

Mirosława Orłowska*, Renata Krzyściak-Kosińska,
Halina Chomutowska***, Halina Ostrowska***

OOMYCOTA W WYBRANYCH ROZLEWISKACH BIAŁOWIESKIEGO PARKU NARODOWEGO

OOMYCOTA IN THE SELECTED RESERVOIRS IN THE BIALOWIESKI NATIONAL PARK

Słowa kluczowe: organizmy grzybopodobne (*Oomycota*), woda, Białowiecki Park Narodowy.
Key words: fungus-like organisms (*Oomycota*), fresh water, Białowiecki National Park.

Water and amphibious ecosystems are populated by different microorganisms, among which one will find fungus-like organisms, belonging to Oomycota phylum, Chromista kingdom. They are usually harmless saprotrophs, which develop on dead plant and animal remains. However, a significant part of fungus-like organisms leads a parasitic lifestyle causing plant and animal diseases. Parasitism mostly concerns organisms which settle water and amphibious ecosystems. Oomycota cause significant waste in fishing farming, and they contribute in reducing crab and reptile populations.

The aim of this work was to introduce the Oomycota species composition in the reservoirs of Dziedzinka and Tourist Trail. These places which are located in the strict protected area, in the natural reduction of land of the Białowiecki National Park.

The water reservoir Tourist Trail is situated in the best-preserved part of the Białowiecka Wilderness, in the ramification of Hwoźna and Narewka rivers, where human has no influence on the processes occurring in the forest. In the water collected from this stand, 17 species of fungus-like organisms were marked.

* *Dr n. med. inż Mirosława Orłowska, dr hab. Halina Ostrowska – Zakład Biologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Kilińskiego 1, 15-089 Białystok; tel.: 85 748 54 61; e-mail: helicoma@umb.edu.pl*

** *Dr Renata Krzyściak-Kosińska – Białowiecki Park Narodowy, Pracownia Naukowa, Park Pałacowy 5, 17-230 Białowieża.*

*** *Dr Halina Chomutowska – Zamiejscowy Wydział Zarządzania Środowiskiem Politechniki Białostockiej w Hajnówce, ul. Piłsudskiego 8, 17-200 Hajnówka.*

Dziedzinka moor is situated in the southeastern part of the Białowieski National Park. It is an upstanding moor of a continental type, which fills trough terrain in plate (to 1,5 m). In the samples of water collected for this stand, 19 species of Oomycota were marked.

*Special attention was paid to potentially pathogenic species, such as *Achlya debaryana*, *A. prolifera*, *Dictyuchus monosporus*, *Saprolegnia diclina*, *S. ferax*, *S. parasitica* and *Zoophagus insidians*, which can have a negative influence on the reptile population in the Białowieski National Park.*

The conducted analyses of the selected physicochemical factors of water reservoirs in the Białowieski National Park indicate a low content of biogenic relationships.

1. WPROWADZENIE

Ekosystemy wodne i ziemnowodne są zasiedlane przez różnorodne drobnoustroje, między innymi organizmy grzybopodobne należące do typu *Oomycota*, królestwa *Chromista* [Kirk i in. 2008]. Organizmy te charakteryzuje plecha cenocyticzna o celulozowej ścianie komórkowej. Lęgniowce rozmnażają się bezpłciowo przez uwicione pływki bądź płciowo przez oogamię, tworząc jedną lub kilka dużych gamet żeńskich w lęgni oraz liczne, drobne gamety męskie w plemni [Batko 1975].

Zwykle są to niegroźne saprotrofy rozwijające się na martwych szczątkach roślinnych i zwierzęcych. Obecność tych organizmów w ekosystemach wodnych oraz ich aktywność życiowa zależą od działania wielu czynników środowiskowych. Często są spotykane w zbiornikach wodnych z dużą ilością materii organicznej. Biorą aktywny udział w mineralizacji substancji organicznej, która jest niezbędna do ich rozwoju. Wydzielają do środowiska enzymy hydrolityczne, rozkładające związki wielocząsteczkowe, tj. wielocukry, tłuszcze i białka, co przyspiesza procesy oczyszczania się zbiorników wodnych [Batko 1975]. Znaczna część organizmów grzybopodobnych prowadzi jednak pasożytniczy tryb życia, wywołując choroby roślin i zwierząt. Pasożytnictwo dotyczy głównie lęgniowców zasiedlających ekosystemy wodne i ziemnowodne. *Oomycota* powodują znaczące straty w gospodarce rybackiej oraz przyczyniają się do zmniejszania się populacji raków i płazów [Meyer 1991, Van West 2006, Romansic i in. 2009]. Grzybnia powstaje najczęściej na uszkodzonych mechanicznie tkankach ryb i płazów, a także na żywych lub obumarłych ziarnach ikry czy skrzeku. Pewne gatunki *Oomycota* mogą zasiedlać organizmy żywe, nie wywołując żadnych objawów chorobowych.

2. METODY BADAŃ

Badania jakościowe organizmów grzybopodobnych przeprowadzono w wodzie z dwóch rozlewisk, położonych na terenie Białowieskiego Parku Narodowego w okresach wiosennym i jesiennym w latach 2009–2010.

Jako przynętę do hodowli *Oomycota* stosowano nasiona konopi [Seymour i Fuller 1987]. Po 72 godzinach inkubacji w temperaturze 15°C w zaciemnionym pomieszczeniu, przeprowadzono pierwsze badania mikroskopowe tych organizmów. Do obserwacji pod mikroskopem stosowano powiększenia 100-, 200-, 400- i 1000-krotne. Rozwijające się organizmy grzybopodobne oznaczano według cech morfologicznych i biometrycznych. Analizowano morfologię stadiów rozwojowych (płciowych i bezpłciowych) oraz całej grzybni, w szczególności kształt, wielkość, kolor i teksturę ścian komórkowych.

Próby przechowywano w możliwie niskiej temperaturze i ograniczonym oświetleniu, przez okres trzech tygodni, sukcesywnie obserwując rozwój organizmów grzybopodobnych na nasionach konopi.

Do oznaczania gatunków stosowano klucze mikologiczne [Sparrow 1960, Seymour 1970, Batko 1975, Dick 1990, Khulbe 2001 i Watanabe 2002] oraz liczne publikacje, które zawierają opisy i fotografie izolowanych gatunków.

Analizę fizykochemiczną wody z wybranych zbiorników astatycznych przeprowadzono ogólnie przyjętymi metodami [Hermanowicz i in. 1999].

3. TEREN BADAŃ

Badania obejmowały dwa rozlewiska – Dziedzinka oraz Szlak Turystyczny, położone na obszarze ściśle chronionym Białowieskiego Parku Narodowego. Ta część lasu jest chroniona od 1921 roku. Analizowane zbiorniki wodne są zlokalizowane w puszczy, około 1km od brzegu lasu, w naturalnych obniżeniach porośniętych grądem i lasem mieszanym. W czasie wegetacji rozlewiska porasta obfita roślinność. W związku z ograniczonym dostępem promieni słonecznych panuje tam niska temperatura, która opóźnia okres wegetacyjny, jednocześnie znacznie go wydłużając. Wiosną poziom wód na tym terenie jest wysoki, bywały jednak lata, w których rezerwuary wysychały.

Rozlewiska te są środowiskiem życia płazów i, w okresach wiosennych, miejscem ich rozmnażania.

4. WYNIKI I DYSKUSJA

Podczas badań mikologicznych prowadzonych w wybranych rozlewiskach w Białowieckim Parku Narodowym oznaczono lęgnowce głównie z rodzajów: *Achlya*, *Aphanomyces*, *Dictyuchus*, *Pythium*, *Saprolegnia* oraz *Zoophagus* (tab. 1). Zdecydowana większość gatunków należących do tych rodzajów wykazuje właściwości chitynofilne, proteolityczne i keratynofilne, co w sprzyjających warunkach umożliwia pasożytność, szczególnie na osłabionych organizmach wodnych i ziemnowodnych [Blaustein i Bancroft 2007].

Gatunki z rodzaju *Saprolegnia* przyczyniają się do ogromnej śmiertelności embrionów płazów [Robinson i in. 2003, Gomes-Mestre i in. 2006, Fregeneda-Grandes i in. 2007]. Do

gatunków najczęściej infekujących płazy należą: *Saprolegnia diclina*, *S. ferax*, *S. monoica* i *S. parasitica*. W wodzie analizowanych zbiorników najczęściej izolowanymi gatunkami były *Saprolegnia ferax* i *S. parasitica*.

Tabela 1. Gatunki Oomycota w wodzie badanych stanowisk

Table 1. Species Oomycota of water in particular places

Gatunki Oomycota	Dziedzinka	Szlak turystyczny
<i>Achlya apiculata</i> de Bary		+
<i>Achlya colorata</i> Pringsheim		+
<i>Achlya debaryana</i> Humphrey		+
<i>Achlya dubia</i> Coker	+	
<i>Achlya flagellata</i> Coker		+
<i>Achlya glomerata</i> Coker	+	
<i>Achlya megasperma</i> Humphrey		
<i>Achlya orion</i> Coker and Couch		+
<i>Achlya polyandra</i> Hildebrandt	+	
<i>Achlya proliferoides</i> Coker	+	
<i>Achlya treleaseana</i> (Humphrey) Kauffman	+	
<i>Aphanomyces astaci</i> Schikora	+	+
<i>Aphanomyces irregularis</i> Scott	+	
<i>Aphanomyces parasiticus</i> Coker		+
<i>Aphanomyces stellatus</i> de Bary	+	
<i>Aplanopsis spinosa</i> Dick		+
<i>Cladolegnia unispora</i> (Coker et Couch) Johannes		+
<i>Dictyuchus monosporus</i> Leitgeb	+	
<i>Phytium debaryanum</i> Hesse	+	
<i>Pythium infalatum</i> Matthews		+
<i>Pythium tenue</i> Gobi	+	
<i>Pythium undulatum</i> Petersen	+	
<i>Pythiopsis cymosa</i> de Bary		+
<i>Saprolegnia anispora</i> de Bary		+
<i>Saprolegnia diclina</i> Humphrey		+
<i>Saprolegnia ferax</i> (Gruith) Thurnet	+	+
<i>Saprolegnia mixta</i> de Bary	+	
<i>Saprolegnia monoica</i> Pringsheim	+	
<i>Saprolegnia parasitica</i> Coker	+	+
<i>Saprolegnia uliginosa</i> Johannes	+	+
<i>Traustotheca clavata</i> (de Bary) Humphrey	+	
<i>Zoophagus insidians</i> Sommerstorff	+	+
Liczba gatunków: 32	19	17

Organizmy grzybobopodobne z rodzajów *Achlya*, *Aphanomyces* i *Dictyuchus* również mogą rozwijać się na skórze kręgowców [Blaustein i Bancroft 2007]. Gatunkami z rodzaju

Achlya najczęściej pasożytującymi na organizmach ziemnowodnych są: *Achlya flagellata*, *A. debaryana*, *A. polyandra* i *A. prolifera* [Romansic i in. 2009]. *Achlya polyandra* była izolowana zarówno wiosną, jak i jesienią z wody rozlewiska Dziedzinka.

Z pasożytniczego rodzaju *Aphanomyces* izolowano 4 gatunki: *A. astaci*, *A. irregularis*, *A. parasiticus* i *A. stellatus*. Dwa pierwsze z wymienionych gatunków są pasożytami fakultatywnymi o właściwościach keratynofilnych oraz chitynofilnych. *Aphanomyces astaci* – gatunek pasożytujący najczęściej na rakach – izolowano z wody obu stanowisk (tab.1). Wspólną cechą opisanych organizmów jest możliwość pasożytowania na łęgniowcach z rodzaju *Achlya* oraz na rybach [Batko 1975].

Dictyuchus monosporus jest opisany w literaturze jako saprotrof, ale także jako pasożyt zranionych ryb i płazów. Według Harveya gatunek ten preferuje wody czyste, niezanieczyszczone [Batko 1975]. Organizm ten izolowano zarówno wiosną, jak i jesienią z prób wody pobieranej z rozlewiska Dziedzinka.

Rodzaj *Pythium* obejmuje około 150 gatunków występujących w różnych rejonach świata. Są to pasożyty fakultatywne, zasiedlające środowiska zarówno glebowe, jak i wodne. W wodzie analizowanych zbiorników oznaczono *Pythium debaryanum*, *P. inflatum*, *P. tenue* oraz *P. undulatum*. Najczęściej izolowano *P. debaryanum*, który jest opisany w literaturze głównie jako fitopatogen. Pierwsze informacje o *P. inflatum* pochodzą ze Stanów Zjednoczonych, gdzie gatunek został opisany jako saprotrof glebowy. *Pythium tenue* w literaturze jest opisany jako pasożyt glonów *Cladophora*, *Vaucheria* oraz *Spirogyra* [Batko 1975].

W wodzie obu rozlewisk stwierdzono obecność drapieżnego gatunku *Zoopagus insidians*. Biologią tego gatunku zajmowało się wielu naukowców. Prowse [1954], obserwując mechanizm zdobywania wrotków przez ten gatunek, opisał przenikanie łęgniowca do wnętrza ofiary i tworzenie splątanej, paraliżującej sieci.

Obecność *Oomycota* w ekosystemach wodnych oraz ich aktywność życiowa zależą od działania wielu czynników środowiskowych. Czynniki te mogą być związane z wodą, z podłożem lub żywicielem, na którym lub w którym rozwijają się organizmy grzybopodobne. Czynniki abiotyczne, takie jak temperatura i pH wody, skutecznie ograniczają bądź stymulują rozwój organizmów grzybopodobnych, jednak dane z literatury wskazują na dużą tolerancję tych organizmów na odczyn wody [Romansic i in. 2006]. Odczyn wód analizowanych zbiorników był wyraźnie kwaśny (tab. 2).

Bardzo ważnym dla rozwoju łęgniowców parametrem jest również zawartość związków biogenych w wodzie. Udowodniono, że duża zawartość azotu azotanowego (V) w wodzie wpływa ograniczająco na rozwój *Oomycota* [Romansic i in. 2006]. Zawartość związków azotowych, tj. stężenie jonów amonowych oraz azotu azotanowego (III) i (V) jest istotnym wskaźnikiem oceny czystości wód powierzchniowych. Jak wynika z przeprowadzonych badań zawartość związków biogenych w analizowanych rozlewiskach nie była podwyższona, co może sprzyjać rozwojowi organizmów grzybopodobnych w tym środowisku.

Na rozwój wodnych form lęgniowców mają również wpływ takie właściwości fizykochemiczne wody jak: dynamika, ilość, ciągłość przestrzenna i czasowa, natlenienie, temperatura oraz naświetlenie.

Tabela 2. Wybrane parametry fizykochemiczne wody (średnie wartości) z poszczególnych stanowisk

Table 2. Some of the physicochemical parametrs of water (averages of value) in particular places

Stanowisko	pH	Zawartość, mg·dm ³									
		Cl ⁻	N-NO ₃ ⁻	N-NO ₂ ⁻	N-NH ₄ ⁺	Ca	P-PO ₄ ³⁻	Fe	Cd	Pb	Zn
Dziedzinka	5,65	2,82	2,50	0,06	0,74	14,59	1,31	1,024	<0,001	<0,015	0,021
Szlak Turystyczny	5,73	1,90	1,77	0,05	0,29	10,47	1,79	0,674	<0,001	<0,015	0,020

Zmiany parametrów hydrologicznych rzek puszczańskich, wywołane czynnikami klimatycznymi i zwiększoną produktywnością siedlisk, wskazują na tendencję zmniejszania się zasobów wodnych na terenie Białowieskiego Parku Narodowego [Kwiatkowski 2004]. Zjawisko takie uznano za alarmujący sygnał do podjęcia działań zapobiegawczych. Wykonane w latach 1985–2003 pomiary wykazały tendencję obniżania się położenia wód gruntowych w siedliskach olsowych Puszczy Białowieskiej [Pierzgalski i in. 2004].

Tereny podmokłe stanowią optymalne środowisko życia dla płazów, których liczebność zmniejszyła się również na obszarze Puszczy Białowieskiej [Briggs i in. 1998]. Z badań wynika, że dewastacja środowiska, zanieczyszczenie pestycydami, ocieplenie klimatu i zwiększone dawki promieniowania ultrafioletowego są przyczyną stresu w populacjach płazów na całym świecie, który osłabia ich odporność na infekcje spowodowane przez grzyby oraz *Oomycota* [Alford i in. 2001, Collinsi i Storfer 2003, Resetarits 2005, Blaustein i Bancroft 2007].

Ten złożony i aktualny problem, odnoszący się do zagrożenia bioróżnorodności płazów może dotyczyć również terenu Puszczy Białowieskiej. Zarówno czynniki biotyczne, jak i abiotyczne mogą tworzyć układ synergistyczny z czynnikami chorobotwórczymi. W ten sposób skutki infekcji wywołanych przez organizmy grzybopodobne mogą być znacznie większe. Uzasadnia to badanie składu gatunkowego *Oomycota*, które mogą stanowić potencjalne zagrożenie dla populacji płazów na terenie Białowieskiego Parku Narodowego.

5. PODSUMOWANIE

Wpływy antropogeniczne na naturalne ekosystemy wodne są często wielokierunkowe, a ich konsekwencje trudne do interpretacji. Mogą one wpływać na bioróżnorodność, stabilność i funkcjonowanie ekosystemów. Często oddziaływanie pojedynczego czynnika w całym szeregu zmian środowiskowych może być trudne do określenia. Dzięki dogłębnemu po-

znaniu oddziaływania czynników fizykochemicznych wody na rozwój *Oomycota* można wykorzystywać te organizmy jako bioindykatory zmian środowiskowych.

W przeprowadzonych badaniach stwierdzono obecność 32 gatunków należących do *Oomycota*. Rozwój lęgniowców był obserwowany w wodach pochodzących z dwóch rozlewisk położonych na ściśle chronionym obszarze Białowieskiego Parku Narodowego. Stawiska różniły się parametrami fizykochemicznymi wody, a także składem gatunkowym organizmów grzybobodobnych. W mikrobiocie badanych stanowisk stwierdzono obecność lęgniowców chorobotwórczych, stanowiących potencjalne zagrożenie dla rozwoju płazów, np. *Achlya debaryana*, *A. prolifera*, *Dictyuchus monosporus*, *Saprolegnia diclina*, *S. ferax*, *S. parasitica* oraz *Zoophagus insidians*.

Na liczebność i skład gatunkowy *Oomycota* prawdopodobnie miały wpływ: zasobność zbiorników w materię organiczną, parametry fizykochemiczne wody oraz zasobność akwenu w wodę. Czynniki abiotyczne, tj. temperatura, wilgotność, nasłonecznienie, wraz z elementami biotycznymi pobudzają lub hamują rozwój, aktywność i rozmnażanie lęgniowców.

PIŚMIENICTWO

- ALFORD R.A., DIXON P.M., PECHMANN J.H.K. 2001. Global amphibian population decline. *Nature* 414: 449–500.
- BATKO A. 1975. Zarys hydromikrobiologii. PWN, Warszawa.
- BLAUSTEIN A.R., BANCROFT B.A. 2007. Amphibian Population Declines: Evolutionary Considerations. *BioScience* 57 (5): 437–444.
- BRIGGS L., ADRADOS L.C.H., BUSZKO M. 1998. Ochrona Płazów Puszczy Białowieskiej. Archiwum Białowieskiego Parku Narodowego.
- COLLINSI J.P., STORFER A. 2003. Global amphibian declines: sorting the hypotheses. Blackwell Publishing Ltd, *Diversity and Distributions* 9: 89–98.
- DICK M.W. 1990. Keys of Pythium. College Estate Management Whiteknights, Reading U.K.: 64.
- FREGENEDA-GRANDES J.M., RODRIGUEZ-CADENAS F., ALLER-GANCEDO J.M. 2007. Fungi isolated from cultured eggs, alevins and broodfish of brown trout in a hatchery affected by saprolegniosis. *J. Fish Biol.* 71: 510–518.
- GOMEZ-MESTRE I., TOUCHON J.C., WARKENTIN K.M. 2006. Amphibian Embryo and Parental Defenses and a Larval Predator Reduce Egg Mortality from Water Mold. *Ecology* 87(10): 2570–2581.
- HERMANOWICZ W., DOJLIDO J., DOŻAŃSKA W., KOZIOROWSKI B., ZERBE J. 1999. Fizyko-chemiczne metody badania wody i ścieków. Arkady, Warszawa.
- KHULBE R.D. 2001. A manual of aquatic fungi. Daya Publishing House, Delhi.
- KIRK P.M., CANNON P.F., MINTER D.W., STALPERS J.A. 2008. Ainsworth and Bisby's dictionary of the Fungi. X.CABI Europe-UK, CAB International, Wallingford.

- KWIATKOWSKI W. 2004. Geologiczne i hydrogeologiczne uwarunkowania rozmieszczenia roślinności w Puszczy Białowieskiej. W: Zagrożenia leśnych siedlisk hydrogenicznych w Puszczy Białowieskiej. Mat. seminarium naukowo-technicznego, Białowieża, 21 maja 2004 r. Regionalna Dyrekcja LP w Białymstoku, Instytut Badawczy Leśnictwa, PTL Oddział Białystok, Federacja Stowarzyszeń Naukowo-Technicznych NOT Oddział Białystok, Warszawa: 3–14.
- MEYER F.P. 1991. Aquaculture disease and health management. *Journal of Animal Science* 69: 4201–4208.
- PIERZGALSKI E., BOCZOŃ A., WRÓBEL M. 2004. Zmiany poziomów wód gruntowych w siedliskach hydrogenicznych w Puszczy Białowieskiej. W: Zagrożenia leśnych siedlisk hydrogenicznych w Puszczy Białowieskiej. Mat. seminarium naukowo-technicznego, Białowieża, 21 maja 2004 r. Regionalna Dyrekcja LP w Białymstoku, Instytut Badawczy Leśnictwa, PTL Oddział Białystok, Federacja Stowarzyszeń Naukowo-Technicznych NOT Oddział Białystok, Warszawa: 79–87.
- PROWSE G.A. 1954. *Sommerstorffia spinosa* and *Zoophagus insidians* predaceous on rotifers and *Rozellopsis inflata* the endoparasite of *Zoophagus*. *Trans. Brist. Mycol. Soc.* 37: 134–150.
- RESETARITS W.J. 2005. Habitat selection behaviour links local and regional scales in aquatic systems. *Ecology Letters* 8: 480–486.
- ROBINSON J., GRIFFITHS R.A., JEFFRIES P. 2003. Susceptibility of frog (*Rana temporaria*) and toad (*Bufo bufo*) eggs to invasion by *Saprolegnia*. *Amphibia-Reptilia* 24: 261–268.
- ROMANSIC J.M., DIEZ K.A., HIGASHI E.M., BLAUSTEIN A.R. 2006. Effects of nitrate and the pathogenic water mold *Saprolegnia* on survival of amphibian larvae. *Dis Aquat Organ.* 68 (3) :235–43.
- ROMANSIC J.M., DIEZ K.A., HIGASHI E.M., JOHNSON J.E., BLAUSTEIN A.R. 2009. Effects of the pathogenic water mold *Saprolegnia ferax* on survival of amphibian larvae. *Dis. Aquat. Org.* 83: 187–193.
- SEYMOUR R.L. 1970. The genus *Saprolegnia*. *Nova Hedwigia* 19:1–124.
- SEYMOUR R.L., FULLER M.S. 1987. Collection and isolation of water molds (*Saprolegnia-ceae*) from water and soil. W: Fuller M.S., Jaworski A. (red.) *Zoosporic fungi in teaching and research*. Southeastern Publishing, Athens: 125–127.
- SPARROW F.K. 1960. *Aquatic Phycomycetes*. The University of Michigan Press, Ann Arbor, Michigan.
- VAN WEST P. 2006. *Saprolegnia parasitica*, an oomycete pathogen with a fishy appetite: new challenges for an old problem. *Mycologist* 20: 99–104.
- WATANABE T. 2002. *Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species*. Second edition. CRC Press, Boca Raton, Florida.