

Występowanie *Dictyuchus monosporus* Leitgeb u ryb w niektórych wodach północno-wschodniej Polski

BOŻENA KIZIEWICZ, BAZYLI CZECZUGA

Zakład Biologii Ogólnej Wydziału Lekarskiego AM, ul. Kilińskiego 1, 15-089 Białystok

Kiziewicz B., Czczuga B.

Occurrence of fungus *Dictyuchus monosporus* Leitgeb parasite of fishes in the running waters of northeastern Poland

Summary

The study investigated the occurrence of *Dictyuchus monosporus* Leitgeb fungus, using the bait method, in relation to the environmental conditions of the surface waters of the Bug, Supraśl and Biała rivers and the Cypisek, Dolistówka, Dojlidy Górne, Sobolewo, and Zwierzyniec springs in northeastern Poland between 2001-2002. During this period the fungus was most commonly found at sites of springs and on fish eggs. *Exuvia* was the most frequently colonized bait. The occurrence of *Dictyuchus monosporus* in the above water reservoirs was shown to be mostly affected by the content of biogenes, suspended solids, and temperature. Its appearance in the rivers was seasonal and was most common in spring and autumn.

Keywords: *Dictyuchus monosporus*, rivers, springs, hydrochemistry, northeastern of Poland

Wodne grzyby pasożytnicze stanowią rozpowszechnioną grupę mikroorganizmów występujących w różnego rodzaju akwenach. Spotyka się je we wszystkich szerokościach geograficznych i często są przyczyną grzybic zwierząt wodnych, a zwłaszcza ryb (19). Niektóre grzyby są pierwotnym czynnikiem etiologicznym, inne zaś osiedlają się w miejscach uszkodzonych mechanicznie lub też w wyniku infekcji wirusowych, bakteryjnych, inwazji pasożytów i wtedy wtórnie wywołują powikłania chorobowe (29). Wśród pasożytniczych grzybów wodnych znajduje się między innymi *Dictyuchus monosporus* (26), który należy do pasożytów fakultatywnych występujących w zbiornikach wyłącznie lub prawie wyłącznie na swoich żywicielach. Jednak zdarza się nieraz, że grzyb ten rozwija się również na martwych podłożach zarówno w warunkach naturalnych, jak i laboratoryjnych.

Dictyuchus monosporus wywołuje tzw. pleśniawkę – chorobę grzybiczą mogącą atakować wiele gatunków ryb. Grzybnia rozwija się przede wszystkim na uszkodzonych tkankach bądź obumarłej ikrze. Pleśniawka, której czynnikiem etiologicznym są grzyby wodne może pojawiać się u licznych gatunków ryb i jest przyczyną znacznych strat w hodowli zarówno w warunkach sztucznych – w stawach hodowlanych, jak i naturalnych – w rzekach i jeziorach (15, 20, 28, 29).

Celem badań było:

– ustalenie, w których porach roku w zbiornikach wodnych typu lotycznego zlokalizowanych na terenie

północno-wschodniej Polski najczęściej występuje *Dictyuchus monosporus*

– określenie wpływu czynników środowiskowych na występowanie *Dictyuchus monosporus*

– ustalenie najlepszego podłoża naturalnego (roślinnego lub zwierzęcego), do rozwoju *Dictyuchus monosporus*.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w 8 zbiornikach wodnych zlokalizowanych w Białymstoku i okolicach, w których wyznaczono od 1 do 5 stanowisk poboru wody. Obserwacjami objęto rzeki Bug, Supraśl i Białą oraz źródła zlokalizowane na terenie Białegostoku i jego okolic (Dolistówka, Cypisek, Dojlidy Górne, Sobolewo i Zwierzyniec). Wiosną, latem, jesienią i zimą pobierano każdorazowo po 7-9 próbek wody z każdego wyznaczonego stanowiska. Probki wody o objętości 2,0 dm³ przeznaczone do badań fizyko-chemicznych z ustalonych zbiorników wodnych pobierano około 0,20 m pod powierzchnią wody za pomocą aparatu Ruttnera. Analiza hydrochemiczna wody obejmowała oznaczenie temperatury, pH, utlenialności, dwutlenku węgla, zasadowości ogólnej, azotu amonowego, azotu azotanowego, azotu azotanowego, fosforanów, żelaza całkowitego, siarczanów, chlorków, wapnia, magnezu, suchej pozostałości, substancji rozpuszczonych i zawiesiny. Badania fizyko-chemiczne wody wykonano według metod zalecanych przez Standard Methods (16, 17). Do izolowania *Dictyuchus monosporus* Leitgeb zastosowano metodę przynęt. Były to ziarna gryki, konopi, wylinka węża oraz mięśnie i ikra ka-

rasia (*Carassius carassius* L.). Próbkę wody z poszczególnych zbiorników przechowywano w pomieszczeniu, którego warunki termiczno-światłowe były zbliżone do naturalnych. Wysterylizowane przynęty wkładano do litrowych pojemników i zalewano wodą z odpowiedniego stanowiska, następnie przechowywano przez okres około jednego miesiąca. Przynęty przeglądano sukcesywnie pod mikroskopem optycznym co kilka dni poczynając od trzeciego dnia od założenia hodowli. Następnie z każdej próbki wykonano kilkanaście preparatów mikroskopowych. Podczas obserwacji używano mikroskopu optycznego z powiększeniem 100 i 400 razy. Jednocześnie wykonywano pomiary poszczególnych stadiów rozwojowych grzyba mikrometrem okularowym. Równocześnie prowadzono badania mikroskopowe grzyba na skaningowym mikroskopie elektronowym HITACHI 3000N wyposażonym w stolik wymroźniowy do preparatów biologicznych. Zastosowanie stolika wymroźniowego pozwoliło na obserwację wilgotnych próbek grzybów bez ich wcześniejszego przygotowywania, to jest suszenia i naparowywania. Przy identyfikacji *Dictyuchus monosporus* brano pod uwagę organy wegetatywne, takie jak kształt i wielkość strzępki, organy rozmnażania bezpłciowego – kształt zarodni i zarodników oraz organy generatywne – łęgnie, a w nich oospory oraz plemniki. Identyfikacji gatunku dokonywano wg Batko (1), Bedeneka (2) oraz Müllera i Loefflera (25). Wyniki badań poddano analizie statystycznej stosując metodę analizy skupień oraz

test U dla dwóch częstości, gdzie wyniki uznano za istotne statystycznie na poziomie istotności $\leq 0,05$.

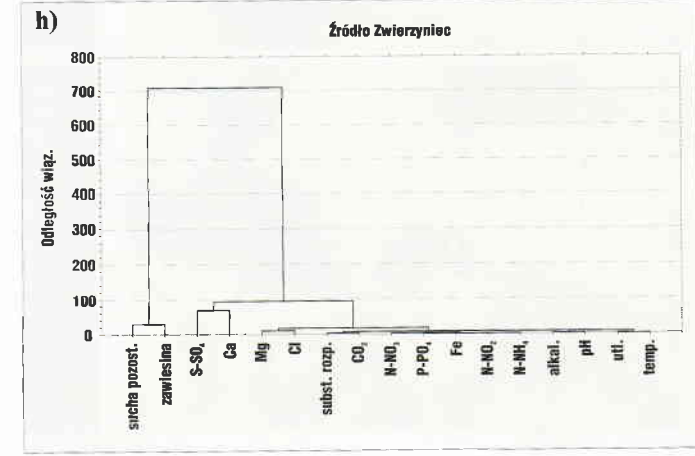
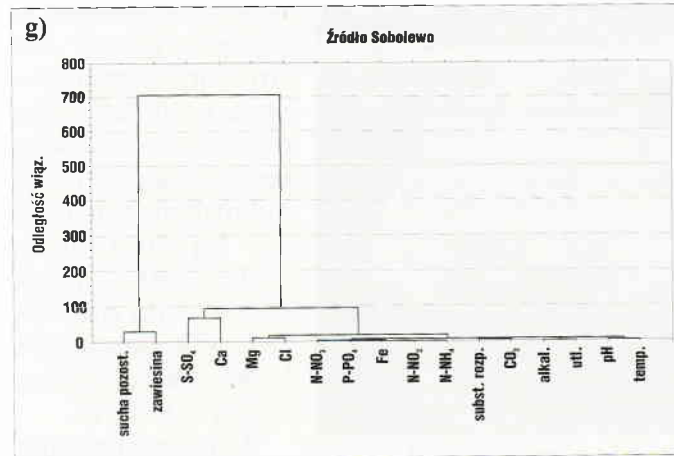
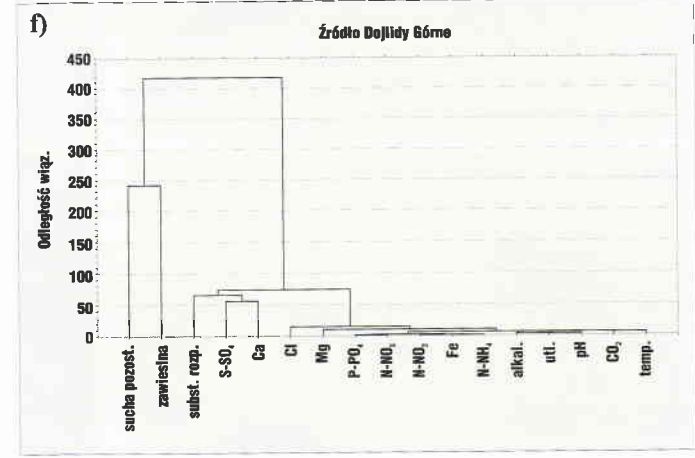
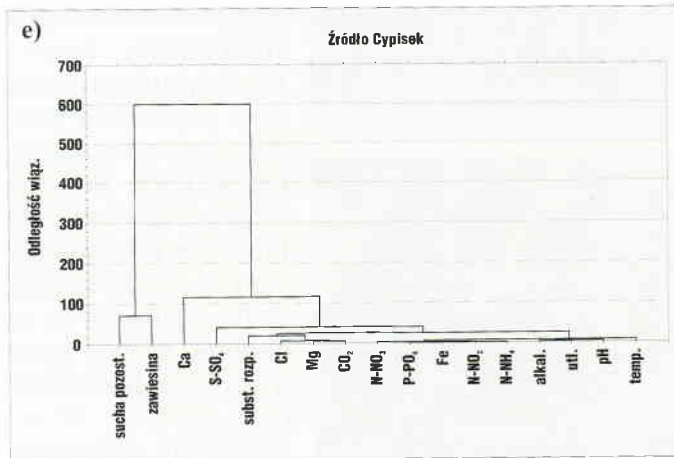
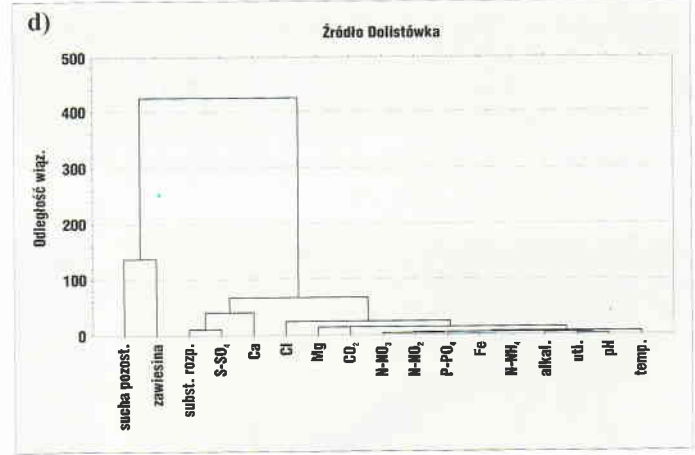
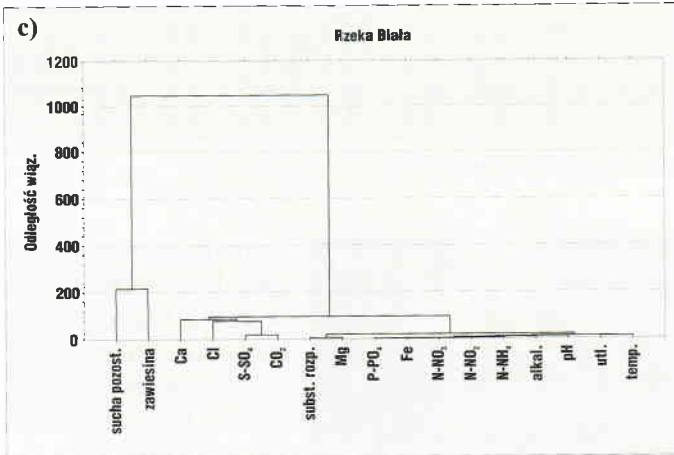
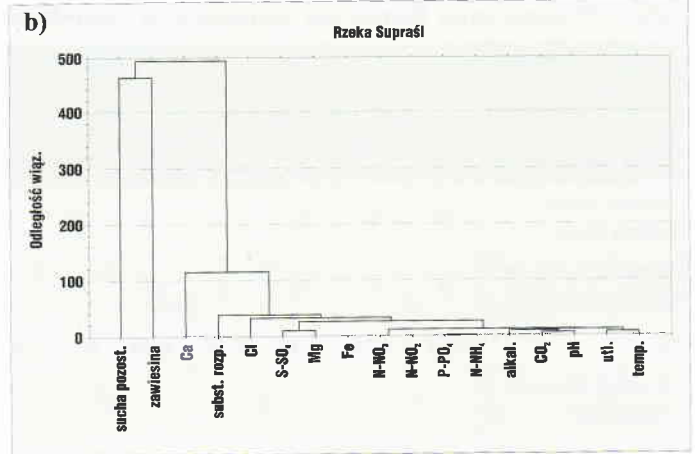
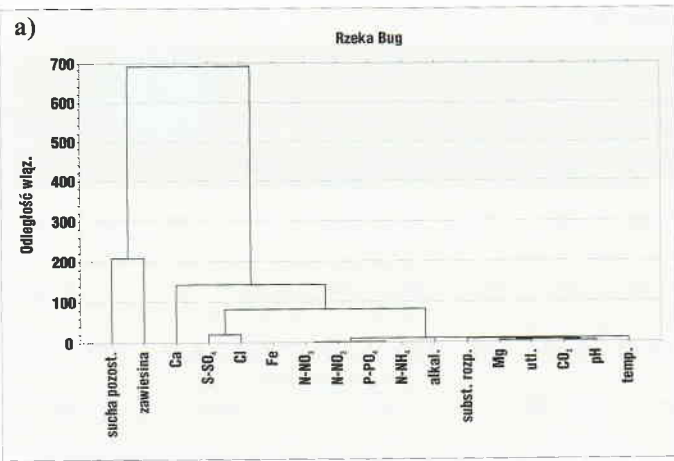
Wyniki i omówienie

Wyniki badań fizyko-chemicznych wody przedstawiono w tab. 1 i na ryc. 1a-h. Analiza podobieństw uzyskanych wyników wykazała, że w badanym okresie czynnikiem środowiskowym określającym częstość występowania *Dictyuchus monosporus* w źródłach była temperatura, materia nieorganiczna i organiczna (sucha pozostałość, zawiesina, siarczany i chlorki), a w rzekach ilość nierozpuszczalnych związków tworzących zawiesiny (tab. 1, ryc. 1a-h).

Występowanie *Dictyuchus monosporus* w zbiornikach wodnych podano w tab. 2. Najczęściej kolonizowaną przynętą przez *Dictyuchus monosporus* była ikra karasia. *Dictyuchus monosporus* występował z różną częstością w badanych zbiornikach wodnych północno-wschodniej Polski. Wykrywany był on w całym okresie badawczym w źródłach Białegostoku i okolic. Natomiast w badanych rzekach grzyb ten pojawiał się znacznie rzadziej. Jego obecność w rzekach obserwowano przeważnie w miesiącach wczesnowiosennych i późnojesiennych. *Dictyuchus monosporus* posiada grzybnię o darni białej i grubych, widlasto rozgałęzionych strzępkach. Zarodnie mają kształt cylindryczny,

Tab. 1. Skład chemiczny wody badanych zbiorników (w mg l⁻¹)

Badane parametry	Rzeka			Źródło				
	Bug	Supraśl	Biała	Dolistówka	Cypisek	Dojlidy Górne	Sobolewo	Zwierzyniec
Temperatura (°C)	12,2	12,5	12,8	10,5	10,2	9,9	11,5	11,0
pH	7,93	7,09	7,49	7,08	7,00	7,10	7,03	7,03
Utlenialność	9,97	12,05	10,36	6,70	4,60	5,90	10,60	10,60
CO ₂	8,80	8,80	52,48	26,40	24,20	12,60	15,40	15,40
Alkaliczność (mval l ⁻¹)	4,0	4,3	4,4	4,6	5,7	4,6	6,8	6,8
N-NH ₄	0,500	0,250	2,240	0,205	0,510	0,304	0,194	0,194
N-NO ₂	0,013	0,011	0,031	0,029	0,006	0,027	0,638	0,638
N-NO ₃	0,290	0,010	0,270	2,052	1,484	1,632	2,866	2,866
P-PO ₄	0,590	0,170	1,220	0,255	0,134	1,252	1,241	1,241
Cl	39,0	32,0	78,9	40,4	30,2	26,5	33,5	33,5
Zawartość całkowita Ca	85,6	72,0	105,1	108,0	131,1	102,6	128,2	128,2
Zawartość całkowita Mg	9,89	20,64	20,65	18,51	26,73	18,16	27,20	27,20
S-SO ₄	39,00	22,21	54,20	84,80	63,80	69,83	88,90	88,90
Fe	0,20	0,45	0,56	0,20	0,0	0,43	0,45	0,45
Zawiesina	318	305	470	432	520	522	552	552
Sucha pozostałość	312	265	451	353	479	381	535	535
Substancje rozpuszczone	6	40	19	79	41	141	17	17



Ryc. 1a-h Podobieństwo badanych parametrów fizykochemicznych w rzekach i źródłach (miara podobieństwa – odległość Euklidesowa)

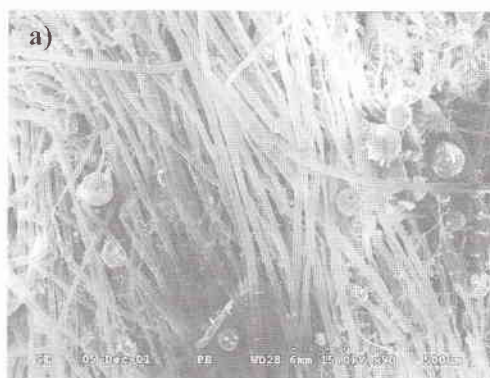
Tab. 2. Występowanie *Dictyuchus monosporus* w zbiornikach wodnych

Występowanie <i>Dictyuchus monosporus</i> okres badań	Rzeka						Źródło									
	Bug		Supraśl		Biała		Dolistówka		Cypisek		Dojlidy Górne		Sobolewo		Zwierzyniec	
	2001	2002	2001	2002	2001	2002	2001	2002	2001	2002	2001	2002	2001	2002	2001	2002
Ogólna liczba próbek wody	30	34	32	32	28	36	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32
W poszczególnych latach 2001-2002	8	5	4	4	12*	6*	13	10	21	15	21	26	11	17	7	6
%	0,27	0,15	0,13	0,13	0,43	0,17	0,41	0,31	0,66	0,47	0,66	0,81	0,34	0,53	0,22	0,19
W całym okresie badawczym	13		8		18*		23*		36*		47*		28*		13*	
%	0,20		0,16		0,28		0,36		0,56		0,73		0,44		0,20	
Okres badań	j: 5 l: 3	j: 3 l: 2	j: 2 z: 2	j: 1 z: 3	j: 4 z: 3 w: 4 l: 1	j: 3 w: 2 l: 1	j: 2 z: 3 w: 5 l: 3	j: 4 z: 2 w: 4	j: 6 z: 3 w: 8 l: 4	j: 5 z: 3 w: 5 l: 2	j: 8 z: 3 w: 7 l: 3	j: 7 z: 5 w: 8 l: 6	j: 3 z: 2 w: 5 l: 1	j: 4 z: 4 w: 6 l: 3	j: 3 z: 1 w: 2 l: 1	j: 2 w: 3 l: 1

Objaśnienia: j – jesień, z – zima, w – wiosna, l – lato, * różnice istotne statystycznie ($p \leq 0,05$)



Ryc. 2. *Dictyuchus monosporus* Leitgeb: a) zarodnia z pływkami, b) zarodnia po opróżnieniu pływek, c) strzępki z łęgniami



Ryc. 3. *Dictyuchus monosporus* Leitgeb: a) strzępki z łęgniami, b) strzępki, c) łęgnia z jamkami i otworkami

a znajdujące się w nich zarodniki układają się w kilku rzędach, otaczają się błoną, a następnie opuszczają zarodnię. Puste, kanciaste błony zarodników nadają zarodniom wygląd siatkowaty. Łęgnie z jedną aperturą dość swobodnie układają się ekscentrycznie w łęgniu oosporą (oospora zawiera jedną lub dwie krople tłuszczu), o kształcie kulistym, osadzone są na długich, zwykle bocznych odgałęzieniach (ryc. 2a, b, c). W mikroskopie elektronowym skaningowym zauważone zostały inne struktury komórkowe poza tymi, które dotychczas obserwowano i opisywano przy użyciu mikroskopu optycznego. Są nimi liczne wgłębienia – jamki oraz otworki znajdujące się w ścianie komórkowej otaczającej łęgnie (ryc. 3a, b, c).

W przeprowadzonych dotychczas badaniach obecność *Dicty-*

uchus monosporus stwierdzono najczęściej w różnych rodzajach wód słodkich, a także w tych samych porach roku, co i w przypadku badań własnych (7, 9, 21, 33). Wykazano, że *Dictyuchus monosporus* najlepiej rozwija się w wodach zimnych o temperaturze 5-6°C, również zakażenie ikry ryb tym grzybem zachodzi najintensywniej przy tych temperaturach (22, 23). Należy zwrócić uwagę, że temperatura wody w badanych źródłach wahała się od 0,5°C w zimie do 12°C w lecie. Oznacza to, że latem temperatura wody w źródłach w porównaniu z innymi zbiornikami jest niska. Natomiast średnia temperatura źródeł w całym okresie badawczym wahała się od 9,9°C do 11°C. Prawdopodobnie dlatego z tak dużą częstotliwością pojawiał się *Dictyuchus monosporus* w badanych źródłach we wszystkich sezonach badawczych, a w rzekach najczęściej wiosną i jesienią. Niska temperatura wody jest czynnikiem sprzyjającym rozwojowi grzybnicy i gromadzeniu się zarodników (15). Zawiesina, a więc substancje nierozpuszczalne w wodzie mogą mieć także niekorzystny wpływ na zdrowie ryb. Duża ich ilość może odkładać się na ciele ryb i spowodować upośledzenie procesów oddechowych oraz stany zapalne tkanek. Osłabione w ten sposób ryby są szczególnie podatne na infekcje bakteryjne i grzybicze (29).

Najmniejsza częstość występowania *Dictyuchus monosporus* obserwowana była w wodzie Supraśli, a największa w źródle Dojlidy Górne. Należy podkreślić, że w wodzie Supraśli w porównaniu z dwiema pozostałymi rzekami były najmniejsze koncentracje materii nieorganicznej i organicznej w porównaniu z wszystkimi badanymi zbiornikami, a woda rzeki Supraśl była najuboższa w wapń, siarczany, zawiesiny i suchą pozostałość. Ponadto w wodzie tej rzeki stwierdzono najwyższą utlenialność. Natomiast woda źródła Dojlidy Górne zawierała najmniej chlorków. Wynikałoby z tego, że oprócz temperatury na występowanie *Dictyuchus monosporus* wpływają jeszcze inne czynniki środowiskowe. *Dictyuchus monosporus* spotykano również w niektórych jeziorach, stawach rybnych i rzekach północno-wschodniej Polski (3, 4, 8, 11-13).

Rozwój *Dictyuchus monosporus* obserwowano najczęściej na mięśniach i ikrze karasia. Na pozostałych przynętach użytych do badań grzyb wystąpił sporadycznie. Pasożyt częściej kolonizował obumarłą ikrę niż mięśnie karasia. Lartzeva i Dudka (23) w wyniku badań przeprowadzonych na ikrze ryb łososiowatych i jesiotrowatych wykazali, że grzyby należące do tego samego rzędu *Saprolegniales* co *Dictyuchus monosporus* częściej atakują ikrę przed niż po zapłodnieniu. Obecność tego grzyba stwierdzono też na płazach wodnych (6) i innych gatunkach ryb (5, 10). Okazuje się, że w sprzyjających warunkach szczególnie na osłabionych i uszkodzonych mechanicznie tkankach zwierząt *Dictyuchus monosporus* chętnie rozwija się i powszechnie uznawany jest również za niebezpiecznego pasożyta ryb (26), podobnie jak grzyby *Saprolegnia ferax* (Gruith) Thurnet i *Saprolegnia parasitica*

Coker (14, 18, 19, 23, 24, 26-32). W wodach śródlądowych Podlasia spotykano również dwa inne gatunki tego rodzaju – *Dictyuchus sterilis* Lindstedt i *Dictyuchus magnusii* Coker (10, 20, 33), które, co prawda rzadziej, ale także wywołują saprolegniozę ryb.

Piśmiennictwo

1. Batko A.: Zarys hydromikologii, PWN, Warszawa 1975, s. 318.
2. Bedenek T.: Fragmenta Mycologica, I. Some historical remarks of the development of "hairbaiting" of Toma-Karling-Vanbreuseghem (the To-Ka-Va-hairbaiting method), Mycopathol. Appl. 1972, 68, 104-106.
3. Czeczuga B.: Aquatic fungi of the river Pisa and its tributary, the River Skroda. Acta hydrochim, hydrobiol. 1991, 19, 57-65.
4. Czeczuga B.: Aquatic fungi of Lake Hańcza in the Suwałki Scenic Park and of some adjacent lakes (northeastern Poland). Acta Hydrobiol. 1994, 36, 371-385.
5. Czeczuga B., Muszyńska E.: Growth of zoospore fungi of the eggs of North Pacific salmon of the genus *Oncorhynchus* in laboratory conditions. Acta Ichthyol. Piscat. 1996, 26, 25-37.
6. Czeczuga B., Muszyńska E., Krzemińska A.: Aquatic fungi growing on the spawn of certain amphibians, Amphibia – Reptilia 1998, 19, 239-248.
7. Czeczuga B., Kiziewicz B.: Zoospore fungi growing on the eggs of *Carassius carassius* (L.) in oligo- and eutrophic water. Pol. J. Environ. Stud. 1999, 8, 63-66.
8. Czeczuga B., Chomutowska H., Woronowicz L.: The hydromycoflora of the Biosphere Sanctuary, Lake Łuknajno. Acta Mycol. 1990, 26, 37-44.
9. Czeczuga B., Kiziewicz B., Wykowska E.: Zoospore fungi in springs in the vicinity of Białystok. Acta Mycol. 1999, 34, 55-64.
10. Czeczuga B., Muszyńska E., Wossughi G., Kamaly A., Kiziewicz B.: Aquatic fungi growing on the eggs of several species of acipenserid fishes. Acta Ichthyol. Piscat. 1995, 25, 71-79.
11. Czeczuga B., Woronowicz L.: Studies on aquatic fungi. The Lake Mamry complex. Acta Mycol. 1991-1992, 27, 93-103.
12. Czeczuga B., Woronowicz L., Brzozowska K.: Aquatic fungi of the lowland River Biebrza. Acta Mycol. 1990, 25, 77-83.
13. Czeczuga B., Woronowicz L., Brzozowska K., Chomutowska H., Orłowska M.: Mikoflora stawów rybnych w Popielewie oraz w Porcie Jabloni. Roczn. AM 1988-1989, 33-34, 123-141.
14. Dykstra M. J., Noga E. J., Levine J. E., Moyer D. W., Wawkins K. H.: Characterization of the *Aphanomyces* species involved with ulcerative mycosis (UM) in menhaden. Mycologia 1986, 78, 664-672.
15. Dudka J. A., Isajeva N. M., Davydov O. N.: Saprolegniaceae inducing fish mycosis. Mycol. Phycopathol. 1989, 23, 488-498.
16. Golterman H., Clymo R.: Methods for Physical and Chemical Analysis of Fresh Water. IBP Handbook No 8, Blackwell Sci. Publ. Oxford 1971, s. 166.
17. Greenberg A. E., Clesceri L. S., Eaton A. D.: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, Washington DC, 1992, s. 1193.
18. Hatai K.: Studies on pathogenic agents of saprolegniosis. Spec. Rep. Nagasaki Pref. Inst. Fish. 1980, 8, 1-95.
19. Hatai K., Hoshiai G.: Mass mortality in cultured coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) due to *Saprolegnia parasitica* Coker. J. Wildl. Dis. 1992, 28, 532-536.
20. Izvekova G. I.: Proteolytic activity of the fungi found in storage reservoirs. Mycol. Phycopathol. 1985, 9, 221-224.
21. Kuttin E. S., Beemer A. M.: Systematic mycoses in Israel. Contr. Microb. Imm. 1977, 4, 46-55.
22. Lartzeva L. V., Dudka J. A.: *Dictyuchus monosporus* Leitgeb – a causal agent of saprolegniosis of white salmon's spawn in delta of the Volga. Mycol. Phycopathol. 1985, 19, 469-471.
23. Lartzeva L. V., Dudka J. A.: Dependence of Saprolegniaceae development on the sturgeon and salmon eggs fishproductive quality. Mycol. Phycopathol. 1990, 24, 112-116.
24. Martin R. W., Miller Ch. E.: Substrate influenced morphological variation in some species of *Saprolegnia* and *Achlya* (Saprolegniaceae). J. Sci. 1980, 80, 20-35.
25. Müller E., Loeffler W.: Zarys mikologii. PWRiL, Warszawa 1987, s. 231.
26. Neish G. A., Hughes G. C.: Diseases of Fishes. Book 6: Fungal diseases fishes. Neptune T.F.H. Publication, New Jersey 1980, s. 159.
27. Padgett D. E.: Vegetative propagation of some Saprolegniaceae under simulated estuarine-culture conditions. Mycologia 1980, 72, 410-415.
28. Pickering A. D., Willoughby L. G.: Epidermal lesions and fungal infection on the perch, *Perca fluviatilis* L. in Windermere. J. Fish Biol. 1977, 11, 349-354.
29. Prosi M.: Choroby ryb. PWRiL, Warszawa 1994, s. 177-197.
30. Scott W. W.: Fungi associated with fish diseases. Industr. Microbiol. 1964, 5, 109-123.
31. Scott W. W., O'Bier A. H.: Aquatic fungi associated with diseased tropical fish and fish eggs. Progr. Fish Cult. 1962, 24, 3-15.
32. Srivastava G. C., Srivastava R. C.: Host range of *Saprolegnia ferax* (Gruith) Thuret on certain fresh water teleosts. Curr. Sci. 1977, 46, 87-96.
33. Staniak J.: Z badań nad florą grzybów wodnych w województwie lubelskim. Ann. Univ. M. Curie-Skłodowskiej Ser. C. 1971, 26, 353-379.