

Antagonistyczne interakcje między grzybami saprotroficznymi a geohelmindami. 2. Grzyby saprotroficzne w bioregulacji pasożytniczych geohelminatów człowieka i zwierząt

Antagonistic interactions between saprotrophic fungi and geohelminths. 2. Saprotrophic fungi in biocontrol of parasitic geohelminths of humans and animals

Magdalena Jaborowska-Jarmoluk¹, Kinga Mazurkiewicz-Zapałowicz², Lidia Kołodziejczyk³

¹Wojewódzka Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna, ul. Spedytorska 6/7, 70-632 Szczecin

²Zakład Hydrobiologii, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny, ul. K. Królewicza 4, 71-550 Szczecin

³Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Medycznej, Pomorska Akademia Medyczna, Al. Powstańców Wielkopolskich 72, 70-111 Szczecin

Adres do korespondencji: Lidia Kołodziejczyk, Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Medycznej, Pomorska Akademia Medyczna, Al. Powstańców Wielkopolskich 72, 70-111 Szczecin; E-mail: lkolo@sci.pam.szczecin.pl

ABSTRACT. The soils ecosystem plays an important role in the epidemiology of geohelminth diseases of humans and animals. Soil contamination with ova of the parasitic geohelminths represents a global public health-hazard issue. Biological agents have been thought to control the infective forms of parasites present in the soil. Biocontrol of geohelminths represents an alternative to pesticides (i.e., nematicides), which are not efficient in killing infective nematode forms and, additionally, result in the environment pollution and long-term disturbances in the soil ecosystem homeostasis. The degree of the inhibiting effect of soil saprotrophic fungi on geohelminth embryonic development varies and depends on the species. A number of fungi cause various morphological disorders in the embryos of developing parasitic nematodes, but also have an ovicidal effect. Although the nature of the antagonism between fungi and other living organisms has not been fully explained, it is certain that mycotoxins and fungal enzymes constitute its important components. Considering the studies carried out so far, the antagonistic effect of mold fungi against the infective stages of geohelminths can be fully recommended as a real control factor, especially as these saprotrophs represent a natural factor within the soil environment, that is of particular biochemical activity.

Key words: parasitic geohelminths, saprotrophic fungi, embryogenesis

Wstęp

Skażenie gleby jajami geohelminatów jest ogólnosię światowym problemem zdrowia publicznego. Szacuje się, że na świecie od 0,3 do 87% gleb jest skażonych jajami *Toxocara canis* [1]. W Turcji około 30% próbek gleby zebranych z parków było za-

nieczyszczonych tymi pasożytami [2]. W Nepalu jajka *Toxocara* spp. wykryto w 23% próbek gleby, które zebrano z ulic Katmandu [3]. Badania przeprowadzone w Argentynie (La Plata), ujawniły obecność jaj *Toxocara canis* w 10,7% prób pochodzących z chodników i 13,0% z terenów publicznych [4]. W Irlandii (Dublin) 15% prób zebranych z miejsc

przeznaczonych do zabaw dzieci zawierało jaja *T. canis* [5], a w Japonii wskaźnik ten wahał się od 13 do 69% [6].

Badania gleby przeprowadzone w różnych rejonach Polski wykazały obecność jaj *Toxocara canis* w 10–80% próbek pobranych z plaży, podwórek, parków i terenów rekreacyjnych. Najbardziej skażone okazały się miejsca położone w pobliżu budynków mieszkalnych [7]. W Poznaniu w 4% badanych prób gleby wykryto jaja *Ascaris* spp., a w 23% – jaja *Toxocara* spp. [8, 9]. W Krakowie 30% próbek gleby było zanieczyszczonych jajami *Toxocara* spp., a w Lublinie – 37% [10]. W badaniach porównawczych przeprowadzonych w Wielkopolsce wykazano wyższy poziom skażenia gleby jajami *Toxocara* spp. w środowisku miejskim niż w wiejskim [11].

Problem zanieczyszczenia jajami geohelminatów dotyczy również osadów ściekowych oraz produkowanych na ich bazie nawozów organicznych [12]. Najczęściej w osadach ściekowych występują jaja *Toxocara* spp. (14,5%). Natomiast jaja *Ascaris* spp. stwierdzono w około 9% badanych prób [13]. Jaja *Ascaris* spp. stwierdzono w 19,5% prób nawozów organicznych, a jaja *Trichuris trichiura* – w 18% [14]. Jak wiadomo, jedyną możliwością wykorzystania osadów ściekowych jest użycie ich do rekultywacji gruntów i nawożenia. Z tego powodu mogą one odgrywać ważną rolę w łańcuchu epidemiologicznym infekcji pasożytniczych geohelminatów u ludzi i zwierząt.

Pomimo istniejącej skali zagrożenia brak jest do tychczas praktycznego sposobu eliminacji jaj geohelminatów z gleby, a jedyną stosowaną metodą są środki profilaktyczne obejmujące weterynaryjne monitorowanie, odrobaczanie psów i kotów oraz działania edukacyjne propagujące zasady higieny u ludzi. Efekty tych przedsięwzięć zapobiegawczych są jednak ciągle niezadowalające, co potwierdzają dane epidemiologiczne. Stwierdzono bowiem, że zarażenie *Ascaris lumbricoides* dotyczy ponad miliarda ludzi na świecie i powoduje 20 tys. przypadków śmiertelnych rocznie [15], natomiast ponad 900 mln ludzi zarażonych jest *Trichuris trichiura* [16]. Wysoki poziom skażenia środowiska naturalnego jajami pasożytniczych nicieni (*Ascaris suum*, *A. lumbricoides*, *Toxocara canis* i *Trichuris trichiura*) stwierdzony w wielu rejonach świata, związany jest m.in. z dużą rozrodczością tych geohelminatów. Samica *A. lumbricoides* lub *A. suum* składa dziennie ok. 200 tys. jaj, a samica *T. canis* czy *T. trichiura* ok. 10 tys. jaj [17]. Jedną z istotnych przyczyn utrzymujących się infekcji

Ascaris, *Trichuris* i *Toxocara* u ludzi i zwierząt jest także wysoka oporność jaj nicieni na działanie czynników środowiskowych. Jaja *A. lumbricoides* mogą zachować żywotność w środowisku zewnętrznym nawet do 15 lat [18], a jaja *T. canis* nie tracą jej nawet w temperaturze -26°C [19]. Dodatkowym elementem nie zmniejszającym zagrożenia zarażeniem przez *Toxocara* sp. i *Ascaris suum* wraz z upływem czasu, jest także trudność przenikania jaj z powierzchni gleby do jej głębszych warstw. Stąd też nawet po upływie roku wykrywa się je w powierzchniowych warstwach, jedynie do głębokości kilku centymetrów [20].

Na redukcję liczebności form inwazyjnych geohelminatów wywierają wpływ różnorodne czynniki fizyczne i chemiczne [21–27], jednak ich powszechne stosowanie jest ograniczone. Pestycydy (np. Błatosep 75, Karbosep zawieszinowy i Winylosep płynny 50) hamują, co prawda rozwój zarodkowy jaj *Ascaris suum*, ale jednocześnie niszczą inne pożyteczne składniki biocenozy glebowej [27]. Stąd też stosowanie środków chemicznych o działaniu nematocidalnym, ze względu na uboczne efekty oddziaływania, stanowi ryzyko dla utrzymania homeostazy ekosystemu glebowego.

Saprotroficzne grzyby glebowe jako istotny czynnik biotyczny w ograniczaniu geohelminatów

Od wielu lat poszukiwane są czynniki biotyczne zwalczające formy inwazyjne pasożytów w glebie. Oprócz grzybów, do bioregulatorów liczebności pasożytniczych geohelminatów, hamujących rozwój ich larw należą m.in. bakterie, roztocze i skoczogonki [28]. Jednak najważniejszymi czynnikami biotycznymi redukującymi liczebność jaj geohelminatów są grzyby saprotroficzne.

Wyniki wielu badań wskazują na występowanie zróżnicowanych mechanizmów oddziaływania saprotroficznych grzybów glebowych na jaja nicieni. Grzyby glebowe mogą antagonistycznie oddziaływać na geohelminy, w sposób bezpośredni lub za pomocą swoich metabolitów [29–33]. Ze względu na dużą aktywność biochemiczną mikroorganizmy te odgrywają istotną rolę w biologicznym zwalczaniu agrofagów, a także gatunków wywołujących parazytozy uciążliwe dla ludzi i zwierząt. Mechanizmy ich oddziaływania nie są wprawdzie do końca poznane, choć wiadomo, że antagonistyczny wpływ grzybów na jaja geohelminatów ma podłoże biochemiczne. Istotnymi elementami tego antagonizmu są

mikotoksyny oraz enzymy grzybowe.

Mikotoksyny stanowią bogatą grupę metabolitów wtórnych grzybów, liczącą ponad 300 dotychczas poznanych związków chemicznych. Wśród grzybów najbardziej mikotoksyczne są szczepy z rodzajów powszechnie występujących w glebie: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* oraz *Stachybotrys* [34]. Najwcześniej odkrytymi i najlepiej poznаныmi toksynami są aflatoksyny (B1, B2, G1, G2, M1 i M2), wytwarzane przede wszystkim przez szczepy *Aspergillus flavus* (Link.) i *A. parasiticus* Spear [35–37]. Aflatoksyny są wysoce nasyconymi, heterocyklicznymi związkami, zawierającymi fragmenty furanowe [38]. Aflatoksykozy, czyli zatrucia ludzi i zwierząt aflatoksynami, przebiegają pod postacią zapalenia spojówek i układu oddechowego, nieżyty i zapalenia przewodu pokarmowego oraz zwyrodnienia wątroby. Genotoksyczne działanie aflatoksyny związane jest z tworzeniem adduktów z DNA, hamowaniem syntezy RNA [39], a także stymulacją aberracji chromosomowych [40]. Wykazano też, że aflatoksyny są inhibitorami niektórych enzymów, a także obniżają poziom witaminy A, albumin, globulin oraz glikogenu [41]. Prowadzono także badania wskazujące na możliwość nematocidalnego oddziaływania toksyn *Penicillium frequentans*, *P. verrucosum* var. *cyclopium* i *Aspergillus versicolor* na larwy fitopatogenicznych nicieni glebowych [42].

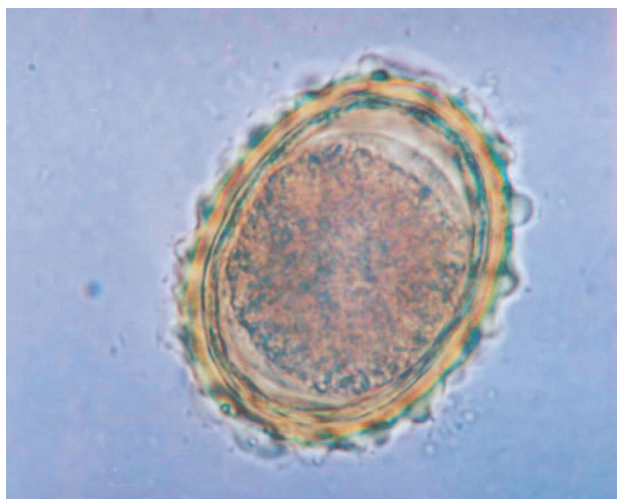
Kolejną grupę mikotoksyn stanowią ochratoksyny A i B, należące do pentaketydowych pochodnych izokumaryny. Ochratoksyny (OTA), produkowane są przez liczne gatunki rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium*, należą do mikotoksyn o właściwościach kancerogennych i nefrotoksycznych [43]. Toksyczność OTA przejawia się w hamowaniu aktywności wielu enzymów oraz zakłóceniu metabolizmu węglowodanowego i białkowego [44]. Głównym mechanizmem toksyczności OTA jest hamowanie syntezy białek, ponieważ jako strukturalny analog fenyloalaniny współzawodniczy z nią w reakcji aminocetylowania fenyloalanina-tRNA [44]. Metabolity ochratoksyny mają właściwości genotoksyczne, ponieważ modyfikują guaninę i tworzą addukty [43]. Ochratoksynoza powoduje u zwierząt hodowlanych obniżenie nieśności i przyrostu masy ciała, zaburzenia krzepliwości krwi oraz deficyt witamin A, C i E. Ochratoksyna A wydzielana przez grzyby nie stanowi zagrożenia dla biocenozy gleby, ponieważ ulega rozkładowi w ciągu 10 dni [45, 46]. Fakt ten sprawia, że jej ewentualne wykorzystanie do redukcji larw geohelminatów może być ograniczone, nato-

miast zablokowanie rozwoju larw poprzez destrukcję jaj, musi być systematycznie powtarzane.

Bardzo rozpowszechnionymi i różnorodnymi mikotoksynami są trichotecyny, które pod względem chemicznym stanowią grupę sesquiterpenoidów, zawierających tricykliczny szkielet złożony z cykloheksanu, cyklopentanu i 6-członowego oksyranowego pierścienia. Trichotecynogenne są szczepy większości gatunków rodzaju *Fusarium*: *F. poae* i *F. tricinctum* (T-2 toksyna), *F. heterosporum*, *F. equiseti*, *F. culmorum* (DAS: diacetoscirpenol), *F. sporotrichioides* (HT-2 toksyna) oraz *F. graminearum* (NIV: nivalenol) i *F. culmorum* (DON: deoksynivalenol). Trichotecyny T-2 i HT-2 oddziałują na skórę i błony śluzowe zwierząt i ludzi, a DON i NIV powodują zahamowanie elongacji w procesie biosyntezy białka. Trichotecyną jest również satratoksyna, wytwarzana przez *Stachybotrys chartarum*, która u zwierząt i ludzi powoduje podrażnienie skóry, ból i zapalenie błony śluzowej jamy ustnej i gardła oraz krwawienie z nosa [37].

Jakkolwiek większość badań dotyczących mikotoksykoz odnosi się do zwierząt hodowlanych i ludzi, to biorąc pod uwagę ich toksyczne oddziaływanie na poziomie komórkowym, należy przypuszczać, że również w odniesieniu do stwierdzanej redukcji populacji geohelminatów przez grzyby toksynotwórcze w glebie, ten mechanizm funkcjonuje podobnie. Ze względu jednak na skomplikowany i bardzo dynamiczny charakter ekosystemu glebowego, wpływ stężenia mikotoksyn, a tym samym naturalna skuteczność redukcji populacji nicieni, ulega znacznym wahaniom.

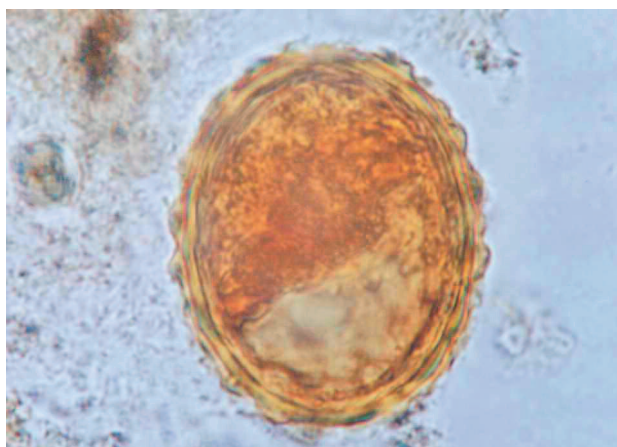
W oddziaływaniu antagonistycznym na geohelminy istotną rolę odgrywają także enzymy ułatwiające wrastanie strzępek grzybów do wnętrza gospodarza [30, 47, 48], co umożliwia penetrację organizmu żywiciela. Spośród enzymów ułatwiających zarażenie szczególne znaczenie mają hydrolazy. Mikoproteazy, powodujące degradację struktury białkowej wra skóry-mięśniowego larw robaków, doprowadzają do rozpadu miofilamentów i sprawiają, że oskórek przestaje chronić geohelminy przed działaniem czynników zewnętrznych. Silnymi właściwościami proteolitycznymi wyróżniają się szczepy *P. frequentans* i *P. verrucosum* [49], co sprzyja zwiększeniu wrażliwości geohelminatów i ograniczeniu ich żywotności [42]. Główną rolę w patogeniczności grzyba *Metarhizium anisopliae* wobec jaj nicieni przypisuje się jednej z proteaz – chymoelastazie [47]. Podobnie wysoką aktywność proteolityczną *Paecilomyces lilacinus* stwier-



Fot. 1. Jajo *Ascaris suum* w stadium zygoty z hodowli kontrolnej (1000x)
Phot. 1. Zygote of *Ascaris suum* from the control culture (1000x)

dzono w hodowli z jajami *Meloidogyne hapla* [50]. Równie istotne w oddziaływaniu nematotoksycznym saprotroficznych grzybów są ich właściwości lipolityczne. Konsekwencją działania tych mikroenzymów jest degradacja struktury lipidowej błon komórkowych. Takie działanie udowodniono m.in. w odniesieniu do *P. verrucosum* var. *cyclopium* [42]. Gospodarka lipidowa w ontogenezie nicieni odgrywa decydującą rolę, ponieważ jej zaburzenia zakłócają proces metamorfozy, a tym samym rozwój geohelmintów [51].

Wpływ grzybów saprotroficznych na rozwój zarodkowy geohelmintów



Fot. 2. Jajo *Ascaris suum* w stadium zygoty z hodowli z *Penicillium frequentans*. Widoczna granulacja i wakuolizacja zarodka (1000x)
Phot. 2. Granulation and vacuolization of *Ascaris suum* zygote cultured with *Penicillium frequentans* (1000x)



Fot. 3. Jajo *Ascaris suum* w stadium dwóch blastomerów z hodowli kontrolnej (1000x)
Phot. 3. *Ascaris suum* egg at the two-blastomere stage from control culture (1000x)

Liczne badania wykazały hamujący wpływ saprotroficznych grzybów glebowych na rozwój zarodkowy geohelmintów. Zaburzenia przebiegu ich embriogenezy stwierdzono pod wpływem m.in. *Penicillium frequentans* (Fot. 1, 2); *Stachybotrys chartarum*, *Fusarium oxysporum*, *F. culmorum*, *F. pallidoroseum*, *Trichocladium asperum* (Fot. 3, 4); *Paeecilomyces fumosoroseus*, *P. lilicinus*, *P. maranguanii*, *Metarhizium flavoviride*, *M. anisopliae* (Fot. 5, 6); *Trichothecium roseum*, *Aspergillus versicolor*, *A. niger*, *Trichoderma viride*, *Verticillium chlamydiosporum* i *Mucor hiemalis* oraz ich metabolitów, jak np. ochratoksyna A i aflatoksyna G1 [30, 31, 33, 52–57].

Tempo przebiegu embriogenezy i jej poszczególnych etapów, są zróżnicowane i zależą od gatun-

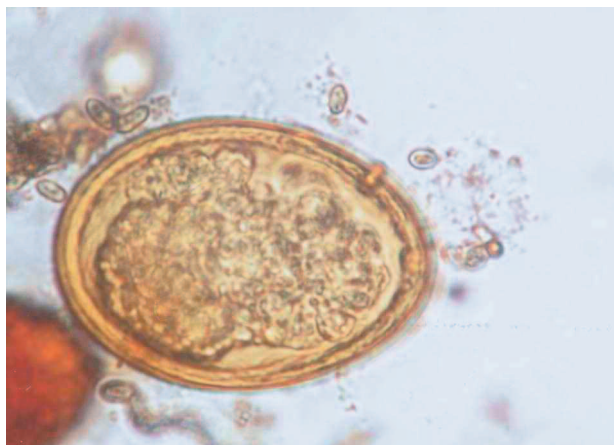


Fot. 4. Jajo *Ascaris suum* z hodowli z *Trichocladium asperum* (1000x)
Phot. 4. *Ascaris suum* egg incubated with *Trichocladium asperum* (1000x)



Fot. 5. Jajo *Ascaris suum* w stadium gastruli z hodowli kontrolnej (1000x)

Phot. 5. *Ascaris suum* egg at the gastrula stage from control culture (1000x)



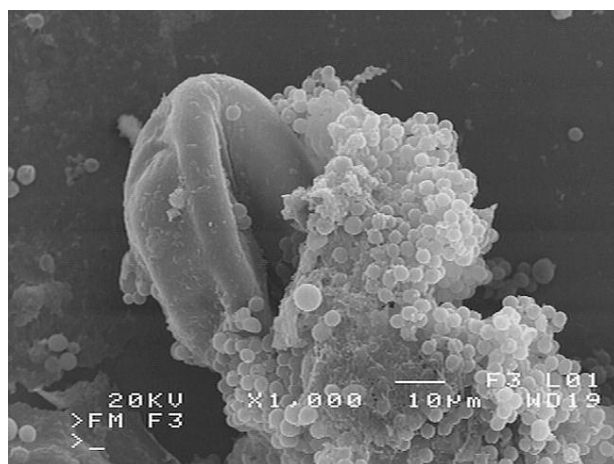
Fot. 6. Zniekształcona gastrula w jaju *Ascaris suum* po inkubacji z *Metarhizium anisopliae* (1000x)

Phot. 6. Deformed gastrula in *Ascaris suum* egg incubated with *Metarhizium anisopliae* (1000x)

ku grzyba. Inkubacja jaj *Ascaris suum* z *Penicillium frequentans* i *Stachybotrys chartarum* powoduje znaczne opóźnienie inicjacji podziału zygoty i spowolnienie rozwoju poszczególnych stadiów embriogenezy tego nicienia [32]. Antagonistyczny wpływ *P. frequentans* wyraża się wydłużeniem rozwoju zarodkowego o 19 dni, podczas gdy inkubacja z *S. chartarum* wydłuża ten okres o 13 dni, w porównaniu z kontrolą. Jaja *A. suum* inkubowane z *Fusarium culmorum* wykazywały 8-dniowe opóźnienie całego rozwoju w porównaniu z kontrolą [55]. Badane gatunki z rodzaju *Metarhizium* nie hamowały w jednakowym stopniu poszczególnych etapów rozwoju zarodkowego jaj *Ascaris suum* [56]. W hodowli z *Metarhizium flavoviride* rozwój

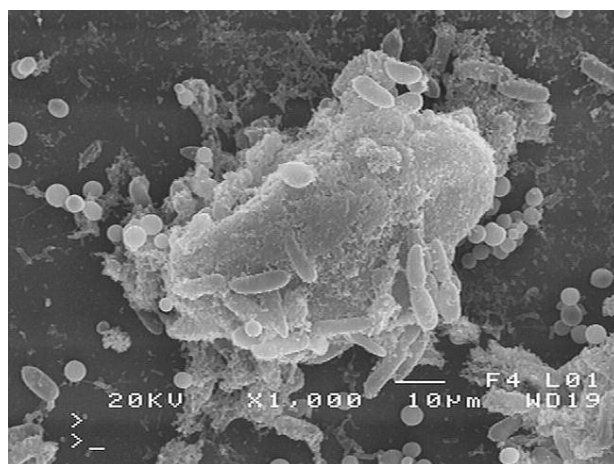
zygoty do wykształcenia larwy inwazyjnej trwał 6 dni dłużej, aniżeli z *Metarhizium anisopliae*. Podobnie, rozwój jaj *A. suum* inkubowanych z *Aspergillus niger*, od stadium zygoty do larwy inwazyjnej, przebiegał o 7 dni dłużej w porównaniu z jajami hodowanymi z *A. versicolor* [55].

Wyniki wielu badań wskazują na występowanie zróżnicowanych mechanizmów oddziaływania saprotroficznych grzybów glebowych na jaja nicieni. Grzyby glebowe mogą antagonistycznie oddziaływać na geohelminty, w sposób bezpośredni lub za pomocą swoich metabolitów [29–33]. Antagonistyczne oddziaływanie grzybów na jaja nicieni może mieć charakter ostateczny, w przypadku braku naruszenia osłonek jajowych lub owocydny, gdy



Fot. 7. Destrukcja powierzchni jaja *Ascaris suum* z 42-dniowej hodowli z *Trichoderma viride*

Phot. 7. Destruction of the surface of *Ascaris suum* egg from 42-day culture with *Trichoderma viride*



Fot. 8. Zniszczone jajo *Ascaris suum* z 60-dniowej hodowli z *Paecilomyces fumosoroseus*

Phot. 8. Destroyed *Ascaris suum* egg from 60-day culture with *Paecilomyces fumosoroseus*

występuje destrukcja osłonek jajowych lub uszkodzenie osłonek wraz z towarzyszącą penetracją strzępek grzyba do wnętrza jaja [58].

O słonki jaj nicieni należą do bardzo opornych struktur biologicznych [59]. Przypuszcza się jednak, że przez osłonki jajowe mogą przenikać metabolity grzybów wykazujące powinowactwo do lipidów, jak np. triacylglicerole, które wyizolowano z *Fusarium oxysporum*, *Penicillium frequentans*, *P. verrucosum* var. *cyclopium* i *Aspergillus versicolor* [34, 42]. Rozkład warstwy chitynowej mogą powodować grzyby cechujące się aktywnością chitynolityczną, np. *Metarhizium anisopliae*, z którego grzybni wyizolowano 6 różnych chitynaz [60–62]. Z drugiej strony nie wykazano korelacji pomiędzy aktywnością chitynolityczną, lipolityczną i proteolityczną grzybów pleśniowych a penetracją strzępek do wnętrza jaj *Ascaris* [63]. Udowodniono, że *Verticillium chlamydiosporum* wrasta do wnętrza jaj *Ascaris* po wcześniejszym uszkodzeniu osłonek jajowych przez czynniki fizyczne, np. wysoką temperaturę [64].

Grzybnia może tworzyć sieć strzępek otaczającą jajo bez penetracji (Fot. 7, 8) lub penetrować wewnątrz jaja [52]. U *Verticillium chlamydiosporum* wykazano penetrację prostą przez strzępki grzybni, bez jakichkolwiek organów specjalistycznych [53]. Natomiast obecność u *Paecilomyces lilacinus* struktur zwanych apressoriami ułatwia strzępkom wrastanie poprzez osłonki do wnętrza jaj *Toxocara canis* [30].

Kontakt jaj pasożytów z metabolitami grzybów już od samego początku rozwoju prowadzi do powstania zaburzeń w procesie bruzdkowania i w konsekwencji – do wykształcenia wadliwych blastomerów [65]. Wykazano, że toksyczne oddziaływanie grzybni *P. frequentans* oraz w mniejszym stopniu *S. chartarum*, na rozwój zarodkowy *A. suum* wyraża się występowaniem zmian morfologicznych w postaci: wakuolizacji zygoty, zaburzeń w rozmieszczeniu substancji żółtkowej, niesynchronicznych i nierównomiernych podziałów blastomerów, a także deformacji blastuli, gastruli i larwy [32]. Występowanie zaburzeń w rozwoju zarodkowym można tłumaczyć przenikaniem do wnętrza jaj metabolitów grzybów o charakterze mikotoksyn. Potwierdzeniem tego może być fakt występowania podobnego obrazu zmian morfologicznych rozwijających się zarodków *A. suum* inkubowanych z *M. flavoviride* [56] oraz z ochratoksyną A [54]. W obu przypadkach obserwowano różnej wielkości granule, w sąsiedztwie dzielących się blastomerów.

Wykładnikiem antagonistycznego wpływu grzy-

bów glebowych na przebieg embriogenezy nicieni są nie tylko zaburzenia morfologiczne, ale także zmiany w metabolizmie rozwijających się zarodków. Histochemiczne badania aktywności enzymów oksydoredukcyjnych w rozwijających się jajach *A. suum* inkubowanych wraz z grzybnią *P. frequentans* wykazały osłabienie procesów oddechowych, głównie w postaci spadku aktywności dehydrogenazy bursztynianowej w okresie gastrulacji [31]. Inkubacja jaj *A. suum* w roztworze OTA A (1ppm) powoduje spadek aktywności fosfatazy kwaśnej w przebiegu embriogenezy, a także obniżenie aktywności dehydrogenazy bursztynianowej i mleczanowej w okresie bruzdkowania i gastrulacji oraz wzrost aktywności obydwu oksydoreduktaz w stadium larwy [66].

Saprotroficzne grzyby glebowe wywołują różnicowany efekt jajobójczy u pasożytniczych geohelminatów. *Paecilomyces lilacinus* po 2 tygodniach hodowli powoduje obumarcie ponad 80% jaj *Toxocara canis* [30]. Podobną skuteczność wykazuje *Fusarium pallidoroseum* (84,3%) [33]. Wysoką śmiertelność (100%) larw *A. suum* stwierdzono w 70 dniu hodowli z *P. frequentans* [54]. Znacznie niższy odsetek martwych larw *Ascaris suum* obserwowano pod wpływem *Aspergillus niger* (21%), *Metarhizium flavoviride* (25,8%) i *Paecilomyces fumosroseus* (36%) w 60 dniu inkubacji [55].

Antagonistyczne oddziaływanie saprotroficznych grzybów glebowych na jaja geohelminatów może modyfikować obecność drugiego gatunku grzyba. Synergizm w oddziaływaniu grzybów glebowych na rozwój zarodkowy *A. suum* stwierdzono w układzie *Paecilomyces fumosroseus* i *Metarhizium flavoviride* oraz *Fusarium culmorum* i *Trichothecium roseum*, w postaci spowolnienia rozwoju embrionalnego oraz występowania wyższego odsetka jaj z embriopatiami i martwymi larwami [55].

Korzystny aspekt aktywności grzybów saprotroficznych, którego następstwem jest ograniczenie populacji geohelminatów, stanowi jedynie mały fragment identyfikacji skomplikowanych powiązań występujących między komponentami glebowej mikrobiocenozy. Perspektywa wykorzystania zależności antagonistycznych w walce z groźnymi pasożytami ludzi i zwierząt, sprawia, że badania te, mimo ich złożoności i interdyscyplinarnego charakteru są celowe, a każde z nich odsłania nowe nieznane interakcje grzyb-nicień.

Niniejszą pracę dedykujemy śp. Pani Profesor dr hab. n. med. Wandzie Kuźna-Grygiel, która zaini-

cyjowała i wspierała nasze wspólne badania mikologiczno-nematologiczne.

Zdjęcia pochodzą z pracy: Jaborowska M. 2006. Badania nad ograniczeniem liczebności pasożytniczych geohelminatów za pomocą saprotroficznych grzybów glebowych i ich wydzielin. *Annales Academiae Medicae Stetinensis* 52: 37–46.

Literatura

- [1] Barriga O. O. 1988. A critical look at the importance, prevalence and control of toxocariasis and the possibilities of immunological control. *Veterinary Parasitology* 29: 195–234.
- [2] Oge S., Oge H. 2000. Prevalence of *Toxocara* spp. eggs in the soil of parks in Ankara, Turkey. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 107: 72–75.
- [3] Rai S. K., Uga S., Ono K., Rai G., Matsumura T. 2000. Contamination of soil with helminth parasite eggs in Nepal. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 31: 388–393.
- [4] Minvielle M. C., Pezzani B. C., Basualdo Farjat J. A. 1993. Frequency of finding helminths eggs in canine stool samples collected in public places in the La Plata city, Argentina. *Boletín Chileno de Parasitología* 48: 63–65.
- [5] O’Lorcain P. 1994. Prevalence of *Toxocara canis* ova in public playgrounds in the Dublin area of Ireland. *Journal of Helminthology* 68: 237–241.
- [6] Uga S., Minami T., Nagata K. 1996. Defecation habits of cats and dogs and contamination by *Toxocara* eggs in public park sandpits. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 54: 122–126.
- [7] Mizgajska H., Jarosz W., Rejmenciak A. 2001. Rozmieszczenie źródeł inwazji *Toxocara* spp. w środowisku miejskim i wiejskim w Polsce. *Wiadomości Parazytologiczne* 47: 399–404.
- [8] Mizgajska H. 1997. The role of some environmental in the contamination of soil with *Toxocara* spp. and other geohelminth eggs. *Parasitology International* 46: 67–72.
- [9] Mizgajska H., Luty T. 1998. Toksokaroza u psów i zanieczyszczenie gleby jajami *Toxocara* spp. w aglomeracji poznańskiej. *Przegląd Epidemiologiczny* 52: 441–446.
- [10] Mizgajska H. 2000. Zanieczyszczenie gleby jajami *Toxocara* spp. na terenie Krakowa i pobliskich wsi. *Wiadomości Parazytologiczne* 46: 105–110.
- [11] Mizgajska-Wiktor H., Jarosz W. 2007. Porównanie skażenia gleby jajami *Toxocara canis* i *Toxocara cati* w środowisku wiejskim i miejskim w Wielkopolsce w latach 2000–2005. *Wiadomości Parazytologiczne* 53: 219–225.
- [12] Ziomko I., Cencek T. 2003. Osady ściekowe, nawozy organiczne i organiczno-mineralne – potencjalne źródło zarażenia nicieniami jelitowymi. Materiały Sympozjum „Parazytozy – problemy kliniczne”. 5–7.06.2003, Białystok: 53.
- [13] Kłapeć T., Stroczyńska-Sikorska M., Galińska E. 2003. Badania helmintologiczne osadów ściekowych przeznaczonych do rolniczego wykorzystania. Materiały XV Wrocławskiej Konferencji Parazytologicznej „Parazytologia w ochronie środowiska i zdrowia”. 3–5.09.2003, Wrocław-Karpacz: 25.
- [14] Cencek T., Ziomko I., Karamon J. 2004. Obecność jaj nicieni pasożytniczych z rodzajów *Ascaris*, *Trichuris* i *Toxocara* w osadach ściekowych i nawozach organicznych. Materiały Konferencji „Toksokaroza – niebezpieczna zoonoza XXI wieku”. 2.06.2004, Warszawa: 32.
- [15] Hopkins D. R. 1992. Homing in on helminths. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 46: 626–634.
- [16] Chan M. S. 1997. The global burden of intestinal nematode infections – fifty years on. *Parasitology Today* 13: 438–443.
- [17] Despommier D. D., Gwadz R. W., Hotez P. J., Knirsch Ch. A. 2000. Parasitic Diseases. Apple Trees Productions LLC, New York.
- [18] Krasnonos L. N. 1978. Mnogoletnaâ wyzwaemost jajc ascarid (*Ascaris lumbricoides* L., 1758) w pocve Samarkanda. *Meditsinskaâ Parazitologiâ i Parazitarnye Bolezni* 47: 103–105.
- [19] Hozyasz K., Milanowski A. 2002. Toksokaroza – niedoceniony problem w praktyce pediatricznej. *Medycyna Wieku Rozwojowego* 6: 155–162.
- [20] Mizgajska H. 1993. The distribution and survival of eggs of *Ascaris suum* in six different natural soil profiles. *Acta Parasitologica* 38: 170–174.
- [21] Dziekońska-Rynko J., Jabłonowski Z. 2004. The effect of low temperatures on the development of eggs of *Ascaris suum* Goeze, 1782. *Wiadomości Parazytologiczne* 50: 509–512.
- [22] Rosypal A. C., Bowman D. D., Holliman D., Flick G. J., Lindsay D. S. 2007. Effects of high hydrostatic pressure on embryonation of *Ascaris suum* eggs. *Veterinary Parasitology* 145: 86–89.
- [23] Pecson B. M., Barrios J. A., Jimenez B. E., Nelson K. L. 2007. The effects of temperature, pH, and ammonia concentration on the inactivation of *Ascaris* eggs in sewage sludge. *Water Research* 41: 2893–2902.
- [24] Kuźna-Grygiel W., Gonet B., Jaborowska M., Kołodziejczyk L. 2005. Effect of electric power network frequency magnetic field on embryonic development of *Ascaris suum* (Nematoda). *Folia Biologica* 53: 101–105.
- [25] Żółtowska K., Kurowicka B. 1996. Rozwój jaj *Ascaris suum* w obecności moksydektyny. *Wiadomości Parazytologiczne* 42: 205–212.
- [26] El Garhy M. F., Mahmoud L. H. 2002. Anthelmintic efficacy of traditional herbs on *Ascaris lumbricoides*. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* 32: 893–900.

- [27] Jarnicka-Stanios H., Chybowski J. 1986. Badanie wpływu wybranych pestycydów na rozwój i inwazyjność jaj *Ascaris suum* Goeze, 1782. *Wiadomości Parazytologiczne* 32: 59–64.
- [28] Mizgajska H. 1994. Wpływ czynników biotycznych na jaja *Ascaris* spp. *Wiadomości Parazytologiczne* 40: 299–303.
- [29] Lýsek H. 1978. A scanning electron microscope study of the effect of an ovicidal fungus on the of *Ascaris lumbricoides*. *Parasitology* 77: 139–141.
- [30] Basualdo J. A., Ciarmela M. L., Sarmiento P. L., Minvielle M. C. 2000. Biological activity of *Paecilomyces* genus against *Toxocara canis* eggs. *Parasitology Research* 86: 854–859.
- [31] Kołodziejczyk L., Kuźna-Grygiel W., Janowicz K., Mazurkiewicz-Zapałowicz K. 2001. Effect of *Penicillium frequentans* and *Stachybotrys chartarum* on respiratory metabolism of developing of *Ascaris suum* (Nematoda). *Acta Mycologica* 36: 159–168.
- [32] Kuźna-Grygiel W., Kołodziejczyk L., Janowicz K., Mazurkiewicz-Zapałowicz K. 2001. Effect of some saprotrophic soil fungi on the embryonic development of *Ascaris suum*. *Acta Mycologica* 36: 283–291.
- [33] Ciarmela M. L., Minvielle M. C., Lori G., Basualdo J. A. 2002. Biological interaction between soil fungi and *Toxocara canis* eggs. *Veterinary Parasitology* 103: 251–257.
- [34] Mazurkiewicz-Zapałowicz K., Janowicz K., Kuźna-Grygiel W. 1999. Influence of excretions of chosen *Penicillium* species on the population *Globodera rostochiensis*. *Acta Mycologica* 34: 289–297.
- [35] Sweeney M. J., Dobson A. D. 1998. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *International Journal of Food Microbiology* 43: 141–158.
- [36] Bennett J. W., Klich M. 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews* 16: 497–516.
- [37] Grajewski J. 2006. Mikotoksyny i mikotoksykozy zagrożeniem dla człowieka i zwierząt. W: *Mikotoksyny i grzyby pleśniowe. Zagrożenia dla człowieka i zwierząt*. (Red. J. Grajewski). Wydawnictwo Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego, Bydgoszcz: 117–148.
- [38] Twarużek M. 2006. Grzyby pleśniowe i ich rola w środowisku. W: *Mikotoksyny i grzyby pleśniowe. Zagrożenia dla człowieka i zwierząt*. (Red. J. Grajewski). Wydawnictwo Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego, Bydgoszcz: 17–34.
- [39] Drummond J., Pinnock D. E. 1990. Aflatoxin production by entomopathogenic isolates of *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus*. *Journal of Invertebrate Pathology* 55: 332–336.
- [40] Roll R., Matthiaschek G., Korte A. 1990. Embryotoxicity and mutagenicity of mycotoxins. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* 10: 1–7.
- [41] Rao C. Y., Brain J. D., Burge H. A. 2000. Reduction of pulmonary toxicity of *Stachybotrys chartarum* spores by methanol extraction of mycotoxins. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 2817–2821.
- [42] Mazurkiewicz-Zapałowicz K. 2002. Reakcje ziemiaka na *Globodera rostochiensis* (Woll.) Behrens (Nematoda: Heteroderidae) i wybrane mikroorganizmy środowiska glebowego. Rozprawy Naukowe nr 207, Wydawnictwo Naukowe Akademii Rolniczej w Szczecinie.
- [43] Obrecht-Pflumio S., Dirheimer G. 2000. In vitro DNA and dGMP adducts formation caused by ochratoxin A. *Chemico-Biological Interactions* 127: 29–44.
- [44] Baudrimont I., Betbeder A. M., Creppy E. E. 1997. Reduction of the ochratoxin A-induced cytotoxicity in Vero cells by aspartame. *Archives of Toxicology* 71: 290–298.
- [45] Mazurkiewicz-Zapałowicz K., Janowicz K., Grajewski J., Jarosz B., Kuźna-Grygiel W. 2000. Reactions of *Globodera rostochiensis* to OTA and to the other metabolites of *Penicillium verucosum*. Materiały V Międzynarodowej Konferencji Naukowej „Mycotoxins and dioxins and the environment”, Bydgoszcz: 197–202.
- [46] Varga J., Peteri Z., Tabori K., Teren J., Vagvolgyi C. 2005. Degradation of ochratoxin A and other mycotoxins by *Rhizopus* isolates. *International Journal of Food Microbiology* 99: 321–328.
- [47] Charney A. K., St. Leger R. J. 1991. The role of cuticle degrading enzymes in fungal pathogenesis in insects. W: *The fungal spore and disease initiations in plants and animals*. (Eds. G. T. Cole, H. C. Hoch). Plenum Press, New York: 267–286.
- [48] Lecuona R., Riba G., Cassier P., Clement J. L. 1991. Alterations of insect epicuticular hydrocarbons during infection of *Beauveria bassiana* or *Beauveria brongniartii*. *Journal of Invertebrate Pathology* 58: 10–18.
- [49] Yokoyama S., Oobayashi A., Tanabe O., Sugawara S., Araki E. Ichishima E. 1974. Production and some properties of a new type of acid carboxypeptidase of *Penicillium* molds. *Applied Microbiology* 27: 953–960.
- [50] Bonants P. J., Fitters P. F., Thijs H., den Belder E., Waalwijk C., Henfling J. W. 1995. A basic serine protease from *Paecilomyces lilacinus* with biological activity against *Meloidogyne hapla* eggs. *Microbiology* 141: 775–784.
- [51] Holz R. A., Troth K., Atkinson H. J. 1999. The influence of potato cultivar on lipid content and fecundity of Bolivian and British populations of *Globodera rostochiensis*. *Journal of Nematology* 31: 357–366.
- [52] Lýsek H., Krajčí D. 1987. Penetration of ovicidal fungus *Verticillium chlamydosporium* through the *Ascaris lumbricoides* egg-shells. *Folia Parasitologica* 34: 57–60.
- [53] Lýsek H., Štěrba J. 1991. Colonization of *Ascaris lumbricoides* eggs by the fungus *Verticillium chlamydosporium* Goddard. *Folia Parasitologica* 38: 255–259.
- [54] Kołodziejczyk L., Kuźna-Grygiel W., Janowicz K.,

- Mazurkiewicz-Zapałowicz K. 2001. Antagonistyczny wpływ saprofitycznych grzybów glebowych na rozwój pasożytniczych nicieni. *Folia Universitatis Agricolae Stetinensis* 42: 83–88.
- [55] Jaborowska M. 2006. Badania nad ograniczeniem liczebności pasożytniczych geohelminarów za pomocą saprotroficznych grzybów glebowych i ich wydzielin. *Annales Academiae Medicae Stetinensis* 52: 37–46.
- [56] Jaborowska M., Kuźna-Grygiel W., Mazurkiewicz-Zapałowicz K. 2006. Wpływ grzybów z rodzaju *Metarhizium* na rozwój embrionalny *Ascaris suum*. *Annales Academiae Medicae Stetinensis* 52: 19–23.
- [57] Jaborowska M., Kuźna-Grygiel W., Mazurkiewicz-Zapałowicz K., Kołodziejczyk L. 2006. Comparative studies on the antagonistic effects of mould fungi on the embryogenesis of *Ascaris suum*. *Advances in Agricultural Sciences* 10: 45–49.
- [58] Lýsek H., Fassatióva G., Nigenda Z. 1986. Autodehelminthizing capacity of soils in two Mexican localities. *Helminthologia* 23: 237–241.
- [59] Wharton D. 1980. Nematode egg-shells. *Parasitology* 81: 447–463.
- [60] St. Leger R. J., Cooper R. M., Charnley A. K. 1990. Characterization of chitinase and chitobiase produced by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 58: 415–426.
- [61] Screen S. E., Hu G., St. Leger R. J. 2001. Transformants of *Metarhizium anisopliae* sf. *anisopliae* overexpressing chitinase from *Metarhizium anisopliae* sf. *acidum* show early induction of native chitinase but are not altered in pathogenicity to *Manduca sexta*. *Journal of Invertebrate Pathology* 78: 260–266.
- [62] Baratto C. M., da Silva M. V., Santi L., Passaglia L., Schrank I. S., Vainstein M. H., Schrank A. 2003. Expression and characterization of the 42 kDa chitinase of a biocontrol fungus *Metarhizium anisopliae* in *Escherichia coli*. *Canadian Journal of Microbiology* 49: 723–726.
- [63] Kunert J. 1992. On the mechanism of penetration of ovicidal fungi through egg-shells of parasitic nematodes. Decomposition of chitinous and ascaroside layers. *Folia Parasitologica* 39: 61–66.
- [64] Lýsek H., Bačovský J. 1979. Penetration of ovicidal fungi into altered eggs of *Ascaris lumbricoides*. *Folia Parasitologica* 26: 139–142.
- [65] Lýsek H. 1982. The problem of human geohelminthoses and the prospects for their biological control. *Acta Universitatis Palackianae Olomucensis Facultatis Medicae* 103: 315–328.
- [66] Kuźna-Grygiel W., Kołodziejczyk L., Janowicz K., Mazurkiewicz-Zapałowicz K., Grajewski J. 2001. Effect of ochratoxin A (OTA) on the activity of some enzyme in developing eggs of *Ascaris suum*. *Mycotoxin Research* 17A: 137–141.

Wpłynęło 27 czerwca 2008

Zaakceptowano 5 października 2008