

# CELLULÓZBONTÓ BAKTÉRIUMOK ANYAGCSERE TERMÉKEINEK HATÁSA AZ AZOTOBAKTERRA\*

H. M. GAMAL EL-DIN

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, Budapest

Több olyan munka ismeretes, mely a magyarországi talajokból izolált cellulózbontó mikroszkopikus gombák és sugárgombák vizsgálatával foglalkozik [SZEKI (1968, 1973), SZEKI és GULYÁS (1964)], de jóval kevesebb vizsgálati adattal rendelkezünk a talajokban előforduló cellulózbontó baktériumokkal kapcsolatban [BOKOR (1930), HELMECZI (1962)].

Jelen dolgozatunkban magyarországi csernozjom, barna erdő, homok és szikes talajtípusokból vett mintákból izolált cellulózbontó mezofil baktériumokra vonatkozó vizsgálatainkról számolunk be. A cellulózbontó baktériumok izolálására és tisztítására módszerkönyvekben leírt [IMSENECKIJ; (1954), FJODOROV (1952)] eljárásokat alkalmaztuk.

## Kísérleti rész

Közismert, hogy a cellulózbontó baktériumok kitenyésztése, illetve tisztítása rendkívül bonyolult folyamat. Tájékozódó jellegű kísérleteink alapján a cellulózbontó baktériumok izolálása céljából leghatásosabbnak a szilikagél alkalmazása bizonyult, amelynek felületére Whatman I minőségű szűrőpapírt helyeztünk, s Vinogradszkij által javasolt tápoldattal itattuk át. Ez a módszer lehetőséget nyújt arra, hogy az inkubáció folyamán a cellulózbontó baktériumok növekedésének tényezőit (cellulóz és ásványi tápanyagok minősége a szubsztrátum pH-ja, nedvességtartalma, hőmérséklete, az inkubáció időtartama stb.) optimális mértékben biztosítani tudjuk.

Számos irodalmi munka [TOURILA (1928), KALNINS (1931), IMSENECKIJ és SZOLNCEVA (1940), JENSEN (1940, 1941), SZEKI és GULYÁS (1963) stb.] tanúsítja, hogy a cellulózbontó mikroorganizmusok és a szabadon élő nitrogénkötő szervezetek között meghatározott kölcsönviszony áll fenn. A nitrogénkötő mikroszervezetek alapvető energiaforrását ugyanis természetes körülmények között a cellulóz bomlástermékei biztosítják. A fentiek alapján az képezte feladatunkat, hogy megvizsgáljuk két általunk kitenyésztett cellulózbontó

\* Előadás a Talajbiológiai Tudományos Ülésen. Debrecen 1973. szeptember 5.

baktérium anyagcseretermékeinek hatását az azotobakter növekedésére és nitrogénkötő képességére. A két cellulózbontó baktérium törzs identifikációja most van folyamatban. A tesztorganizmusként felhasznált két azotobakter törzs közül az *Azotobacter chroococcum* 53-as törzs szovjet, az *Azotobacter agilis* pedig csehszlovák gyűjteményből származik.

A cellulózbontó baktériumokat *Vinogradszkij*-féle folyékony tápközegben inkubáltuk. A tápoldat annyiban tért el az irodalomban közölt leírástól [FJODOROV (1952)], hogy a benne oldott sók koncentrációja az eredetihez viszonyítva annak egyötödét tette ki. Az eredeti tápoldat ugyanis a szilikagél felületére helyezett szűrőpapír átnedvesítésére szolgál, ezért a tápsók koncentrációja jóval magasabb.

A korong alakú szűrőpapírt a tölcserben történő szűréshez hasonlóan hajtogattuk össze, s olyképpen helyeztük a 25 ml tápoldatot tartalmazó 100 ml-es Erlenmeyer-lombikba, hogy a csúcsa legyen a lombik szája felé. Ilyenformán a kúp alakú szűrőpapír felületének jelentős része kiemelkedett a tápoldatból, azonban az általa felszívott vízmennyiség biztosította az egyenletes átnedvesítést. Az inokulumot a szűrőpapír kúp felületére vittük rá, s 30 napon át inkubáltuk.

Az inkubáció befejezése után az el nem bontott cellulózt G3-as jénai szűrővel különítettük el a kultúrfolyadéktól, s az utóbbit G5-ös szűrővel sterilizáltuk. Az így nyert steril szűrletet használtuk fel további vizsgálataink céljára.

A kísérletbe vont azotobakter fajokat FJODOROV (1952) által leírt folyékony nitrogénmentes médiumban inkubáltuk olyképpen, hogy 100 ml-es Erlen-

### I. táblázat

*A különböző tenyészidők alatt képződött cellulózbontási anyagcseretermékek hatása az azotobakter növekedésére*

Azotobakter fajok	Optikai sűrűség*	Inkubációs idő napokban	Azotobakter szaporodása optikai sűrűség alapján*									
			Kontroll		„A” törzs produktuma				„B” törzs produktuma			
			-G***	+G****	1%	5%	10%		1%	5%	10%	
						+G	-G			+G	-G	
Az. chroococcum	0,031	7	0,042	0,264	0,401	0,412	0,652	0,005	0,478	0,542	0,480	0,029
		14	0,054	0,516	0,617	0,761	1,050	0,009	1,211	1,660	1,321	0,005
Az. agilis	0,038	7	0,051	0,307	0,312	0,440	0,524	0,029	0,297	0,423	0,472	0,018
		14	0,070	0,434	0,554	0,748	0,898	0,041	0,658	0,972	1,100	0,005

\* = A mérés; Spektromom 201 spektrofotométerrel történt 540 m $\mu$  hullámhosszon

\*\* = Sejtet nem tartalmazó folyadék = 0

\*\*\* = Fjodorov-féle táptalaj glukóz nélkül

\*\*\*\* = Fjodorov-féle táptalaj 2% glukózzal

## II. táblázat

*A cellulózbontó baktériumok anyagcseretermékeinek hatása az azotobakter növekedésére és nitrogénkötő képességére (inkubációs idő 2 hét)*

Megnevezés		Kontroll		A cellulózbontó baktérium (A törzs) anyagcseretermékeinek hatása							
		-G	+G	1%	serkentő hatás %	5%	serkentő hatás %	10%			
								+G	serkentő hatás %	-G	serkentő hatás %
Az. chro-coccum	Optikai sűrűség	0,054	0,516	0,617	19,2	0,761	46,1	1,050	101,9	0,009	-83,3
	Megkötött N mg/100 ml	0,000	1,58	1,91	20,9	2,33	47,5	2,95	86,7	0,20	+20,0
Az. agilis	Optikai sűrűség	0,070	0,434	0,554	27,6	0,748	74,4	0,898	109,3	0,041	-42,8
	Megkötött N mg/100 ml	0,000	0,96	1,36	41,6	2,33	142,7	3,29	242,7	0,27	+27,0

Jelmagyarázat az I. táblázat alatt

meyer-lombikokba 20 ml tápoldatot adagoltunk. A kísérlet különböző kezeléseseinél a tápoldathoz a cellulózbontó baktériumok szűrletét vittük be 1, 5 és 10% mennyiségben. Annak elbírálása céljából, hogy a cellulózbontás produktumait az azotobakter szénforrásként hasznosítja-e, vagy azok csupán stimulatív hatást fejtenek ki, a kísérletek egy részét glukóz nélkül, másik részét pedig glukóz hozzáadásával állítottuk be. Az inkubációt 28 C°-on folytattuk, 2 héten át. Az inkubáció befejezése után nefelometrikus úton meghatároztuk a tápoldat zavarosságának a fokát, valamint annak nitrogéntartalmát. A szűrlettel bevitt nitrogént levontuk — kapott értékekből. A kísérlet eredményei az I., II. és III. táblázatokban kerülnek bemutatásra.

## Az eredmények megvitatása

A kísérlet adatai azt bizonyítják, hogy a tanulmányozott cellulózbontó baktériumok anyagcseretermékei lényeges mértékben befolyásolják mindkét azotobakter faj szaporodását, és nitrogénkötő képességét. Ilyen vonatkozásban sem a két cellulózbontó baktérium, sem pedig a két azotobakter faj között nincs jelentős eltérés. A „B” törzs produktumai jobban serkentik az Azotobacter chroococcum szaporodását mint az „A” törzs anyagcseretermékei.

A glukózt nem tartalmazó variánsok esetében számottevő növekedést nem figyeltünk meg, és a cellulózbontó baktériumok anyagcseretermékeinek stimulatív hatása a glukózt tartalmazó variánsoknál volt megállapítható.

## III. táblázat

A cellulózbontó baktériumok anyagcseretermékeinek hatása az azotobakter növekedésére és N-kötő képességére (inkubációs idő 2 hét)

Megnevezés		Kontroll		A cellulózbontó baktérium anyagcseretermékeinek hatása (B törzs)							
		-G	+G	1%	serkentő hatás %	5%	serkentő hatás %	10%			
								+G	serkentő hatás %	-G	serkentő hatás %
Az. chro-ococcum	Optikai sűrűség	0,054	0,516	1,211	132,7	1,660	219,2	1,321	153,8	0,005	-90,7
	Megkötött N mg/100 ml	0,000	0,48	2,71	71,5	2,44	54,4	2,40	51,9	0,000	0,0
Az. agilis	Optikai sűrűség	0,070	0,434	0,658	39,5	0,972	125,5	1,100	155,8	0,005	-92,8
	Megkötött N mg/100 ml	0,000	0,96	1,61	67,7	2,93	205,2	3,23	236,4	0,000	0,0

Jelmagyarázat az I. táblázat alatt

A fentiek alapján feltételezzük, hogy a táptalajba vitt anyagcseretermékek mint biológiailag aktív anyagok serkentik az azotobakter életműködését, azonban szén, illetve energiaforrásként az azotobakter számára nem hasznosíthatók közvetlenül. Természetes körülmények között minden bizonnyal más talajmikroorganizmusok kapcsolódnak be a cellulózbontás produktumainak értékesítésébe, s az azotobakter ennek a bonyolult szukcesszióknak olyan láncszemét képezi, ahol a képződött produktumok számára már felvehetővé válnak. Viszont a bomlástermékek, illetve a cellulózbontó baktériumok produktumai közvetlenül is befolyásolni képesek az azotobaktert, mivel biológiailag aktív vegyületeket tartalmaznak. A fentiekkel ellentétben SZEGI és GULYÁS (1963), akik a cellulózbontó mikroszkopikus gombák és aktinomyceták anyagcseretermékeinek értékesíthetőségét tanulmányozták az azotobakter szempontjából, több organizmust leírtak, amelyek Warburg manometrikus módszerével vizsgálva képesek voltak az azotobakter számára közvetlenül is felvehető anyagcseretermékeket szintetizálni. Feltételezhető tehát, hogy a különböző cellulózbontó mikroszervezetek anyagcseretermékei lényeges mértékben eltérnek egymástól, s ez meghatározza azok további transzformációját is. Egyes esetekben az azotobakter ezeket közvetlenül képes hasznosítani, más esetekben viszont csupán a produktumok biotikus, illetve antibiotikus anyagai gyakorolnak hatást az azotobakter szaporodására. [SZEGI és TIMÁR (1965).]

A különböző serkentő és gátló anyagok mikroszervezetek által történő szintézise, éppen úgy mint az előbbieket metabolizmusának bármely láncszeme, elsősorban a környezeti faktorok függvénye. A környezeti tényezők talaj-

viszonyok között lényegesen különböznek azoktól az ökológiai faktoroktól, amelyeket laboratóriumi körülmények között biztosítunk a különböző mikro-szervezetek növekedése számára. Másrészt a talajban a mikroszervezetek nem egymástól elszigetelten fejtik ki tevékenységüket, hanem bonyolult kölcsönhatásokat hoznak létre. Ezért kísérleti eredményeink amelyeket tiszta kultúrákkal laboratóriumi viszonyok között kaptunk, relatívak, s ezekből következtetéseket talajviszonyokra csak megfelelő fenntartásokkal tudunk levonni.

### Összefoglalás

Magyarországi talajokból cellulózbontó baktériumokat tenyésztettünk ki, amelyeknek identifikációja most van folyamatban.

Megállapítottuk, hogy két kísérletbe vont cellulózbontó baktérium anyagcseretermékei serkentik az azotobakter szaporodását, és fokozzák az általa megkötött nitrogén mennyiségét.

Mivel a serkentő hatás kizárólag glukóz jelenlétében érvényesül, feltelezhető, hogy az adott esetben a cellulózbontó baktériumok által képzett biológiailag aktív vegyületek stimulatív hatásáról van szó.

A vizsgált cellulózbontó baktériumok anyagcseretermékeit az azotobakter szén, illetve energiaforrásként közvetlenül nem tudja hasznosítani.

### IRODALOM

- BOKOR, R. (1930): *Myxococcus cytophagus* n. sp. 1929 (*Spirochaeta cytophaga* Hutchinson und Clayton 1919) Untersuchungen über aerobe bakterielle Cellulosezersetzung mit besonderer Berücksichtigung des Waldbodens. Arch. Mikrobiol. **1**, 1–34.
- FJODOROV, M. V. (1952): Mikrobiológiai gyakorlatok. Budapest, Mezőgazdasági Kiadó.
- HELMECZI B. (1962): Cellulózbontó baktériumok hatása az *Azotobacter chroococcum* N-kötésére, laboratóriumi viszonyok között. Debreceni Agrártudományi Főiskola Tudományos Közleményei, 1962. VIII, 421–431.
- IMSENECKIJ, A. A. (1954): Mikrobiológia cellulozü. AN SSSR, Moszkva.
- IMSENECKIJ, A. A., SZOLNCEVA, L. N. (1940): Szimbioz cellulóznüh i azotofixirujuscih bakterij. IX. K. 789–803.
- JENSEN, H. (1940): Nitrogen fixation and cellulose-decomposition by microorganisms. I. Aerobic cellulose-decomposers in association with azotobacter. Proc. Linn. Soc. New South Wales **65**, 543.
- JENSEN, H. (1941): Nitrogen fixation and cellulose decomposition by soil microorganisms. II. *Clostridium butyricum* in association with aerobic cellulose decomposers. Proc. Linn. Soc. New South Wales **66**, 239.
- KALNINS, A. (1931): A detailed study of the sporeforming aerobic cellulose-decomposing bacteria has been by P. E. Sinola. Ann. Acad. Sci. Fenn. A **34**.
- SZEGI, J. (1968): Die Rolle einiger ökologischer Faktoren bei dem mikrobiologischen Abbau der Cellulose. Tagungsberichte D.A.L. Berlin.
- SZEGI, J. (1973): Razlozsenia kletcsatki i plodorodie pocsvü. Doktori értekezés. Moszkva.
- SZEGI J., GULYÁS F. (1963): Egyes cellulózbontó mikroorganizmusok anyagcseretermékeinek hatása az azotobakter légzésére, valamint a steril lucernamagvak csírázására. Agro-kémia és Talajtan, **12**, 99.

- SZEGI, J., GULYÁS, F. (1964): Die Wirkung des Stickstoffes und Phosphors auf die Zersetzung von Stroh sowie auf die Anhäufung einzelner B Vitamine im Boden. Ztbl. Bakt. (II) **118**, 491.
- SZEGI, J., TIMÁR É. (1965): The effect of the metabolic products of cellulose decomposing organisms upon the growth of some other microorganisms. Acta Agron. Hun. **13**, 333.
- TOURILA, P. (1928): Zellulose als Energiequelle für freilebende stickstoffbindende Mikroorganismen. Ztbl. Bakt. (II) **75**, 178.
- WINOGRADSKY, S. N. (1929): Etuds sur la microbiologie du sol. IV. Sur la degradation de la cellulose dans le sol. Ann. Inst. Past. **43**, 549.