

ANNA AUGUSTYNIUK-KRAM¹

Niezamierzony transport propaguli grzybów pleśniowych do biomu Antarktyki a zdolność rozwoju w niskich temperaturach

Streszczenie

Obecność człowieka w Antarktyce to przede wszystkim działalność naukowa, ale również w ostatnim czasie wzmożony ruch turystyczny. Sprzyja to inwazji obcych gatunków flory i fauny, a także mikroorganizmów, mogących zagrażać gatunkom rodzimym. Grzyby pleśniowe będące przedmiotem badań zaliczane są do organizmów kosmopolitycznych, łatwo rozprzestrzeniających się i zasiedlających różnorodne środowiska, w tym również ekstremalnie zimne, takie jak rejony polarne. Organizmy te, by skutecznie skolonizować nowe środowisko oprócz żywotnych propagul i skutecznych mechanizmów transportu muszą być zdolne do wzrostu i reprodukcji w ekstremalnych warunkach. Celem badań było określenie czy propagule grzybów pleśniowych zawleczone (przypadkowo przetransportowane) do biomu Antarktyki przez turystów i członków wypraw naukowych są zdolne do rozwoju w niskich temperaturach.

Stwierdzono, że *Penicillium* sp., *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Trichoderma viride*, *Geotrichum candidum* i *Botrytis cinerea* były zdolne do rozwoju w niskich temperaturach (5 i 10°C oraz po jednym cyklu zamrożenia do -15°C i odmrożenia do +10°C). Nie wytwarzały one makroskopowo widocznej grzybni w temp. 0°C, lecz nie była to dla nich temperatura letalna, ponieważ po przeniesieniu do wyższych temperatur podejmowały wzrost nawet po dosyć długim czasie od rozpoczęcia eksperymentu. Najbardziej wrażliwy okazał się *Aspergillus flavus*. Przy niższych

¹ Wydział Filozofii Chrześcijańskiej, Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie, ul. Wóycickiego 1/3, 01-938 Warszawa, a.kram@uksw.edu.pl

temperaturach (od 0 do 5°C) nie rozwijał się, natomiast zamrożenie i odmrożenie było dla tego gatunku letalne. Niektóre gatunki (*G. candidum*, *T. viride* i *B. cinerea*) mimo rozwoju grzybni, w niższych temperaturach nie produkowały zarodników.

Słowa kluczowe: Antarktyka, grzyby mikroskopowe, gatunki obce

1. Wstęp

Antarktyka ze względu na swoją izolację geograficzną i wyjątkowo niesprzyjające warunki klimatyczne jest najwolniej kolonizowanym przez obce gatunki roślin i zwierząt obszarem na kuli ziemskiej. Mimo tego, w ostatnich latach obserwuje się gwałtowny wzrost liczby nowych gatunków pojawiających się w tym rejonie, przede wszystkim roślin naczyniowych, ale również bezkręgowców (Gremmen i Smith 1999, Convey i in. 2010, Hughes i Worland 2010). Ma na to wpływ wzmoczona aktywność człowieka, zwłaszcza w rejonie subantarktycznych wysp, oraz ocieplenie klimatu obserwowane na przestrzeni ostatnich lat w tym rejonie (Kejna 2008, Olech i in. 2013, Huiskes i in. 2014). Poza naturalnymi mechanizmami i sposobami dyspersji u różnych gatunków, większość obcych dla Antarktyki roślin i zwierząt, a także mikroorganizmów jest transportowana razem z człowiekiem, który jest najskuteczniejszym i najszybszym wektorem gatunków egzotycznych dla tego regionu (Whinam i in. 2005, Lityńska-Zajac i in. 2012). Obecność człowieka w Antarktyce to przede wszystkim działalność naukowa zlokalizowana wokół stacji badawczych i związana z tym działalność logistyczna czyli transport ogromnych ilości sprzętu i ładunków, w tym żywności, razem z którymi, w sposób przypadkowy transportowane są propagule obcych gatunków roślin, zwierząt i mikroorganizmów (Hughes i in. 2011, Augustyniuk-Kram i in. 2013, Chwedorzewska i in. 2013b, Huiskes i in. 2014, Molina-Montenegro i in. 2014). W ostatnich latach obserwuje się również znaczne nasilenie ruchu turystycznego, który koncentruje się przede wszystkim w Antarktyce Zachodniej, gdzie m.in. zlokalizowana jest Polska Stacja Antarktyczna im. Henryka Arctowskiego (Chwedorzewska i Korczak 2010). Jak do tej pory największe nasilenie

ruchu turystycznego odnotowano w sezonie 2007/2008, gdzie tylko w okresie letnim Antarktykę odwiedziło ponad 46 tys. turystów, nie wliczając w to wypraw naukowych. W sezonie 2015-2016 szacuje się, że ta liczba również wyniesie ponad 40 tysięcy (Web-01). Tak duże nasilenie ruchu turystycznego sprzyja inwazji obcych gatunków flory i fauny, a także mikroorganizmów, mogących zagrażać gatunkom rodzimym (Chwedorzewska i in. 2013a).

Grzyby pleśniowe będące przedmiotem przedstawionych badań, stosunkowo łatwo rozprzestrzeniają się w środowisku i kolonizują różnego rodzaju podłoża, wytrzymując często ekstremalne warunki środowiskowe. W związku z tym rozprzestrzeniły się po całym świecie (Ruisi i in. 2007). Większość przedstawicieli grzybów występujących na Antarktydzie to gatunki kosmopolityczne. Jednakże te, które zostały tam zawleczone najczęściej nie mogą się w jej klimacie rozwijać, natomiast grzyby określane jako rodzime, są dobrze przystosowane i mogą rozwijać się nawet w niskich temperaturach i na ubogim w składniki pokarmowe podłożu. Wyróżnia je skrócony cykl życiowy oraz szybkie (w krótkim czasie) zarodnikowanie bądź wytwarzanie okresowo sterylnej grzybni (Ruisi i in. 2007). Grzyby występujące w różnych ekosystemach Antarktyki są przystosowane do niskich temperatur, powtarzającego się zamrażania i rozmrażania, małej dostępności wody, stresu osmotycznego, wysuszenia, niskiej dostępności składników odżywczych i wysokiego promieniowania UV (Ruisi i in. 2007). Mikroorganizmy żyjące w tak ekstremalnych warunkach wykształcają specjalne adaptacje na każdym poziomie organizacji komórki. Są to m.in.: modyfikacja składu kwasów tłuszczowych w błonach komórkowych, adaptacja enzymów do niskich temperatur, zwiększona synteza cukrów, które stabilizują błony komórkowe i przeciwdziałają odwodnieniu komórek, zwiększona synteza alkoholi wielowodorotlenowych – glicerolu i mannitolu podtrzymujących turgor w komórkach, synteza unikatowych białek nieobecnych u innych grup mikroorganizmów (białka nukleacyjne lodu, białka przeciwzamarzeniowe, białka szoku zimna) obniżające punkt krzepnięcia wody, synteza ciemnych barwników (melaniny)

w grzybni chroniąca przed silnym promieniowaniem UV (Turkiewicz 2006, Russel 2008, Maggi i in. 2013).

Celem przedstawionych badań było określenie czy propagule grzybów pleśniowych zawleczone (przypadkowo przetransportowane) do biomu Antarktyki przez turystów i członków wypraw naukowych są zdolne do rozwoju w niskich temperaturach.

2. Materiał i metody badań

Do badań użyto 7 izolatów grzybów mikroskopowych: *Penicillium* sp. (Link), *Aspergillus flavus* (Link), *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) G.A. de Vries, *Trichoderma viride* Pers., *Geotrichum candidum* (Link) i *Botrytis cinerea* Pers. Izolaty pochodziły z próbek kurzu zebranych z ubrań, obuwia, bagażu podręcznego turystów i członków ekspedycji naukowych przybywających na stację im. H. Arctowskiego na Wyspie Króla Jerzego w archipelagu Szetlandów Południowych w Antarktyce (Augustyniuk-Kram i in. 2013).

Wybrane izolaty wyszczepiano punktowo wystandaryzowaną jałową eżą (\emptyset 0,1 mm) na szalce z podłożem i inkubowano przez 14 dni w następujących temperaturach: 0, 5, 10, 22°C (kontrola) oraz w temperaturze -15°C przez 7 dni (tempo zamrażania 1°C/min.), a następnie przenoszono do temperatury +10°C i inkubowano przez kolejne 7 dni. Zastosowano dwa różne podłoża hodowlane: Sabourauda z chloramfenikolem (SAB) i podłoże z różem bengalskim (RBA). Oba podłoża służą do selektywnej izolacji i hodowli grzybów z próbek środowiskowych i z żywności. Róż bengalski w podłożu RBA opóźnia rozrost kolonii grzybów. Był to, obok niskich temperatur, dodatkowy czynnik ograniczający wzrost kolonii grzybów. Pomiarów dokonywano co 2–3 dni mierząc średnicę kolonii. Doświadczenie wykonano w 5 powtórzeniach dla każdego podłoża i temperatury. Jeżeli grzyb nie wykazywał wzrostu w badanych temperaturach, szalki z inokulum przenoszone były sukcesywnie do wyższych temperatur.

Po 14 dniach hodowli określano również intensywność zarodnikowania badanych grzybów. Wybierano losowo po trzy szalki

z każdej temperatury i z każdego podłoża. Z każdej wybranej szalki w trzech losowo wybranych miejscach wycinano korkoborem (\varnothing 1 cm) fragmenty grzybni i przenoszono do probówek typu Falcon z roztworem Tritonu-X (0,5 ml/l) ułatwiającym usuwanie zarodników z powierzchni grzybni. Probówki wytrząsano na maksymalnych obrotach na wytrząsarce typu Vortex przez 5 min. Liczbę zarodników w 1 ml płynu określano przy użyciu komory zliczeniowej Thoma.

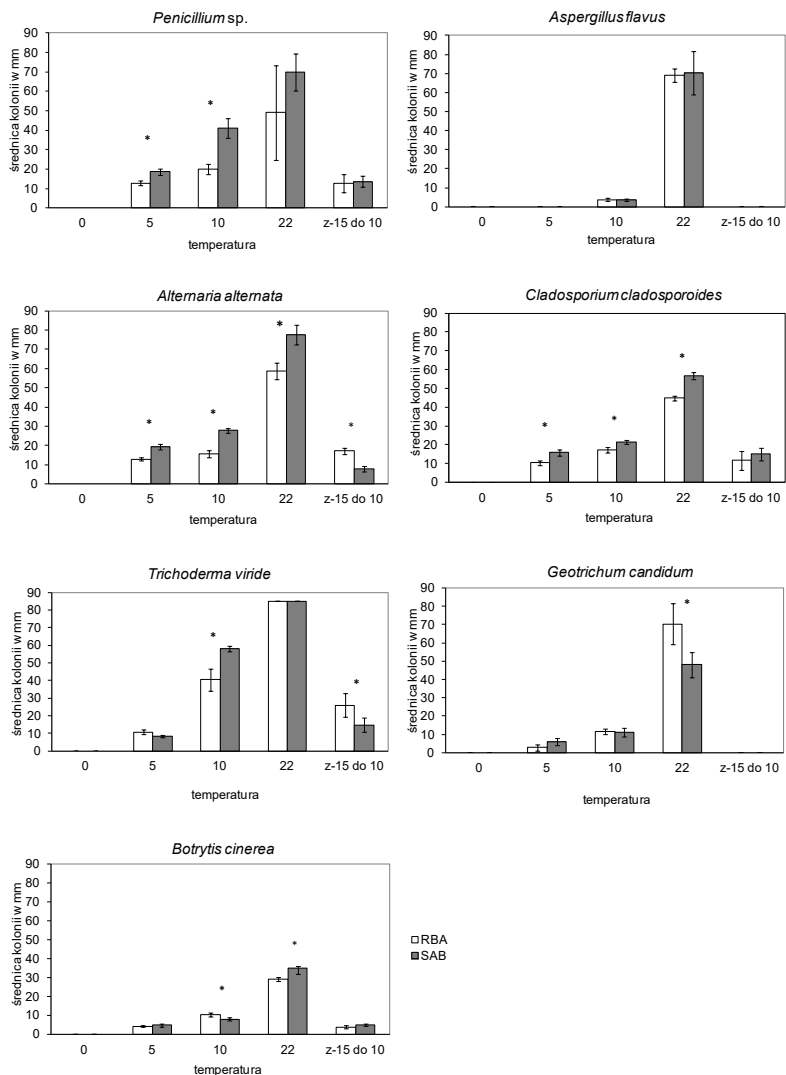
Istotność różnic między średnimi rozmiarami kolonii po 14 dniach hodowli na badanych podłożach w poszczególnych temperaturach sprawdzano nieparametrycznym testem Manna-Whitneya przy poziomie istotności $p < 0,05$.

Wpływ temperatury na intensywność zarodnikowania badanych grzybów sprawdzano stosując nieparametryczny test Kruskala-Wallisa. Istotność różnic pomiędzy średnimi wartościami liczby zarodników w badanych temperaturach weryfikowano stosując test Tukey'a przy poziomie istotności $p < 0,05$. Do obliczeń statystycznych użyto programu komputerowego Statistica wersja 6.0 (StatSoft 1984–2001).

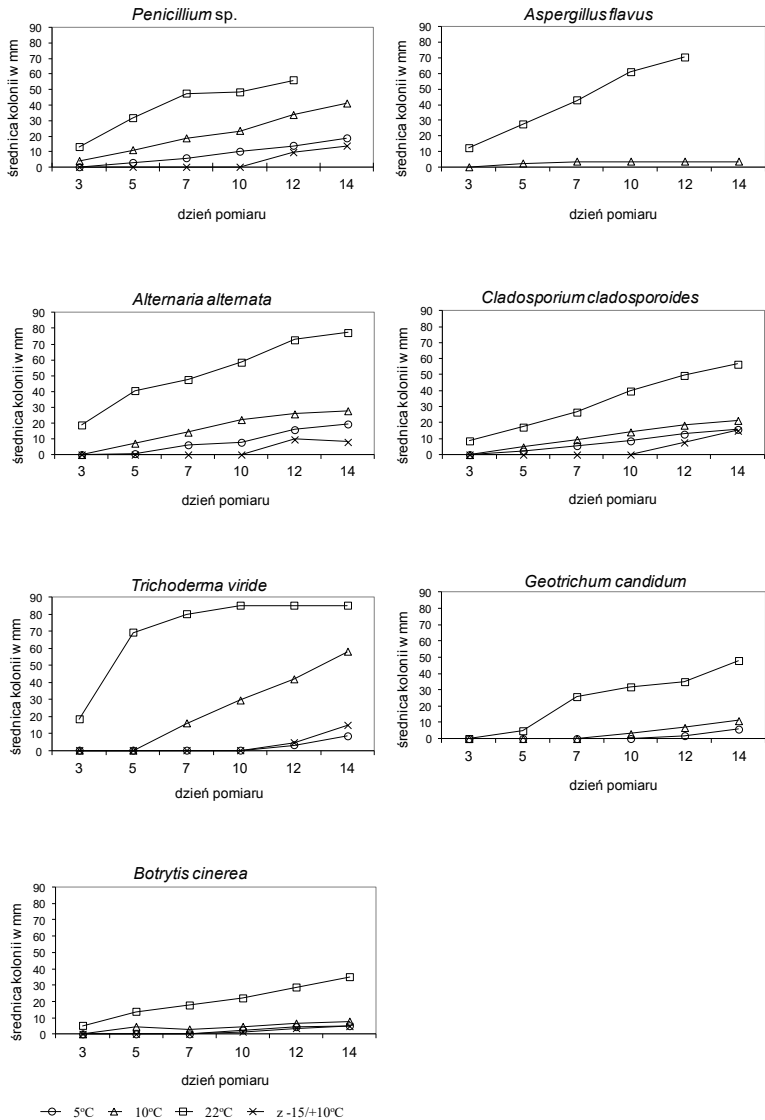
3. Wyniki

Wszystkie badane grzyby nie rozwijały się w temp. 0°C. *Aspergillus flavus* jako jedyny nie wykazywał wzrostu również w temperaturze 5°C. Gatunki *A. flavus*, a także *G. candidum* nie rosły również po czasowym zamrożeniu inokulum w temp. -15°C, a następnie po przeniesieniu do +10°C (Rys. 1).

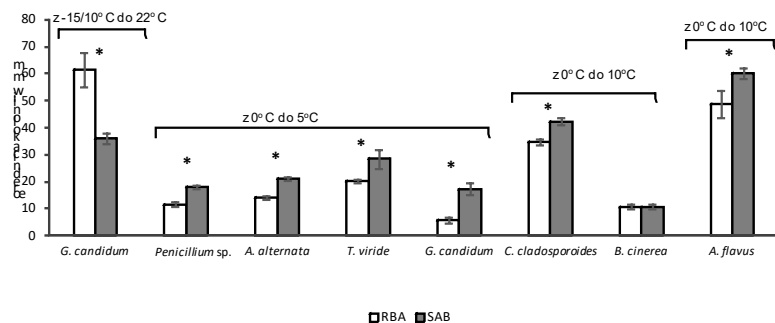
Na wzrost większości badanych grzybów miał wpływ rodzaj podłoża hodowlanego. Generalnie lepszy wzrost wykazywały grzyby na podłożu Sabourauda (SAB) niż na podłożu z różem bengalskim (RBA) (Rys. 1). W kontroli (22°C) istotnie statystycznie lepszy wzrost na podłożu Sabourauda osiągnęły *C. cladosporioides*, *A. alternata* i *B. cinerea*. Gatunek *G. candidum* jako jedyny wykazywał lepszy wzrost na podłożu z różem bengalskim. W temp. 5°C istotnie lepszy wzrost na podłożu Sabourauda osiągnęło *Penicillium* sp., *A. alternata* i *C. cladosporioides*. W temp. 10°C lepszy wzrost na podłożu Sabourauda



Rys. 1. Wzrost badanych grzybów w temperaturze 0, 5, 10, 22 i -15/+10°C na podłożu z różem bengalskim (RBA) i podłożu Sabourauda (SAB) (* – różnice istotne statystycznie).



Rys. 2. Dynamika wzrostu badanych grzybów w zależności od temperatury na podłożu Sabourauda.



Rys. 3. Wzrost badanych grzybów w temperaturze 5, 10 lub 22°C po przeniesieniu z temperatur, w których nie wykazywały wzrostu (* – różnice istotne statystycznie).

Tabela 1. Zarodnikowanie wybranych gatunków grzybów w różnych temperaturach na podłożu Sabourauda (SAB) i podłożu z różem bengalskim (RBA) (wartość średnia $\times 10^6$ zarodników/ml; wartości w wierszach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie).

Gatunek	Podłoże	Temperatura			
		5°C	10°C	22°C	-15/+10°C
<i>Penicillium sp.</i>	SAB	14 ^b	44 ^a	60 ^a	12 ^b
	RBA	27 ^A	55 ^A	34 ^A	14 ^B
<i>A. flavus</i>	SAB	-	18 ^a	51 ^b	-
	RBA	-	20 ^A	29 ^A	-
<i>C. cladosporioides</i>	SAB	0,42 ^a	0,39 ^a	0,67 ^a	0,50 ^a
	RBA	0,55 ^A	0,17 ^A	1,2 ^A	0,50 ^A
<i>A. alternata</i>	SAB	0,58 ^a	1,0 ^a	0,86 ^a	2,2 ^b
	RBA	0,53 ^C	6,0 ^A	0,92 ^C	2,6 ^B
<i>T. viride</i>	SAB	0,36 ^a	0,53 ^a	0,61 ^a	0,0 ^a
	RBA	0,28 ^B	0,22 ^B	1,2 ^A	0,0 ^B
<i>B. cinerea</i>	SAB	0,19 ^a	0,42 ^a	1,4 ^a	0,0 ^a
	RBA	0,39 ^B	0,33 ^B	1,0 ^A	0,0 ^B
<i>G. candidum</i>	SAB	0,0 ^b	0,0 ^b	0,75 ^a	-
	RBA	0,0 ^B	0,0 ^B	0,64 ^A	-

osiągnęła dodatkowo również *T. viride*. W temp. 10°C, ale po wcześniejszym zamrożeniu inokulum, gatunek *A. alternata* i *T. viride* istotnie lepszy wzrost osiągnęły na podłożu z różem bengalskim (Rys. 1).

Dynamika wzrostu badanych grzybów układała się bardzo podobnie na podłożu Sabourauda i podłożu z różem bengalskim, w związku z tym na wykresie (Rys. 2) pokazano tylko dynamikę wzrostu na podłożu Sabourauda. Żaden z badanych grzybów w temperaturze 5, 10 i -15/+10°C nie osiągnął w ostatnim dniu pomiaru wzrostu podobnego do wzrostu w kontroli (22°C). Wszystkie badane grzyby (z wyjątkiem *T. viride*) w początkowym etapie wzrostu, do 5–7 dnia, nie wykazywały aż tak dużych różnic. Dopiero po 7 dniach uwidoczniły się dysproporcje. Tempo wzrostu w kontroli było znacznie szybsze niż w pozostałych wariantach eksperymentu. Po czasowym zamrożeniu inokulum do -15°C przez 7 dni, a następnie rozmrożeniu i inkubacji w temp. +10°C, wzrostu nie podjęły *A. flavus* i *G. candidum*. W pozostałych przypadkach inokulum podjęło wzrost w 4–5 dniu po rozmrożeniu, lecz kolonie nie uzyskały średnicy takiej jaką osiągnęły w temp. 10°C (w wariancie bez wcześniejszego zamrażania). W porównaniu do 10°C, te wcześniej zamrażane były około 2 do 4 razy mniejsze (Rys. 2). Grzyby, które nie rosły w temperaturze 0°C po przeniesieniu do wyższych temperatur podejmowały wzrost (Rys. 3). Grzyby *Penicillium* sp., *A. alternata*, *T. viride* i *G. candidum* podjęły wzrost po przeniesieniu do temperatury 5°C. Grzyby *C. cladosporioides* i *B. cinerea* wznowiły wzrost po przeniesieniu do temperatury 10°C, natomiast *A. flavus* wznowił wzrost dopiero w temperaturze kontrolnej 22°C. Z dwóch gatunków, które nie podjęły wzrostu po zamrożeniu inokulum, a następnie przeniesieniu do 10°C, tj. *G. candidum* i *A. flavus*, tylko *G. candidum* wznowiło wzrost w temperaturze 22°C (Rys. 3).

Zarodnikowanie badanych grzybów w większości przypadków było najobfitsze w temperaturze 22°C (kontrola). Jedynie *A. alternata* na obu podłożach zarodnikowała lepiej w temp. 10°C bez wcześniejszego zamrażania, jak i w kombinacji z zamrażaniem (Tab. 1). W temp. 10°C po wcześniejszym zamrożeniu na obu podłożach nie zarodnikowały *T. viride* i *B. cinerea*, zaś *G. candidum* nie zarodnikowało w temp. 5 i 10°C (Tab. 1).

4. Dyskusja

Jednym z podstawowych czynników ograniczających rozwój mikroorganizmów jest zarówno wysoka, jak i niska temperatura. Z literatury opisującej cechy badanych grzybów wynika, że rosną one w szerokim zakresie temperatur (Domsch i Gams 1972). Rejony polarne, antarktyczne, należą do tzw. środowisk ekstremalnych dla wzrostu mikroorganizmów. Niska temperatura, okresy nagłego zamarzania i rozmarzania, niska aktywność wodna, duże dawki promieniowania UV są często zabójcze dla nieprzystosowanych do takich warunków mikroorganizmów. Temperatury w przedstawionym doświadczeniu dobrane zostały tak, aby zasymulować warunki jakie grzyby (zarodniki) mogły zastać w momencie ich zawleczenia. Największy ruch turystyczny i okres wzmózonego napływu ekip badawczych to okres antarktycznego lata, czyli od grudnia do marca (Web-01). Ruch ten skupia się najczęściej w rejonach wysp antarktycznych, gdzie warunki klimatyczne nie są aż tak surowe jak w części kontynentalnej. W czasie antarktycznego lata średnia temperatura powietrza w okolicach stacji Arctowskiego (skąd pochodziły próbki, z których wyizolowano badane grzyby) to 2,5°C (maksymalna 10,4°C, minimalna -1,3°C). W okresie tym charakterystyczne są również dobowe wahania temperatur, a także krótsze bądź dłuższe cykle ze średnią dobową temperaturą powyżej i poniżej zera (Kejna 2008). Z innych badań wiadomo (Davey i in. 1992), że w czasie słonecznych dni powierzchnia gleby może nagrzewać się do temperatur rzędu 10–15°C. Temperatura 22°C w przedstawionych badaniach potraktowana została jako temperatura kontrolna (optymalna) do wzrostu. Żaden z badanych grzybów w przedstawionych badaniach nie tworzył makroskopowo widocznej grzybni w temp. 0°C. Najbardziej wrażliwy okazał się *A. flavus*, który nie wykazywał wzrostu również w temp. 5°C, a w temp. 10°C osiągnął średnicę kolonii zaledwie 4 cm. W wariacie doświadczenia z czasowym zamrażaniem i odmrażaniem inokulum większość badanych grzybów przeżyło zamrożenie. Wyjątkiem był *A. flavus* i *G. candidum*, z tym, że *G. candidum* po przeniesieniu do temperatury kontrolnej 22°C podjęło wzrost, co oznacza, że inokulum również

przeżyło zamrożenie. W przedstawionych badaniach inokulum *A. flavus* i *G. candidum* składało się zarówno z fragmentów grzybni, jak i zarodników. Vishniac (1996) uważa, że grzybnia jest bardziej wrażliwa na zamarzanie niż zarodniki, dlatego zarodniki często przeżywają nawet wielokrotne cykle zamrażania i odmrażania. Gatunek *A. flavus* w optymalnych warunkach bardzo obficie zarodnikuje i w momencie szczepienia podłoża inokulum składało się praktycznie z samych zarodników, a mimo to zarodniki *A. flavus* nie przeżyły nawet jednego cyklu zamrożenia. *Geotrichum* natomiast ma inny mechanizm tworzenia zarodników. Generalnie zarodnikuje mniej obficie, a zarodniki tworzą się na końcach strzępek przez ich fragmentację. W przypadku *G. candidum* w inokulum było zapewne więcej grzybni niż zarodników, a mimo to *G. candidum* po dłuższej aklimatyzacji i przeniesieniu do wyższej temperatury wznowiło wzrost po zamrożeniu. W wariancie doświadczenia z zamrażaniem i odmrażaniem, w przypadku *Penicillium* sp., *A. alternata*, *C. cladosporioides* i *B. cinerea* grzybnia makroskopowo nie różniła się ani wyglądem ani kolorem od tej z wariantów kontrolnych. Natomiast *T. viride* w wariancie z zamrażaniem i rozmrażaniem rozwinęła bardzo niłą (delikatną) grzybnię bez oznak zarodnikowania. W normalnych warunkach na podłożach agarowych *T. viride* tworzy białe-zielone, puszyste kolonie. Kolor ten nadają bardzo obficie tworzące się zarodniki, natomiast grzybnia wegetatywna jest koloru białego bądź jest wręcz przezroczysta. *T. viride* w tym wariancie doświadczenia nie wytworzyła zarodników. Zarodników nie stwierdzono również u *B. cinerea* pomimo normalnie makroskopowo wyglądającej grzybni. Utrata zarodnikowania (Bertolini i Tian 1996) i tworzenie okresowo sterylnej grzybni (Robinson 2001) jest jednym z mechanizmów adaptacyjnych do niskich temperatur. Innym przystosowaniem może być skrócenie cyklu życiowego, bardziej obfite zarodnikowanie czy wręcz przeciwnie wydłużenie cyklu życiowego. Bertolini i Tian (1996) obserwowali u *Penicillium hirsutum* opóźnione kiełkowanie zarodników i zarodnikowanie w niższych temperaturach (od +4 do -4°C). W przytoczonych badaniach nie porównywano momentu rozpoczęcia się zarodnikowania. Zaobserwowano natomiast, że w niższych

temperaturach zarodnikowanie było mniej obfite niż w temp. 22°C, a niektóre gatunki jak np. *G. candidum* niezarodnikowało w temp. 5 i 10°C. Jedynie *A. alternata* w temp. 10°C obficie zarodnikowała w porównaniu z kontrolą.

Grzyby z rodzaju *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Geotrichum* i *Botrytis* są szeroko rozpowszechnione w przyrodzie. Występują w glebie, na drewnie, na roślinach żywych, na resztkach roślinnych i zwierzęcych, na produktach żywnościowych, na przechowywanych nasionach oraz na różnych podłożach organicznych (Domsch i Gams 1972, Fassatióvá 1983). Ponadto zaliczane są do organizmów kosmopolitycznych, łatwo rozprzestrzeniających się i zasiedlających różnorodne środowiska, w tym również ekstremalnie zimne środowiska, takie jak rejony polarne (Marshall 1997, Gunde-Cimerman i in. 2003). Organizmy te, by skutecznie skolonizować nowe środowiska oprócz żywotnych propagul i skutecznych mechanizmów transportu muszą być zdolne do wzrostu i reprodukcji w nowym środowisku lub się do niego przystosować (Ellis-Evans i Walton 1990). Grzyby z rodzaju *Cladosporium* i *Penicillium* zaliczane są do tzw. psychrofilii, pozostałe z badanych gatunków mają znacznie szerszy zakres temperatury wzrostu. Grzyby w przedstawionych badaniach były zdolne do rozwoju w niskich temperaturach. Brak wzrostu w temp. 0°C nie oznaczał, że była to dla nich temperatura krytyczna (letalna), bo jak pokazał wariant doświadczenia z czasowym zamrażaniem inokulum do temp. -15°C i odmarzaniem, były w stanie przetrwać taki szok termiczny. Grzyby, które nie podjęły wzrostu w temperaturze 0°C czy po zamrożeniu i odmrożeniu, w momencie pojawienia się korzystnych warunków termicznych podejmowały wzrost nawet po dosyć długim czasie od rozpoczęcia eksperymentu, co świadczy o ich wysokiej żywotności i adaptacji do nowych warunków środowiska (Thammavongs i in. 2000, Gocheva i in. 2006, Onofri i in. 2007). Najbardziej wrażliwy z badanych grzybów okazał się *A. flavus*. Grzyby z rodzaju *Aspergillus* należą do jednych z bardziej ciepłolubnych, o optymalnej temperaturze wzrostu ok. 30–35°C (Shehu i Bello 2011). W przedstawionych badaniach *A. flavus* przy niższych temperaturach (od 0 do 5°C) nie

rozwijał się, natomiast zamrożenie i odmrożenie było dla tego gatunku letalne.

Niezamierzony transport zarodnikami grzybów wraz z osobami przybywających na stacje polarne, niezależnie od tego czy gatunki te będziemy traktować jako obce czy kosmopolityczne, jest niebezpiecznym zjawiskiem, ponieważ wiele z tych gatunków to gatunki potencjalnie chorobotwórczych dla roślin i organizmów stałocieplnych. Grzyby zawleczone przez człowieka mogą być nowymi patogenami dla wielu rodzimych populacji flory i fauny Antarktyki. Odizolowane populacje roślin i zwierząt stałocieplnych w rejonach polarnych są szczególnie wrażliwe na infekcje, co może mieć katastrofalne skutki (Mercantini i in. 1993, Hoshino i in. 2001, Rogers i in. 2004, Barbosa i Palacios 2009, Grimaldi i in. 2014).

Wnioski

1. Grzyby *Penicillium* sp., *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Trichoderma viride*, *Geotrichum candidum* i *Botrytis cinerea* były zdolne do rozwoju w temperaturze 5 i 10°C oraz po jednym cyklu zamrożenia do -15°C i odmrożenia do +10°C.
2. Temperatura 0°C nie była temperaturą letalną dla badanych grzybów za wyjątkiem *Aspergillus flavus*. W temp. 0°C badane grzyby nie wytwarzały makroskopowo widocznej grzybni, lecz po przeniesieniu do wyższych temperatur podejmowały wzrost nawet po dosyć długim czasie od rozpoczęcia eksperymentu.
3. Najbardziej wrażliwy okazał się *A. flavus*. W temperaturze 5°C, w przeciwieństwie do pozostałych badanych grzybów nie rozwijał się, natomiast zamrożenie i odmrożenie było dla tego gatunku letalne.
4. Temperatura miała wpływ na zarodnikowanie. Gatunek *G. candidum* w niższych temperaturach (5 i 10°C), natomiast *T. viride* i *B. cinerea* po jednym cyklu zamrożenia i odmrożenia nie produkowały zarodników mimo rozwoju grzybni.

Bibliografia

- Augustyniuk-Kram A., Chwedorzewska K.J., Korczak-Abshire M., Olech M., Lityńska-Zajac M., 2013, *An analysis of fungal propagules transported to the Henryk Arctowski Station*, Polish Polar Research, 34, 269–278.
- Barbosa A., Palacios M.J., 2009, *Health of Antarctic birds: a review of their parasites, pathogens and diseases*, Polar Biology, 32, 1095–1115.
- Bertolini P., Tian S.P., 1996, *Low temperature biology and pathogenicity of *Penicillium hirsutum* on garlic in storage*, Postharvest Biology and Technology, 7, 83–89.
- Chwedorzewska K.J., Korczak M., 2010, *Human impact upon the environment in the vicinity of Arctowski Station, King Georg Island, Antarctica*, Polish Polar Research, 21, 45–60.
- Convey P., Key R.S., Key R.J.D., 2010, *The establishment of a new ecological guild of pollinating insects on sub-Antarctic South Georgia*, Antarctic Science, 22, 508–512.
- Chwedorzewska K.J., Korczak-Abshire M., Olech M., Lityńska-Zajac M., Augustyniuk-Kram A., 2013a, *Alien invertebrates transported accidentally to the Polish Antarctic Station on cargo and fresh foods*, Polish Polar Research, 34, 55–66.
- Chwedorzewska K.J., Korczak-Abshire M., Olech M., Lityńska-Zajac M., Augustyniuk-Kram A., 2013b, *Presja gatunków obcych na lądowe ekosystemy Antarktyki*, Kosmos, 62, 351–358.
- Davey M.C., Pickup J., Block W., 1992, *Temperature variation and its biological significance in fellfield habitats on a maritime Antarctic island*, Antarctic Science, 4, 383–388.
- Domsch K.H., Gams W., 1972, *Fungi in agricultural soils*, Halsted Press, New York.
- Ellis-Evans J.C., Walton D., 1990, *The process of colonization in Antarctic terrestrial and freshwater ecosystems*, Proceedings of the NIPR Symposium of Polar Biology, 3, 151–163.
- Fassatiová O., 1983, *Grzyby mikroskopowe w mikrobiologii technicznej*, Wyd. Naukowo-Techniczne, Warszawa.

- Gocheva Y.G., Krumowa E.Tz., Slokoska L.S., Miteva J.G., Vassiliev S.V., Angelova M.B., 2006, *Cell response of Antarctic and temperate strains of Penicillium spp. to different growth temperature*, Mycological Research, 110, 1347–1354.
- Gremmen N.J.M, Smith V.R., 1999, *New records of alien vascular plants from Marion and Prince Edward Islands, sub-Antarctic*, Polar Biology, 21, 401–409.
- Grimaldi W.W., Seddon P.J., Lyver P.O'B., Nakagawa S., Tompkins D.M., 2014, *Infectious diseases of Antarctic penguins: current status and future threats*, Polar Biology, 38, 591–606.
- Gunde-Cimerman N., Sonjak S., Zalar P., Frisvad J.C., Diderichsen B., Plemenitaš A., 2003, *Extremophilic fungi in arctic ice: a relationship between adaptation to low temperature and water activity*, Physics and Chemistry of the Earth, 28, 1273–1278.
- Hoshino T., Tojo M., Chen B., Kanda H., 2001, *Ecological impact of phytopathogenic fungi in Antarctic terrestrial flora*, Folia fac. Sci. Nat. Univ. Masarykianae Brunensis, Geographia, 25, 95–102.
- Hughes K.A., Lee J.E., Tsujimoto M., Imura S., Bergstrom D.M., Ware C., Lebouvier M., Huiskes A.H.L., Gremmen N.J.M., Frenot Y., Bridge P.D., Chown S.L., 2011, *Food for thought: risks of non-native species transfer to the Antarctic region with fresh produce*, Biological Conservation, 144, 1682–1689.
- Hughes K.A., Worland M.R., 2010, *Spatial distribution, habitat preference and colonization status of two alien terrestrial invertebrate species in Antarctica*, Antarctic Science, 22, 221–231.
- Huiskes A.H.L., Gremmen N.J.M., Bergstrom D.M., Frenot Y., Hughes K.A., Imura S., Kiefer K., Lebouvier M., Lee J.E., Tsujimoto M., Ware C., van de Vijver B., Chown S.L., 2014, *Aliens in Antarctica: Assessing transfer of plant propagules by human visitors to reduce invasion risk*, Biological Conservation, 171, 278–284.
- Kejna M., 2008, *Topoclimatic conditions in the vicinity of the Arctowski Station (King George Island, Antarctica) during the summer season of 2006/2007*, Polish Polar Research, 29, 95–116.
- Lityńska-Zajac M., Chwedorzewska K.J., Olech M., Korczak-Abshire M., Augustyniuk-Kram A., 2012, *Diaspores and phyto-remains*

- accidentally transported to the Antarctic Station during three expeditions*, Biodiversity and Conservation, 21, 3411–3421.
- Maggi O., Tosi S., Angelova M., Lagostina E., Fabbri A.A., Pecoraro L., Altobelli E., Picco A.M., Savino E., Branda E., Turchetti B., Zotti M., Vizzini A., Buzzini P., 2013, *Adaptation of fungi, including yeasts, to cold environments*, Plant Biosystems, 147, 247–258.
- Marshall W.A., 1997, *Seasonality in Antarctic airborne fungal spores*, Applied and Environmental Microbiology, 63, 2240–2245.
- Mercantini R., Marsella R., Moretto D., Finotti E., 1993, *Keratinophilic fungi in the antarctic environment*, Mycopathologia, 122, 169–175.
- Molina-Montenegro M.A., Carrasco-Urra F., Acuña-Rodríguez I., Oses R., Torres-Díaz C., Chwedorzewska K.J., 2014, *Assessing the importance of human activities for the establishment of the invasive Poa annua in Antarctica*, Polar Research, 33, 214–225.
- Olech M., Węgrzyn M., Lisowska M., Chwedorzewska K.J., Słaby A., 2013, *Polarne ekosystemy lądowe w kontekście zmian klimatycznych*, Kosmos, 62, 365–372.
- Onofri S., Selbmann L., de Hoog G.S., Grube M., Barreca D., Ruisi S., Zucconi L., 2007, *Evolution and adaptation of fungi at boundaries of life*, Advances in Space Research, 40, 1657–1664.
- Robinson C.H., 2001, *Cold adaptation in Arctic and Antarctic fungi*, New Phytologist, 151, 341–353.
- Rogers S.O., Starmer W.T., Castello J.D., 2004, *Recycling of pathogenic microbes through survival in ice*, Medical Hypotheses, 63, 773–777.
- Ruisi S., Barreca D., Selbmann L., Zucconi L., Onofri S., 2007, *Fungi in Antarctica*, Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 6, 127–141.
- Russell N.J., 2008, *Membrane components and cold sensing. Fundamentals of Cold-Adapted Enzymes*, w: R. Margesin, F. Schinner, J.C. Marx, C. Gerday (red.), *Psychrophiles: From biodiversity to biotechnology*, Springer-Verlag, Berlin, 177–190.
- Shehu K., Bello M.T., 2011, *Effect of environmental factors on the growth of Aspergillus species associated with stored millet grains in Sokoto*, Nigerian Journal of Basic and Applied Science, 19, 218–223.

- Thammavongs B., Panoff J.M., Gueguen M., 2000, *Phenotypic adaptation to freeze-thaw stress of the yeast-like fungus Geotrichum candidum*, International Journal of Food Microbiology, 60, 99–105.
- Turkiewicz M., 2006, *Drobnoustroje psychrofilne i ich biotechnologiczny potencjał*, Kosmos, 55, 309–312.
- Vishniac H.S., 1996, *Biodiversity of yeast and filamentous microfungi in terrestrial Antarctic ecosystems*, Biodiversity and Conservation, 5, 1365–1378.
- Whinam J., Chilcott N., Bergstrom D.M., 2005, *Subantarctic hitchhikers: expeditioners as vector for the introduction of alien organisms*, Biological Conservation, 121, 207–219.

(Web-01) <<http://iaato.org/tourism-statistics>>, dostęp: 14.06.2016.

Unintentional transport of fungal propagules to the Antarctic biome – growth opportunities at low temperatures

Summary

Microfungi relatively easily disperse and colonize a variety of substrates, withstanding various, often extreme environments. Therefore, they spread all over the world. The aim of this study was to determine whether propagules of fungi accidentally transported to biome of Antarctica were able to grow at low temperatures. In the studies were used seven isolates of fungi: *Penicillium* sp., *Aspergillus flavus*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Trichoderma viride*, *Geotrichum candidum* and *Botrytis cinerea*. The isolates came from dust samples collected from tourists and members of scientific expeditions (their clothes, shoes and equipment) arriving at the station H. Arctowski on King George Island in the South Shetland archipelago. Fungal growth was measured at 0, 5, 10, 22°C (as a control) and 10°C, but after having frozen inoculum at -15°C for a period of 7 days. All tested species of fungi did not grow at the temperature of 0°C. *A. flavus* was the only one not grow at a temperature of 5°C. *A. flavus* and *G. candidum* haven't also grown after a temporary freeze of inoculum. Fungi, which did not grow at a temperature of 0°C after moving to higher temperatures resumed their growth. Of the two species that did not grow after freezing, i.e. *G. candidum* and *A. flavus*, only the first resumed its growth at 22°C.

Sporulation of the studied fungi in most cases was most abundant at 22°C. Some species (*G. candidum*, *T. viride* and *B. cinerea*) did not produce spores at lower temperatures.

Key words: Antarctica, microfungi, alien species