

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny
w Szczecinie

Elżbieta Bogusławska-Wąs

**Różnorodność społeczności drożdży w estuarium
Odry i ich wpływ na rozwój ichtiofauny**

Szczecin 2010

Recenzenci
MARIA DYNOWSKA
BOGUMIŁA SKOTARCZAK

Opracowanie redakcyjne
ALICJA BERNER

WYDANO ZA ZGODĄ
REKTORA ZACHODNIOPOMORSKIEGO UNIwersYTETU TECHNOLOGICZNEGO
W SZCZECINIE

ISBN 978-83-7663-071-7

WYDAWNICTWO UCZELNIANE ZACHODNIOPOMORSKIEGO UNIwersYTETU TECHNOLOGICZNEGO W SZCZECINIE
70-311 Szczecin, al. Piastów 50, tel. 91 449 47 60, e-mail: wydawnictwo@zut.edu.pl
Druk PPH „Zapol” Dmochowski, Sobczyk Sp.j., 71-062 Szczecin, al. Piastów 42, tel. 91 434 10 21
e-mail: zarzad@zapol.com

Spis treści

1. Wstęp	5
1.1. Wprowadzenie do studiów taksonomicznych drożdży.....	5
1.2. Występowanie grzybów w środowisku wodnym.....	8
1.3. Strategie przeżycia drożdży	10
1.3.1. Biofilm mikrobiologiczny.....	11
1.3.2. Występowanie drożdży w środowisku jako formy VBNC	14
1.4. Estuarium Odry jako miejsce bytowania drożdży.....	16
2. Cel pracy	19
3. Materiał i metody.....	21
3.1. Charakterystyka obszaru badań	21
3.2. Analizy mikrobiologiczne	23
3.3. Analizy genetyczne	25
3.4. Analizy spektrofotometryczne	29
3.5. Ikra jako środowisko rozwoju drożdży	32
3.6. Analizy hydrochemiczne	34
3.7. Analizy statystyczne.....	34
4. Omówienie i dyskusja wyników.....	37
4.1. Estuarium Odry jako siedlisko grzybów jednokomórkowych	37
4.2. Struktura społeczności drożdży w estuarium Odry	42
4.3. Ryby jako środowisko mykocenozy wodnych	46
4.3.1. Struktura gatunkowa drożdży izolowanych ze śluzu ryb.....	46
4.3.2. Struktura gatunkowa drożdży izolowanych z przewodu pokarmowego ryb	51
4.4. Ekologia rodzaju <i>Cryptococcus</i>	56
4.4.1. Wprowadzenie	56
4.4.2. Zróżnicowanie biochemiczne <i>Cr. laurenti</i> na tle rodzaju <i>Cryptococcus</i>	57
4.4.3. Zróżnicowanie genetyczne <i>Cr. laurenti</i>	58
4.5. Ekologia rodzaju <i>Rhodotorula</i>	60
4.5.1. Wprowadzenie	60
4.5.2. Zróżnicowanie biochemiczne <i>Rh. mucilaginosa</i> i <i>Rh. glutinis</i>	61
4.5.3. Zróżnicowanie genetyczne <i>Rh. mucilaginosa</i> i <i>Rh. glutinis</i>	61
4.6. Strategie przeżycia drożdży w środowisku estuarium Odry	66
4.6.1. Wprowadzenie	66
4.6.2. Przeżywalność drożdży w wodach estuarium Odry	67
4.7. Ikra jako miejsce rozwoju mikroorganizmów	74
4.8. Drożdże jako wskaźniki zanieczyszczenia wód.....	89
5. Podsumowanie.....	95
6. Wnioski	99
Piśmiennictwo	101
Summary	121
Zusammenfassung	123

Summary

The diversity of yeast community in the Odra estuary and their influence on the development of ichthyofauna

A comprehensive qualitative and quantitative study carried out on unicellular fungi and their ability to form populations in the Odra estuary showed mycocenotic diversity over individual zones. It was demonstrated that the area of Cedyń Park and Międzyodrze and Szczecin Lagoon and Pomeranian Bay is characterized by a homogeneous spatial distribution of yeasts, in contradiction to mycocenoses determined in the river Odra in Szczecin. The resulting total yeast count diversity in river waters correlated with the total and organic nitrogen and organic phosphorus levels.

The qualitative structure of the yeasts in the Oder estuary was dominated by Ascomycota in the river waters, whereas in the lagoon and bay waters principally Basidiomycota yeasts were isolated. It was determined that the diversity of species in Szczecin Lagoon reflects the mycocenotic quality of the incoming Oder water. Yeast species with a constant presence in the individual estuary zones were *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, and *Saccharomyces*. Variable environmental conditions, in particular estuary zones, do not influence the potential ability of biofilm formation by *Cr. laurenti* in contrast with strains of *Rhodotorula* sp. The yeast cells formed in the biofilm enter a VBNC state.

An intraspecies genetic diversity assessment of *Cryptococcus* spp. and *Rhodotorula* spp indicated inland origin, for which Szczecin Lagoon remains the ecological border. Amplification profiles for the genomic DNA of *Cr. laurenti* strains isolated from the water environment revealed a high intraspecific heterogeneity, reflecting the place of their isolation. High intraspecies similarity was, however, determined for *Rh. mucilaginoso* and *Rh. glutinis*, whose profiles did not reflect their place of origin.

RAPD-PCR profiles characteristic of the digestive tract of certain species of fish were distinguished among *Rhodotorula* spp. Such a relationship was not established for *Cr. laurenti*, even though strains of this species, along with *Rhodotorula* spp, were isolated in all the samples.

It was demonstrated that *Rhodotorula* spp and *Cryptococcus* spp are capable of colonizing roe, forming biofilm together with its epiflora. The biofilm formed by the yeast on the surface of the roe contributes to a prolongation of roe incubation time.

Current yeast populations in the Odra estuary environment may be considered as complementary indicators of microbial contamination.

Zusammenfassung

Mannigfaltigkeit der Gesellschaften von Hefen im Oder – Ästuar und deren Einfluss auf die Entwicklung der Ichthyofauna

Die durchgeführten komplexen Untersuchungen, die die Mannigfaltigkeit der einzelligen Pilze und deren Fähigkeit zur Bildung von Gesellschaften im Oder – Ästuar berücksichtigen, weisen auf mykozönotische Veränderlichkeit in seinen einzelnen Zonen hin. Es wurde nachgewiesen, dass das Gebiet von Cedyński Landschaftspark und von "Międzyodrze" (das Gebiet zwischen den beiden Flussarmen der Oder) als auch des Stettiner Haffs und der Pommerschen Bucht durch homogene, räumliche Verteilung von Hefen gekennzeichnet sind, im Gegensatz zu der Verteilung von Pilzen im Stettiner Oderabschnitt. Die bestimmte Differenzierung der allgemeinen Menge von Hefen in Flussgewässern stand in einer Korrelation zur Konzentration von Gesamt- und organischem Stickstoff als auch organischem Phosphor.

Die qualitative Struktur von Hefen im Oder – Ästuar war in Flussgewässern von Vertretern der Schlauchpilze (Ascomycota) dominiert, dagegen in Gewässern des Stettiner Haffs und der Pommerschen Bucht wurden überwiegend Hefen isoliert, die zur Abteilung der Basidiomycota gehören. Es wurde nachgewiesen, dass sich der Artenreichtum von Hefen aus dem Stettiner Haff aus dem Heranschleppen mit der Strömung von Odergewässern ergibt. Zu den Vertretern von Hefen, die in den einzelnen Zonen des Ästuars immer anwesend waren, gehörten Pilze folgender Arten: *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula* und *Saccharomyces*. Die Veränderlichkeit der Umweltbedingungen in den einzelnen Zonen des Ästuars hat keinen Einfluss auf die potenzielle Fähigkeit zur Bildung des Biofilms durch *Cr. laurenti*, im Gegensatz zu den Pilzen der Art *Rhodotorula*. Im gebildeten Biofilm gehen die Zellen der Hefen in den VBNC – Zustand über.

Die mit Hilfe der RAPD-PCR – Methode durchgeführte Bewertung der genetischen Verschiedenheit innerhalb der Art *Cryptococcus* spp. und *Rhodotorula* spp. weist auf binnländische Herkunft der untersuchten Hefen hin, für welche der Stettiner Haff eine ökologische Grenze darstellt. Die erzielten Amplifikationsprofile der genomischen DNA von *Cr. laurenti* – Stämmen wiesen eine hohe Heterogenität innerhalb der Art nach, was der Nachweis ihrer verschiedenen ursprünglichen Herkunft ist. Die durchgeführte Analyse der phänotypischen Eigenschaften von *Cr. laurenti* – Stämmen wies die Anwesenheit der für den Ort deren Isolierung charakteristischen, biochemischen Typen nach. Die bestehende Ähnlichkeit innerhalb der Art wurde dagegen für *Rh. mucilaginosa* und *Rh. glutinis* festgestellt, deren genetische und biochemische Verschiedenheit den Ort deren Isolierung nicht widerspiegelte. Aus den hervorgehobenen Genotypen von *Rhodotorula* spp. wurden Profile isoliert, die für den Verdauungskanal von bestimmten Fischarten charakteristisch sind. Solche Abhängigkeit wurde jedoch nicht für *Cr. Laurenti* festgestellt, obwohl die Stämme sowohl dieser Art als auch von *Rhodotorula* spp. aus allen entnommenen Proben isoliert wurden.

Es wurde nachgewiesen, dass *Rhodotorula* spp. und *Cryptococcus* spp. zur Kolonisierung des Fischlaichs fähig sind und bilden gemeinsam mit seinem Epibiont einen Biofilm. Die auf der Laichoberfläche gebildeten Gesellschaften von Mikrobiozönosen tragen zur Verlängerung der Inkubationszeit der Laiche bei.

Die gegenwärtigen Hefenpopulationen in der Umwelt des Oder – Ästuars können als ergänzende Kennzahlen der mikrobiologischen Verschmutzung betrachtet werden.