TC	0,611893*	0,172725
FC	0,591191*	0,112405
FS	0,728074*	0,522985*

Objaśnienia: TVC 20 i TVC 37 – ogólna liczba bakterii heterotroficznych oznaczanych na agarze zwykłym odpowiednio w temp. 20 i 37°C; TC – ogólna liczba bakterii z grupy *coli*; FC – liczba kałowych bakterii z grupy *coli*; FS – liczba paciorkowców kałowych; \* – współczynniki korelacji istotne statystycznie, gdy  $p < 0,05$ .

Explanations: TVC 20 and TVC 37 – total number of heterotrophic bacteria isolated on bullion-agar medium at 20 and 37°C respectively; TC – total number of coliforms; FC – the number of fecal coliforms; FS – the number of fecal enterococci; \* – correlation statistically significant at  $p < 0.05$ .

## DYSKUSJA WYNIKÓW

Liczba grzybów nitkowatych w wodzie rzecznej Czarnej Hańcy na obu jej odcinkach (suwalskim i wigierskim), rzędu  $0-3,5 \cdot 10^2$  jtk w  $1 \text{ cm}^3$ , była z reguły kilkakrotnie wyższa niż przy jej wypływie z jeziora Hańcza ( $0-74$  jtk w  $1 \text{ cm}^3$ ) [GOTKOWSKA-PLACHTA, 2002; MIERZWICKA, NIEWOLAK, 2001]. Jedynie w wodzie na stanowisku 2.a, usytuowanym przed dopływem oczyszczanych ścieków, ich liczba była mniejsza i wynosiła  $0-80$  jtk w  $1 \text{ cm}^3$ . Jednocześnie była ona większa od podawanej w literaturze [ROSENZWEIG, MINNINGH, PIPES, 1986; ARVANITIDOU i in., 2002] dla wód niezanieczyszczonych ( $<20$  jtk w  $1 \text{ cm}^3$ ). Na stanowisku 2.b, poniżej dopływu ścieków, liczba grzybów nitkowatych w wodzie z rzeki odpowiadała liczbie tych drobnoustrojów w oczyszczonych ściekach. Większa liczebność grzybów nitkowatych na dalszych stanowiskach Czarnej Hańcy mogła być związana z opadami atmosferycznymi i wymywaniem tych drobnoustrojów z gleb uprawnych, łąk i pastwisk, jak również ich przedostawaniem się z dna rzeki, gdzie występowały w większych ilościach (do  $4,5 \cdot 10^3$  i  $5,2 \cdot 10^3$  jtk w  $1 \text{ g}$  świeżej masy odpowiednio na stanowiskach 5. i 6.). Podczas opadów burzowych znaczna liczba tych drobnoustrojów mogła przedostawać się do wody również z powietrza w postaci strzępek czy zarodników. Liczba grzybów drożdżoidalnych w wodzie rzeki na obu jej odcinkach (suwalskim i wigierskim) była najczęściej typowa dla zanieczyszczonych wód powierzchniowych. Na odcinku suwalskim mogła mieć związek z dopływem oczyszczonych ścieków z oczyszczalni w Suwałkach, gdzie

drobnoustroje te występowały w ilościach rzędu od  $1,0 \cdot 10^2$  do  $3,6 \cdot 10^3$  jtk w  $1 \text{ cm}^3$ . Maksymalna liczebność tych drobnoustrojów, stwierdzana w czerwcu i wrześniu, była skorelowana dodatnio z większą liczebnością bakterii wskaźnikowych stopnia zanieczyszczenia i stanu sanitarnego [NIEWOLAK, 1998a, b]. W tym samym czasie w próbkach wody Czarnej Hańcy stwierdzano podwyższoną liczebność bakterii potencjalnie chorobotwórczych: *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila* i *Staphylococcus sp.* [NIEWOLAK, OPIEKA, 2000]. Można to tłumaczyć wymywaniem podczas opadów burzowych zanieczyszczeń ze zlewni i towarzyszących im różnorodnych drobnoustrojów, w tym również grzybów drożdżoidalnych. Możliwe jest także wymywanie tych drobnoustrojów z powierzchniowej warstwy osadów dennych, gdzie występują wielokrotnie liczniej niż w wodzie ( $4,5 \cdot 10^2$ – $5,5 \cdot 10^5$  jtk w 1 g świeżej masy).

Dużą liczebność grzybów drożdżoidalnych podczas opadów burzowych stwierdzali również KORNILŁOWICZ [1994a, b] w wodzie z jezior o różnej trofii oraz NIEWOLAK, FILIPKOWSKA i KORZENIEWSKA [2009] w ciekach powierzchniowych drenujących zlewnię jeziora Bartąg w rejonie Olsztyna. Mniejszą liczebność grzybów drożdżoidalnych w wodzie Czarnej Hańcy na odcinku wigierskim tłumaczy się rozcieńczającym wpływem mas wodnych jeziora Wigry na zawartość substancji organicznej i towarzyszącym jej drobnoustrojom. Wpływ jeziora na zawartość grzybów drożdżoidalnych w wodzie tego odcinka rzeki jest szczególnie widoczny na stanowisku 7. (bezpośrednio za jeziorem Wigry), na którym liczba tych drobnoustrojów była blisko 50-krotnie mniejsza od stwierdzanej w wodzie suwalskiego odcinka rzeki. Czarna Hańcza – wypływając z jeziora Wigry – przepływa również przez jezioro Postaw, które stanowi swego rodzaju odstożnik ewentualnych zanieczyszczeń organicznych i towarzyszących im drobnoustrojów, w tym również grzybów drożdżoidalnych. Wzrost liczebności grzybów drożdżoidalnych (średnio 5–10-krotny) na stanowiskach 8.–10. nie osiągał liczebności stwierdzanych zarówno w oczyszczonych ściekach doprowadzanych do rzeki z oczyszczalni w Suwałkach, jak i w wodzie na odcinku suwalskim Czarnej Hańcy. Mniejsza liczebność grzybów drożdżoidalnych w wodzie z rzeki na stanowiskach odcinka wigierskiego (7.–10.) była skorelowana z 5–10-krotnie mniejszą liczebnością bakterii wskaźnikowych stopnia zanieczyszczenia i stanu sanitarnego.

Liczba grzybów drożdżoidalnych w osadach dennych Czarnej Hańcy jest związana prawdopodobnie z zawartością w nich substancji organicznej i jej rodzajem. Na liczbę tych grzybów wpływa również szybkość przepływu wody i możliwość sedymentacji zawieszin z toni wodnej. Mniejszą ich liczebność, stwierdzaną na stanowisku 3., tłumaczy się wymywaniem tych drobnoustrojów z dna wodami odprowadzanymi kaskadowo z młyna wodnego, a na stanowiskach 1., 2. i 4. – piaszczystym bądź kamienistym charakterem dna i bystrzejszym nurtem rzeki, utrudniającym sedymentację zawieszin organicznych i towarzyszących im grzybów oraz innych drobnoustrojów [NIEWOLAK, 1998b]. Większą liczebność grzybów drożdżoidalnych w osadach dennych na stanowiskach 5. i 6. można tłumaczyć mu-

listym charakterem dna i większą ilością substancji organicznej, będącej źródłem węgla i energii dla tych drobnoustrojów. Wpływ charakteru dna na liczebność grzybów drożdżoidalnych w profundalu zbiorników wodnych był przedmiotem wielu badań [CZECZUGA, 1995; NIEWOLAK, 1976; NOVOŽILOVA, 1979]. Wszyscy autorzy wskazują na większą liczebność tych drobnoustrojów w gruntach mulistych, mniejszą w gruntach piaszczystych zbiorników wodnych, tłumacząc to różnicami w zawartości substancji organicznej. Na odcinku wigerskim Czarnej Hańczy zwolniony przepływ wody umożliwiał sedymentację zawieszin organicznych na dnie, skutkując większą liczebnością grzybów drożdżoidalnych. Maksymalna liczebność tych drobnoustrojów, stwierdzana w czerwcu, mogła być związana z opadami burzowymi i wymywaniem ich ze zlewni. Zmiany liczebności grzybów drożdżoidalnych w osadach dennych rzeki w okresie badawczym mogły być też związane z okresami rozmnażania bezkręgowców dennych i obumierania planktonowych organizmów roślinnych, wzbogacających je w łatwo przyswajalne związki organiczne, a być może i wyjadania tych drobnoustrojów przez organizmy bentosowe [NOVOŽILOVA, 1979].

## WNIOSKI

1. Wyniki badań liczebności grzybów nitkowatych i drożdżoidalnych w wodzie Czarnej Hańczy dają podstawę do wyróżnienia dwóch zasadniczych odcinków tej rzeki – suwalskiego (stosunkowo silniej obciążony substancją organiczną) i wigerskiego (mniej obciążony substancją organiczną).

2. Mniejsza liczebność grzybów nitkowatych i drożdżoidalnych, stwierdzana na stanowisku 7., jest wynikiem rozcieńczającego wpływu mas wodnych jeziora Wigry na zawartość substancji organicznej i towarzyszących im odpowiednich drobnoustrojów oraz jeziora Postaw, spełniającego rolę stawu sedymentacyjnego dla ewentualnych zanieczyszczeń.

3. Większa liczebność grzybów nitkowatych i drożdżoidalnych w czerwcu i sierpniu w wodzie Czarnej Hańczy (zwłaszcza na odcinku suwalskim) może być związana z opadami burzowymi, wypłukującymi zanieczyszczenia z otaczającej zlewni.

4. Na podstawie analizy statystycznej wyników badań stwierdzono istotne współzależności między liczebnością grzybów drożdżoidalnych w wodzie i bakteriologicznych wskaźników stopnia zanieczyszczenia oraz stanu sanitarnego (odpowiednio TVC 20, TVC 37 i TC, FC, FS).

5. Liczba grzybów nitkowatych i drożdżoidalnych w osadach dennych Czarnej Hańczy zależała od rodzaju tych osadów. Drobnoustroje te występowały z reguły liczniej w gruntach mulistych, w mniejszych ilościach zaś w gruntach piaszczystych.

6. Procentowy udział barwnych szczepów grzybów drożdżoidalnych w ogólnej liczbie tych drobnoustrojów w wodzie Czarnej Hańczy był zmienny w zależności od miejsca i czasu pobierania próbek. Obecność tego rodzaju drobnoustrojów w wodzie na większości stanowisk częściej notowano w sierpniu i wrześniu, w osadach dennych natomiast w miesiącach jesiennych.

## LITERATURA

- AMATO P., PARAZOLS M., SANCELME M., MAILHOT G., LAJ P., DELORT A.-M., 2007. An important oceanic source of micro-organisms for cloud water at the Puy de Dôme (France). *Atmosph. Env.* 41 s. 8253–8263.
- ARVANITIDOU M., KANELLOU K., KATSOUYANNOPOULOS V., TSAKRIS A., 2002. Occurrence and densities of fungi from northern Greek coastal bathing waters and their relation with faecal pollution indicators. *Water Res.* 36 s. 5127–5131.
- BAJKIEWICZ-GRABOWSKA E., 1992. Sieć hydrograficzna, warunki dopływu i wymiany wód jeziornych. W: Jeziora Wigierskiego Parku Narodowego. Stan eutrofizacji i kierunki ochrony. Pr. zbior. Red. B. Zdanowski. *Zesz. Nauk. Kom. Nauk. PAN Czł. Środ. z. 3 s. 21–34.*
- COOKE W.B., 1987. On the isolation of fungi from environmental samples. *Env. Technol. Lett.* 8 s. 133–140.
- CZECZUGA B., 1995. Hydromycoflora of thirty one lakes in Elk Lake District and adjacent waters with reference to the chemistry of the environment. *Acta Mycol.* 30 s. 49–63.
- Difco manual dehydrated culture media and reagents for microbiology, 1985. Difco 10th ed. Detroit, Michigan, USA: Difco Labor. ss. 1155.
- DYNOWSKA M., 1993. Przyczynek do znajomości grzybów drożdżoidalnych jezior Olsztyna. *Acta Mycol.* 28 s. 61–68.
- DYNOWSKA M., 1997. Yeast-like fungi processing bio-indicator properties isolated from the Łyna. *Acta Mycol.* 32 s. 279–286.
- FILIPKOWSKA Z., GOTKOWSKA-PLACHTA A., KORZENIEWSKA E., 2008. Grzyby pleśniowe i grzyby drożdżoidalne w powietrzu atmosferycznym na terenie i w otoczeniu oczyszczalni ścieków z systemem stawów napowietrzanych i stabilizacyjnych. *Woda Środ. Obsz. Wiej. t. 8 z. 1 (22) s. 69–82.*
- FILIPKOWSKA Z., KORZENIEWSKA E., GOTKOWSKA-PLACHTA A., PAWLUKIEWICZ A., 2007a. Grzyby drożdżoidalne i pleśniowe w powietrzu atmosferycznym na terenie i w otoczeniu miejskiej oczyszczalni ścieków. *Ochr. Środ. Zasob. Natur.* 32 s. 234–239.
- FILIPKOWSKA Z., GOTKOWSKA-PLACHTA A., KORZENIEWSKA E., PAWLUKIEWICZ A., 2007b. Zanieczyszczenia mikologiczne powietrza na terenie i w otoczeniu miejskiej oczyszczalni ścieków z komorami osadu czynnego, napowietrzanymi aeratorami typu CELPOX. *Ochr. Środ. Zasob. Natur.* 32 s. 240–245.
- GADD G.M., 1990. Fungi and yeasts for metal accumulation. W: *Microbial mineral recovery*. Pr. zbior. Red. H. L. Ehrlich, C. Brierley. New York: Mc Graw. Hill. s. 249–275.
- GOTKOWSKA-PLACHTA A., 2002. Studium mikrobiologiczne wód jeziora Hańcza. Olsztyn: UWM pr. dokt. maszyn. ss. 238.
- HAGLER A. N., DE OLIVEIRA R.B., MENDONCA-HAGLER L.C., 1982. Yeasts in the intertidal sediment of a polluted estuary in the Rio de Janeiro, Brazil. *Antonie van Leeuwenhoek. J. Microbial.* 48 s. 53–56.
- HAGLER A. N., MENDONCA-HAGLER L.C., 1981. Yeasts from marine and estuarine water with different levels of pollution in the state of Rio de Janeiro, Brasil. *Appl. Env. Microbiol.* 41 s. 173–178.

- KORNILÓWICZ T., 1994a. The dynamics of quantitative changes of mycoflora in two lakes differing in trophicity (Poland). Cz. 1. *Acta Mycol.* 29 s. 23–31.
- KORNILÓWICZ T., 1994b. The dynamics of quantitative changes of mycoflora in two lakes differing in trophicity (Poland). Cz. 2. *Acta Mycol.* 29 s. 159–168.
- MARIÑO F.J., MARTINEZ-MANZANARES E., MORIÑO M.A., BORREGO J.J., 1995a. Applicability of the recreational water quality standard guidelines. *Water Sci. Tech.* 31 (5) s. 27–31.
- MARIÑO F.J., MORIÑO M.A., MARTINEZ-MANZANARES E., BORREGO J.J., 1995b. Microbiological-epidemiological study of selected marine beaches in Malaga. *Water Sci. Tech.* 31 (5) s. 5–9.
- MENDES B., URBANO P., ALVES C., MORAIS J., LAPA N., OLIVEIRA J.S., 1998. Fungi as environmental microbiological indicators. *Water Sci. Tech.* 38 s. 155–162.
- MIERZWIKA J.S., NIEWOLAK S., 2001. Sezonowe zmiany liczebności promieniowców oraz grzybów drożdżoidalnych i nitkowatych w wodzie jeziora mezotroficznego. *Ślupskie Pr. Przyr. Ser. Biol. Eksperyment. Ochr. Środ.* nr 1 s. 85–94.
- NIEWOLAK S., 1976. The occurrence of yeasts in some of the Masurian Lakes. *Acta Mycol.* 12 s. 241–256.
- NIEWOLAK S., 1998a. The evaluation of the contamination degree and the sanitary and bacteriological state of the waters in the Czarna Hańcza River in the region of Suwałki and the Wigry National Park. *Pol. J. Env. St.* 7 s. 229–241.
- NIEWOLAK S., 1998b. Total viable count and concentration of enteric bacteria in bottom sediments from the Czarna Hańcza River, North-East Poland. *Pol. J. Env. St.* 7 (3) s. 295–306.
- NIEWOLAK S., BRZOWSKA R., CZECHOWSKA K., FILIPKOWSKA Z., KORZENIEWSKA E., 2007. Sezonowe zmiany liczebności promieniowców i grzybów (nitkowatych i drożdżoidalnych) w wodzie, glebie i roślinności śródleśnych mokradeł w okolicy Olsztyna. *Woda Środ. Obsz. Wiej.* t. 7 z. 2a (20) s. 271–291.
- NIEWOLAK S., FILIPKOWSKA Z., KORZENIEWSKA E., 2009. Przestrzenne rozmieszczenie i sezonowe zmiany liczebności promieniowców i grzybów (nitkowatych i drożdżoidalnych) w wodzie gruntowej zlewni jeziora eutroficznego. *Woda Środ. Obsz. Wiej.* t. 9 z. 3 (27) s. 123–141.
- NIEWOLAK S., OPIEKA A., 2000. Potentially pathogenic microorganisms in water and bottom sediments in the Czarna Hańcza River. *Pol. J. Env. St.* 9 s. 183–194.
- NOVOŽILOVA M.I., 1979. Asporogennyye drozhi i ich rol' v vodoemach. *Alma-Ata: Nauka Kazachskoj SSR* ss. 201.
- ROSENZWEIG V.D., MINNINGH H., PIPES W.O., 1986. Presence of fungi in potable water distribution systems. *J. Am. Water Works* 78 s. 53–55.
- SMYK B., 1984. Mikroorganizmy w środowiskach glebowych i wodnych Niecki Niedzieńskiej. *St. Ośr. Dokument. Fizjogr.* 16 s. 7–58.
- STERFLINGER K., 2000. Fungi as a geological agents. *Geomicrobiol. J.* 17 s. 97–124.
- VOGEL C., ROGERSON A., SCHATZ S., LAUBACH H., TALLMAN A., FELL J., 2007. Prevalence of yeasts in beach sand at three bathing beaches in South Florida. *Water Res.* 41 s. 1915–1920.

*Stanisław NIEWOLAK, Ewa KORZENIEWSKA, Anna GOTKOWSKA-PLACHTA*

**FILAMENTOUS AND YEAST-LIKE FUNGI IN WATER  
AND BOTTOM SEDIMENTS OF THE CZARNA HAŃCZA RIVER  
AS BIOINDICATORS OF POLLUTION**

*Słowa kluczowe: bottom sediments, filamentous fungi, river, water, yeast-like fungi*

**S u m m a r y**

The density of filamentous and yeast-like fungi (including pigmented ones) in water and bottom sediments of the Czarna Hańcza River was studied along the length of the river from Stary Bród (before Suwałki) to Wysoki Most at the border of the Wigry National Park. Parallel to this study, the density of these microorganisms (and yeast-like fungi in particular) was determined in treated wastewater discharged from a wastewater treatment plant in Suwałki. Two sections of the river were distinguished according to the counts of fungi in the river water: the first from springs to the river outlet to Lake Wigry (the Suwałki section) and the second from its outflow from Lake Wigry (the Wigry section). The former section of the river was characterized by high densities of the analyzed microorganisms, particularly of yeast-like fungi, throughout the whole study period (from June to November), with the maximum counts noted in June and August and a smaller peak in November. The latter section of the river contained on average two-fold less filamentous fungi and several-fold lower numbers of yeast-like fungi in water. Sandy bottom deposits of the Czarna Hańcza contained less of the analyzed microorganisms than the muddy ones. The spatial distribution of filamentous and yeast-like fungi could be affected by treated wastewaters from the wastewater treatment plant in Suwałki, by the influx of polluted rainwater during storm events and by the diluting effect of water masses from Lake Wigry and Lake Postaw. Contribution of pigmented fungi to the total number of fungi, variable depending on the time and sampling site, was smaller in the river bottom sediments than in water of the Czarna Hańcza.

---

**Recenzenci:**

*doc. dr hab. Maria Król*

*prof. dr hab. Stefan Russel*

Praca wpłynęła do Redakcji 20.04.2009 r.