

KRZYSZTOF ULFIG

GRZYBY KERATYNOFILNE W OSADACH ŚCIEKOWYCH

KERATINOPHILIC FUNGI IN WASTE WATER SEDIMENTS

Z Pracowni Toksykologii i Mikrobiologii Instytutu Ochrony Środowiska w Katowicach
Kierownik Pracowni: doc. dr hab. J. Pacha

Metodą przynęty włosowej wykazano, że grzyby keratynofilne obficie występują w osadach ściekowych. Ich skład uzależniony jest przypuszczalnie od pochodzenia i składu osadów ściekowych, stopnia stabilizacji ich materii organicznej, stopnia uwodnienia i struktury.

WSTĘP

Z pilotowych badań [1,6] wynika, że osady ściekowe zawierają bogatą mikoflorę keratynofilną, której skład przypuszczalnie uzależniony jest od czynników technologicznych, fizyczno-chemicznych i biologicznych. Grzyby keratynofilne mogą odgrywać ważną rolę w rozkładzie materii organicznej osadów ściekowych, zwłaszcza białek i licznych odpadów keratynowych, stanowiący substrat pokarmowy dla tych grzybów.

Wśród grzybów keratynofilnych wiele jest form o potencjalnie chorobotwórczych właściwościach dla ludzi i zwierząt [3]. Badania tych grzybów mają więc także sanitarne znaczenie, szczególnie w przypadku stosowania osadów do rekultywacji i użyźniania gruntów.

Celem niniejszych wstępnych badań jest określenie, jak kształtuje się skład mikoflory keratynofilnej w różnych osadach ściekowych oraz w 2-letnim cyklu rekultywacyjnym jednego z nich*.

MATERIAŁ I METODYKA

W badaniach wykorzystano osady ściekowe pochodzące z 10 komunalnych i przemysłowych oczyszczalni ścieków regionu Górnego Śląska. Ogółem przebadano 21 próbek różnego rodzaju osadów, których krótką charakterystykę zamieszczono w tab. I.

* Dziękuję pani Irenie Biedroń za techniczną pomoc w badaniach

Tabela I. Charakterystyka badanych próbek osadów ściekowych
 Characterization of the examined samples of waste water sediments

| Lp. | Pochodzenie i typ osadu | Liczba inkubowanych szalek | Liczba szalek ze wzrostem grzybów (F%) | Liczba wyizolowanych gatunków | Liczba pojawów | Wskaźnik LPP | % udział dermatofitów | % udział <i>Arthroderma</i> |
|-----|---|----------------------------|--|-------------------------------|----------------|--------------|-----------------------|-----------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| 1 | Przemysłowo-komunalny, częściowo przefermentowany, mazisty osad z o. ścieków w Żorach | 40 | 8 (20%) | 2 | 13 | 1,6 | 0 | 0 |
| 2 | Przemysłowo-komunalny, surowy i poletkowany mazisty osad z o. ścieków w Katowicach | 20 | 4 (20%) | 2 | 4 | 1,0 | 0 | 0 |
| 3 | Komunalno-przemysłowy, surowy, strukturalno-mazisty osad z o. ścieków w Klimzowcu | 22 | 21 (95,4%) | 4 | 27 | 1,3 | 0 | 0 |
| 4 | Fenolowy, nadmierny, czynny, mazisty osad z o. ścieków w Zdieszowicach | 10 | 2 (20%) | 1 | 2 | 1,0 | 0 | 0 |
| 5 | Komunalny, stabilizowany tlenowo-mazisty osad z o. ścieków w Brzozowicach | 20 | 17 (85%) | 5 | 27 | 1,6 | 7,4 | 0 |
| 6 | Przemysłowo-komunalny, lagunowany, strukturalno-mazisty osad z o. ścieków w Zabrze | 50 | 15 (30%) | 6 | 26 | 1,7 | 30,7 | 0 |
| 7 | Komunalno-przemysłowy, lagunowany, strukturalno-mazisty osad z o. ścieków w Klimzowcu (I seria) | 20 | 4 (20%) | 3 | 6 | 1,5 | 83,3 | 0 |
| 8 | Przemysłowo-komunalny, częściowo przefermentowany, mazisty osad z o. ścieków w Rybniku | 45 | 12 (26,6%) | 4 | 14 | 1,1 | 64,2 | 0 |

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|----|--|----|------------|---|-----|-----|-------|------|
| 9 | Komunalno-przemysłowy, surowy, poletkowany, strukturalno-mazisty osad z o. ścieków w Dąbrowie Gór. | 38 | 28 (73,6%) | 9 | 74 | 2,6 | 55,4 | 16,2 |
| 10 | Fenolowy, nadmierny, czynny, przez rok poletkowany, strukturalno-mazisty osad z o. ścieków w Zdzeszowicach | 20 | 14 (70%) | 5 | 16 | 1,1 | 56,2 | 0 |
| 11 | Przemysłowo-komunalny, częściowo przefermentowany, mazisty osad z o. ścieków w Tychach | 7 | 7 (100%) | 3 | 16 | 2,3 | 37,5 | 6,2 |
| 12 | Komunalno-przemysłowy, lagunowany, strukturalno-mazisty osad z o. ścieków w Klimzowcu (II seria) | 13 | 13 (100%) | 6 | 60 | 4,6 | 40,0 | 13,3 |
| 13 | Przemysłowo-komunalny, częściowo przefermentow., strukturalno-mazisty osad z o. ścieków w Panewnikach | 30 | 22 (73,3%) | 5 | 45 | 2,0 | 2,2 | 0 |
| 14 | Osad j. wyżej, wymiesz. z rekultywowanym gruntem, po miesiącu rekultyw. | 30 | 21 (70%) | 9 | 36 | 1,7 | 2,7 | 0 |
| 15 | Osad j.w., strukturalny, po 3 miesiącach rekultywacji | 30 | 30 (100%) | 5 | 79 | 2,6 | 74,7 | 27,8 |
| 16 | Osad j.w., po 6 miesiącach rekultyw. | 30 | 30 (100%) | 7 | 120 | 4,0 | 80,0 | 30,0 |
| 17 | Osad j.w., po 10 miesiącach rekultyw. | 30 | 30 (100%) | 6 | 105 | 3,5 | 90,5 | 33,3 |
| 18 | Osad j.w., po 11 miesiącach rekultyw. | 30 | 30 (100%) | 4 | 62 | 2,1 | 95,1 | 30,6 |
| 19 | Osad j.w., po 17 miesiącach rekultyw. | 30 | 30 (100%) | 2 | 90 | 3,0 | 100,0 | 33,3 |
| 20 | Osad j.w., po 19 miesiącach rekultyw. | 30 | 30 (100%) | 2 | 117 | 3,9 | 100,0 | 48,7 |
| 21 | Osad z o. ścieków w Panewnikach, po 10 latach lagunowania, strukturalny | 30 | 30 (100%) | 4 | 42 | 1,4 | 95,2 | 2,4 |

Próbka nr 13 pochodziła z oczyszczalni ścieków w Panewnikach. Osad ten użyty został do powierzchniowej rekultywacji zdewastowanego gruntu w dawce ok. 15 kg s.m./m². Próbki nr 14–20 objęły 2-letni cykl rekultywacyjny tego osadu.

Grzyby keratynofile izolowano z osadów ściekowych metodą przynęty włosowej [7], przy czym ograniczono się do oznaczania dermatofitów geofilnych i innych grzybów o silnych właściwościach keratynolicznych. W interpretacji wyników wykorzystano wskaźniki wzrostu grzybów na włosach przynęty, wyłożonych na próbkach osadów umieszczonych w szalkach *Petriego*: częstość ich występowania odniesioną do liczby inkubowanych próbek (F), wskaźnik LPP – czyli liczbę pojawów przypadającą na próbkę ze stwierdzonym wzrostem grzybów, procentowy udział dermatofitów (D) i rodzaju *Arthoderma* w ogólnym bilansie pojawów.

WYNIKI

Na ogólną liczbę 575 próbek (szalek) osadów ściekowych (tab. I) wzrost grzybów keratynofilnych obserwowano w 398 próbkach (69,2%). Łącznie stwierdzono 981 pojawów grzybów z 13 gatunków. Na włosach przynęty najczęściej pojawiały się dermatofity geofilne *Trichophyton ajelloi* i *Trichophyton terrestre* wraz z formami doskonałymi *Arthroderma uncinatum* i *Arthroderma quadrifidum*, a także *Chrysosporium pruinatum* i *Chrysosporium keratinophilum*. (tab. II).

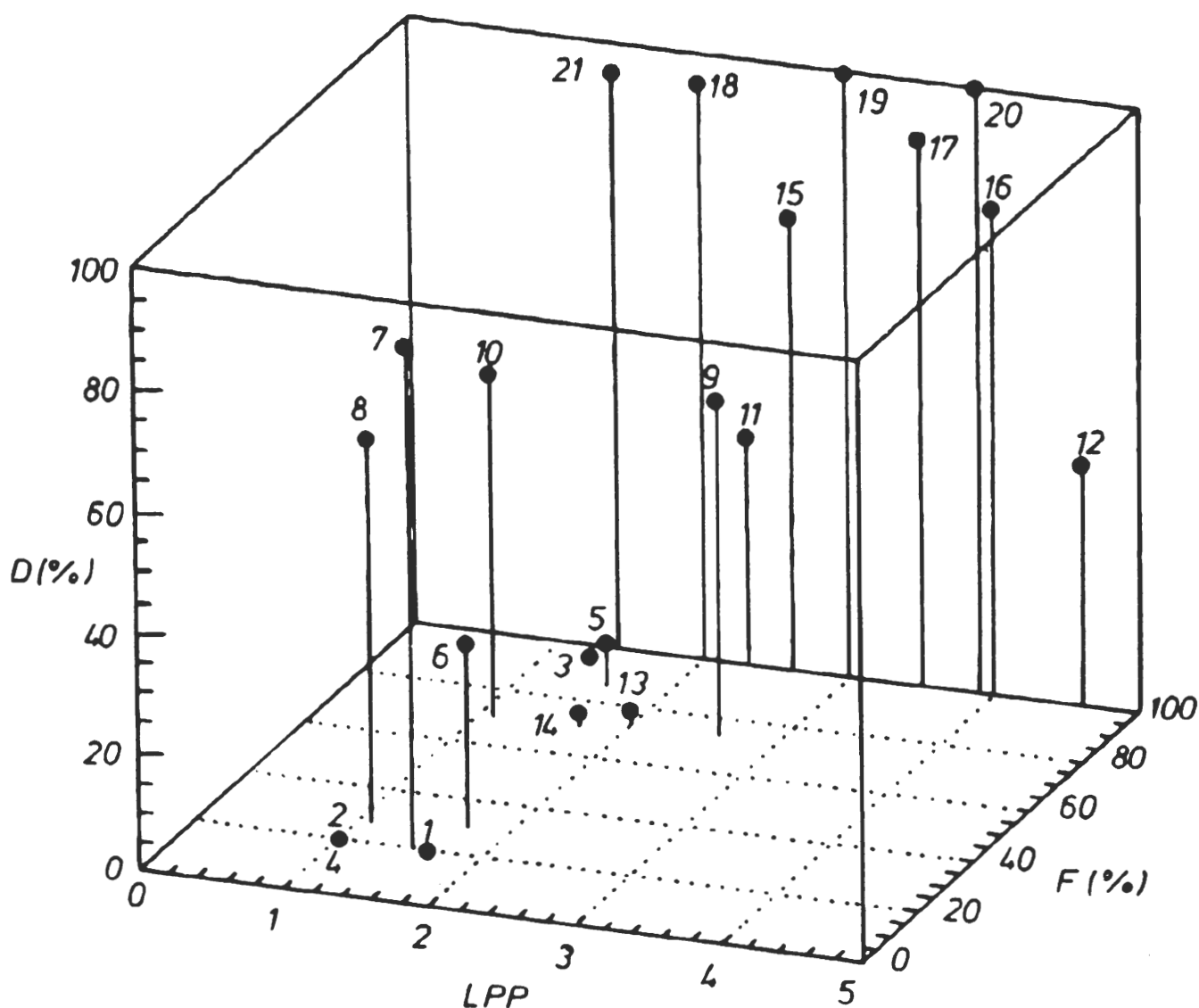
Na ryc. 1 widać, że badane osady ściekowe charakteryzowały się znaczną zmiennością analizowanych wskaźników wzrostu grzybów. Mimo tego jednak, wydaje się, że w układzie tych wskaźników można dostrzec pewne prawidłowości. Abstrahując w pierwszej fazie analizy od osadów panewnickich, należy stwierdzić, że dla pozostałych próbek wskaźnik LPP był najczęściej niski; rzadko przekraczał wartość 2,0. W większości tych próbek dominowały grzyby z rodzaju *Chrysosporium*. Jeśli udział dermatofitów w ogólnym bilansie pojawów był wysoki, to wiązało się to z na ogół niską częstością występowania grzybów (F). Wyjątkami były próbki 11 i 12, dla których wyliczono wysokie wskaźniki LPP. Należy także zaznaczyć, że w osadach maziastych, silnie uwodnionych, wzrost grzybów na włosach przynęty był ograniczony. W wyniku strukturalizacji osadu i poprawy warunków jego przewietrzania (próbki nr 4 i 10) wzrost i skład grzybów keratynofilnych uległy wzbogaceniu.

Charakterystyczną cechą zmian składu jakościowego grzybów keratynofilnych w cyklu rekultywacyjnym osadów panewnickich był stopniowy wzrost udziału dermatofitów (aż do całkowitego wyparcia *Chrysosporium* po 17 miesiącach rekultywacji), a także pojawienie się (po 6 miesiącach) gymnotecjów z rodzaju *Arthoderma*. Należy zaznaczyć, że w próbkach pochodzących z innych oczyszczalni gymnotecja te należały do rzadkości. Osady panewnickie już po 3 miesiącach rekultywacji charakteryzowały się pełną strukturalnością i wyjątkowo intensywnym wzrostem grzybów keratynofilnych. W zależności od zmian udziału poszczególnych rodzajów tych grzybów, wskaźnik LPP podlegał wahaniom. Z wyjątkiem próbek 13 i 14 przekraczał wartość 2,0; najwyższą wartość osiągnął po 6 miesiącach rekultywacji. W tym też czasie flora grzybów keratynofilnych była najbogatsza.

Nietypowy układ wskaźników wzrostu grzybów w próbce nr 21 polegał na pełnym pokryciu szalek grzybnią, wysokim udziale dermatofitów, lecz niskim wskaźniku LPP. Zdecydowała o tym niewielka liczba pojawów *Chrysosporium* a także form doskonałych dermatofitów.

Tabela II Występowanie grzybów keratynofilnych w osadach ściekowych
Occurrence of keratinophilic fungi in waste water sediments

| Gatunek | Liczba szalek <i>Petriego</i> z danym gatunkiem w próbce osadu ściekowego | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | Częstość pojawów (%) | Szereg dominacji |
|--|---|---|----|---|----|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|----------------------|------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | | |
| <i>Chrysosporium</i> st. kon. <i>Arthroderma curreyi</i> Berkeley | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | 7 | 3 | - | - | - | - | - | 1,1 | 11 | |
| <i>Chrysosporium</i> st. kon. <i>Arthroderma multifidum</i> Dawson | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | 0,2 | 15 | |
| <i>Chrysosporium indicum</i> (Randhawa et Sandhu) Garg | - | - | - | - | - | - | - | - | 7 | - | - | - | - | - | - | - | 4 | 1 | - | - | 1,2 | 10 | |
| st. dosk. <i>Aphanoascus terreus</i> (Randhawa et Sandhu) Apinis | - | - | - | - | - | - | - | - | 5 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,5 | 13 | |
| <i>Chrysosporium keratinophilum</i> D. Frey ex Carmichael | 5 | - | 1 | - | 16 | 6 | - | 4 | 3 | 4 | 5 | 13 | 20 | 3 | - | - | 1 | - | - | - | 1 | 8,3 | 5 |
| <i>Chrysosporium merdarium</i> (Link ex Grev.) Carmichael | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | 0,1 | 17 |
| <i>Chrysosporium pannicola</i> (Corda) van Oorshot et Stalpers | - | - | - | - | 4 | 3 | - | - | 1 | - | - | 3 | - | 2 | - | - | - | - | - | - | - | 1,3 | 9 |
| <i>Chrysosporium pannorum</i> (Link) Hughes | - | 3 | 21 | - | - | - | 1 | - | 1 | 2 | - | - | 7 | 6 | 1 | 1 | 1 | - | - | - | - | 4,5 | 7 |
| <i>Chrysosporium pruinatum</i> (Gilman et Abbott) (Carmichael) | 8 | 1 | 4 | - | 3 | 7 | - | 1 | 14 | - | 5 | 13 | 16 | 12 | 15 | 21 | 4 | 2 | - | - | - | 12,8 | 4 |
| st. dosk. <i>Anixiopsis stercoraria</i> Hansen | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 6 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,6 | 12 |
| <i>Chrysosporium tropicum</i> Carmichael | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 2 | - | - | - | - | - | - | - | 0,2 | 16 |
| <i>Chrysosporium</i> spp. | - | - | 1 | 2 | 2 | 2 | - | - | 1 | - | - | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | - | - | - | - | 1 | 1,5 | 8 |
| <i>Microsporium gypseum</i> (Bodin) Guiart et Grigoraskis | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | 1 | - | - | - | - | - | 2 | - | - | - | - | - | 0,4 | 14 |
| <i>Trichophyton ajelloi</i> (Vanbr.) Ajello | - | - | - | - | 2 | 5 | 4 | 3 | 4 | 8 | - | 4 | 1 | - | 30 | 28 | 30 | 20 | 30 | 30 | 28 | 23,1 | 1 |
| st. dosk. <i>Arthroderma uncinatum</i> Dawson et Gentles | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 17 | 9 | 5 | 1 | 1 | 28 | - | 6,2 | 6 |
| <i>Trichophyton terrestre</i> Durie et Frey | - | - | - | - | - | 3 | - | 6 | 25 | - | 5 | 12 | - | 1 | 7 | 30 | 30 | 20 | 30 | 30 | 11 | 21,4 | 2 |
| st. dosk. <i>Arthroderma quadrifidum</i> Dawson et Gentles | - | - | - | - | - | - | - | - | 12 | - | 1 | 8 | - | - | 5 | 27 | 30 | 18 | 29 | 29 | 1 | 16,3 | 3 |



Ryc. 1. Wskaźniki wzrostu grzybów keratynofilnych w osadach ściekowych
 Fig. 1. Growth indices of keratinophilic fungi in waste water sediments

DYSKUSJA

Już *Majchrowicz i Dominik* (2) wysunęli hipotezę, że keratynę włosów atakują bezpośrednio i szybko tylko te grzyby keratynofilne, które reprezentowane są w glebie przez aktywną grzybnię. Grzybnia ta wytwarza zewnątrzkomórkowe enzymy rozkładające ten substrat. „Wykrycie” keratyny przez nieaktywne zarodniki jest trudne. Jeśli w wyniku oddziaływania czynników środowiskowych nieaktywne zarodniki zostaną pobudzone do wzrostu, to proces opanowywania przez grzybnię włosów jest opóźniony. W świetle tej hipotezy oraz informacji własnych można przyjąć, że szybkie wychodzenie na włosy grzybów keratynofilnych, ich bogaty skład gatunkowy a także wysokie współczynniki pojawów są rezultatem wzrostu tych grzybów w osadach ściekowych w sprzyjających im warunkach biocenotycznych.

Dotychczas zebrane dane fizyczno-chemiczne i mikrobiologiczne są jeszcze niepełne (*Ulfig i Korcz*; dane nieopublikowane). Na ich podstawie można jednak postawić hipotezę, iż w miarę stabilizowania się materii organicznej osadów ściekowych, ich strukturalizacji i poprawy warunków przewietrzania, obecne w nich liczne odpady keratynowe stają się łatwiej dostępne dla wyspecjalizowanych w ich rozkładzie grzy-

bów. Początkowo, w gorszych warunkach tlenowych odpady te atakowane są przede wszystkim przez przedstawicieli rodzaju *Chrysosporium*, później coraz intensywniej rozkładają je dermatofity i ich stadia doskonałe. Zdominowanie osadów przez dermatofity wiąże się przypuszczalnie z zanikiem bakterii z grupy *coli* pochodzenia fekalnego. Rysują się więc możliwości wykorzystania grzybów keratynofilnych jako mikroorganizmów wskaźnikowych nie tylko przemian materii organicznej osadów ściekowych lecz także stopnia ich dezaktywacji pod względem sanitarnym.

Wyizolowane z osadów ściekowych grzyby to gatunki geofilne, rzadko wywołujące choroby u ludzi i zwierząt. Spośród tych grzybów, *Microsporium gypsem* częściej izolowany jest ze zmian chorobowych [3]. Można przypuszczać, że tlenowy lub beztlenowy rozkład materii organicznej osadów ściekowych prawdopodobnie nie sprzyja przeżyciu wysoko wyspecjalizowanych chorobotwórczych dermatofitów antropofilnych. Wyniki eksperymentów [4, 5] wskazują jednak, że niektóre silnie zarodnikujące dermatofity zoo- i geofilne natrafiają w osadach ściekowych na bardziej korzystne niż w glebie warunki biocenotyczne. Można się więc spodziewać tych grzybów w środowisku osadów, przede wszystkim ze względu na obfitość ściekowych odpadów keratynowych. Problemu tego nie można lekceważyć, szczególnie w przypadku stosowania osadów do rekultywacji i użyźniania gruntów.

K. Ulfig

KERATINOPHILIC FUNGI IN WASTE WATER SEDIMENTS

Summary

In 21 samples of various kinds of waste water sediments derived from 10 waste water treatment plants of Upper Silesia, the occurrence of keratinophilic fungi was examined. A 2-year recultivation cycle of one of the sediments was investigated. Keratinophilic fungi were found to occur abundantly in waste water sediments. The qualitative and quantitative composition of these fungi depends on the origin and composition of waste water sediments, stabilization degree of their organic matter, hydration degree and structure. It was postulated that keratinophilic fungi may be utilized as microbiological indices of the transformations of organic matter of waste water sediments as well as of the degree of their deactivation from the sanitary standpoint. These fungi can be particularly useful upon utilization of the sediments for recultivation and fertilization of grounds.

PIŚMIENNICTWO

1. Bertoldi de M.: Pathogenic fungi associated with land application of sludge. World Health Organisation, Regional Office for Europe 1981. – 2. Majchrowicz I., Dominik T.: Third contribution to the knowledge of keratinolytic and keratinophilic soil fungi in the region of Szczecin. Ekol. Pol. Ser. A., 1968, 16, 121. – 3. Prochacki H.: Podstawy mikologii lekarskiej. PZWL, Warszawa 1975. – 4. Ulfig K.: Wstępne badania wzrostu i przeżywalności wybranych dermatofitów chorobotwórczych na osadach dennych i ściekowych. Roczn. PZH, 1986, 37, 335. – 5. Ulfig K.: Wzrost i przeżywalność wybranych dermatofitów chorobotwórczych w osadach dennych i ściekowych. roczn. PZH, 1988, 39, 151. – 6. Ulfig K., Korcz M.: Isolation of keratinophilic fungi from sewage sludge. Sabouradia, 1983, 21, 247. – 7. Vanbreuseghem R.: Technique biologique pour l'isolment des dermatophytes du sol. Ann. Soc. Belg. Med. trop., 1942, 32, 173.

Dn. 1990.04.20

40-832 Katowice, ul. Kossutha 6