

## Adatok néhány cellulózbontó mikrogomba nitrogén táplálkozásához

### II. Összefüggés a tápközeg pH-ja és a N-forrás minősége között

SZEGI JÓZSEF

*MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, Budapest*

A cellulózbontó mikroszkópikus gombák talajbeli elterjedését — mint a talajmikroorganizmusok elterjedését általában — alapvető mértékben befolyásolják a környezet különböző faktorai. A mikroszervezetekre ható környezeti tényezők közül nagy jelentősége van a táptalaj kémhatásának valamint a nitrogénforrásként szolgáló vegyület kémiai összetételének. SINDEN és munkatársai [7] szerint az *Aspergillus flavipes*, *Penicillium luteum* és a *Myrothecium verrucaria* pH 6 és pH 7 közötti kémhatás mellett bontották el a legtöbb cellulózt. TAHA [9] a *Penicillium oxalicum* és a *Helminthosporium sativum* esetében ugyancsak a pH 6-os kémhatást jelölték meg optimálisnak, a cellulózbontás szempontjából. Más kutatók arra mutatnak rá, hogy egyes mikrogombák rendkívül kedvezőtlen pH viszonyok mellett is értékesítik a cellulózt. Így JENSEN [3] megállapította, hogy a *Fusarium oxisporum* és a *Trichoderma kőnigii* még 1,8–2,0 pH-jú táptalajban is elbontja a szűrőpapírt, az előbb említett Sinden és munkatársai szerint a *Gliomastix convulata* pH 11-es rendkívül lúgos kémhatású szubsztrátumban is megtámadja a cellulózt.

A másik fontos ökológiai faktor, mint említettük, a szubsztrátum nitrogénforrása, mind kvalitatív, mind pedig kvantitatív értelemben. Saját vizsgálatainak szerint (SZEGI [8]) a neutrális kémhatású tápközegben tenyésztett 20 különböző mikroszkópikus gomba közül 19 az ammóniumnitrogént előnyben részesítette a nitrátnitrogénnel szemben.

A nitrogéntáplálék minőségét, mint a mikroszervezetek életében szerepet vivő ökológiai tényezőt, nem szabad a többi környezeti faktoroktól elszigetelten szemlélni. Már századunk negyvenes éveiben több kutató (BÜNNING [1], ITZEROTT [2], RIPPEL [5]) arra hívta fel a figyelmet, hogy a szubsztrátum kémhatása alapvető módon befolyásolja az egyes mikrogombák nitrogén anyagcseréjét. KAUFMAN és WILLIAMS [4], valamint SZEGI [8] szerint a C : N arány ugyancsak befolyást gyakorol a cellulózbontó mikrogombák életműködésére.

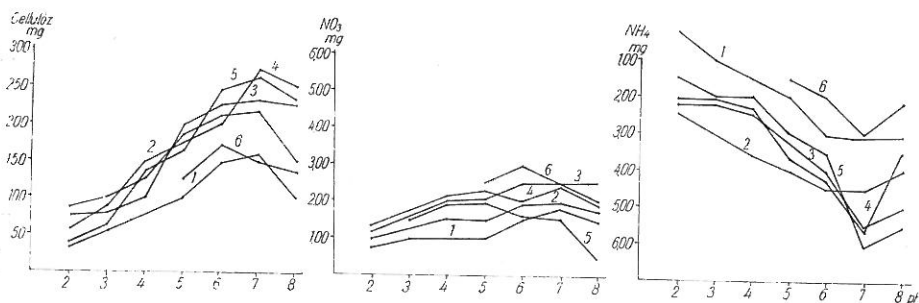
#### Kísérleti rész

Munkánk során annak tisztázása képezte célkitűzéseinket, hogy a tápközeg kémhatása mennyiben képes befolyásolni a cellulózbontó mikroszkópikus gombák nitrogénfelvételét. Kísérleti objektumként a korábbi vizsgálata-

ink során (SZEGI [8]) tanulmányozott 20 gombatorzset alkalmaztuk, amelyek a *Penicillium Fusarium*, *Aspergillus*, *Hormodendrum*, *Stachybotrys*, *Humucola*, *Trichoderma* és *Verticillium* génuszokhoz tartoznak. A kísérletbe vont mikro-gombákat olyan ásványi összetételű tápoldatban inkubáltuk, amelyben nitrogénforrásként 0,1%  $NH_4NO_3$  szolgált, míg a szénforrást a tenyészlombikokba előzőleg analitikai mérlegen bemért cellulózpor biztosította. A kísérlet különböző variánsait eltérő pH-jú táptalajban inkubált tenyészetek képezték amelyeket pH 2-es, pH 3-as, pH 4-es, pH 5-ös, pH 6-os, pH 7-es, pH 8-as és pH 9-es kémhatású tenyész körülmények között folytattunk le. Tenyészlombikként 100 ml-es Erlenmeyereket alkalmaztunk, amelyekbe 50–50 ml tápoldatot mértünk be. A pH 2-es, pH 3-as és pH 4-es kezelések kémhatását szervesetlen puffer hiányában  $nHCl$  segítségével állítottuk be, a pH 5–8-as variánsoknál pedig Sørensen féle foszfátpuffert alkalmaztunk a pH rögzítésére. A pH 9-es kezelésként a kémhatás stabilizálására Na-borát puffert alkalmaztunk. Az ásványi tápoldat további komponensei 0,1%  $MgSO_4$ , 0,1%  $KCl$  valamint 0,2%  $KH_2PO_4$  voltak. A Sørensen foszfátpufferral kipufferolt kezeléseknél az utóbbit elhagytuk, mivel itt a pufferoldat foszfortartalma a gombák foszfor-szükségletét is biztosította.

A kísérletet 12 héten át folytattuk, amelynek során az inkubáció negyedik, nyolcadik és tizenkettedik hetében meghatároztuk a tenyészetekben visszamaradt ammónium és nitrát mennyiségét. Az ammónium meghatározása Parnass Wagner desztillációs módszerével történt, míg a nitrát kimutatását fotokolorimetrikus úton végeztük el. A tápoldatban visszamaradt ammóniumból és nitrátból számítottuk ki azt a mennyiséget, amelyet a mikroorganizmusok felhasználtak.

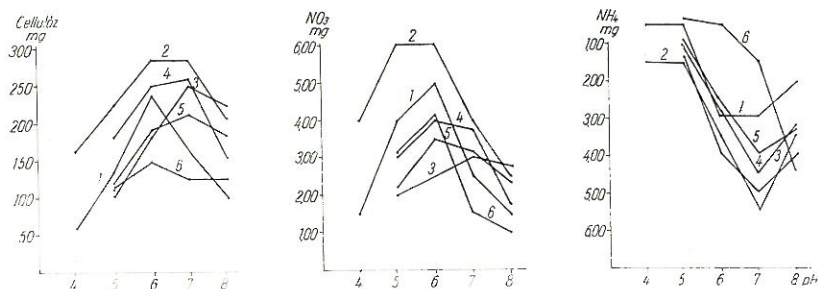
Az elbontott cellulóz mennyiségét a tápközegben visszamaradt cellulóz súlyából számítottuk ki, amelyet mérés előtt 10%-os sósavoldattal, forró desztillált vízzel, 0,1%-os forró szódaoldattal majd ismételt desztillált vízzel mostuk a táptalaj ásványi sói, elsősorban a nitrogénvegyületek, valamint a gombák nyálkaanyagainak eltávolítása céljából. A lemerített cellulózmaradékot Kjeldahl módszerével elroncsoltuk s a nitrogéntartalmát fehérjére számítottuk át, amelyet a micéliumsúllyal vettünk azonosnak. Az így kapott értéket levontuk a cellulózmaradék súlyából.



1. ábra

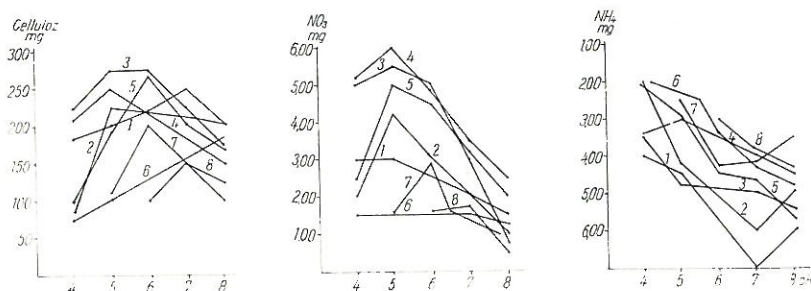
A tápközeg pH-jának hatása néhány *Penicillium* faj cellulóz és nitrogén értékesítésére. 1. *Penicillium* sp. 2. *Penicillium nalgiovensis*. 3. *Penicillium* sp. *P. funiculosum* series. 4. *Penicillium verruculosum*. 5. *Penicillium* sp. *P. purpurogenum* series. 6. *Penicillium piscarium*. Függőleges tengely: az elbontott cellulóz és a felhasznált nitrogén súlya mg. Vízszintes tengely: a táptalaj pH-ja.

A cellulózt értékesítés valamint a nitrát- és ammóniumfelvétel adatait grafikusán ábrázoltuk s az 1. 2. és 3. ábrákban mutatjuk be. Az 1. ábrára a 6 különböző *Penicillium* törzs, a 2. ábrára 6 *Fusarium* faj, a 3. ábrára pedig a 8 fenti génuszokhoz nem tartozó gombatörzs adatait vittük fel. Az utóbbiak az *Aspergillus*, *Hormodendrum*, *Stachybotrys*, *Nigrospora*, *Humicola*, *Verticillium* és *Trichoderma* génuszokhoz tartoznak. Mind a nitrát, mind pedig az ammónium felvétel értékei N/mg-ra vannak átszámítva a bemutatott ábrákon.



2. ábra

A tápközeg pH-jának hatása néhány *Fusarium* faj cellulóz és nitrogén értékesítésére. 1. *Fusarium nivale*. 2. *Fusarium avenaceum* var. *herbarum*. 3. *Fusarium solani* var. *argillaceum*. 4. *Fusarium* sp. 5. *Fusarium aquaeductum* var. *dimerum*. 6. *Fusarium* sp.



3. ábra

A tápközeg pH-jának hatása néhány mikrogomba cellulóz és nitrogén értékesítésére. 1. *Aspergillus ustus*. 2. *Trichoderma* sp. 3. *Hormodendrum* sp. 4. *Humicola* sp. 5. *Mycelia sterila*. 6. *Nigrospora* sp. 7. *Verticillium candellabrum*. 8. *Stachybotrys atra*.

### Eredmények megvitatása

A grafikonok adataiból kielemezhető, hogy a tanulmányozott mikroszkopikus gombák eltérő érzékenységet tanúsítanak a szubsztrátum kémhatásával szemben. Legellenállóbbnak a *Penicillium* fajok mutatkoznak, amelyek már pH 2 kémhatású táptalajban bontják a cellulózt, jóllehet növekedésük szempontjából optimális kémhatás pH 7 körül van. A többi vizsgált mikrogomba pH 4-es, vagy még ennél is kevésbé savanyú körülmények között kezd növekedni. A cellulózbontás szempontjából a vizsgált organizmusoknál általában a pH 6-os és pH 7-es kémhatás mutatkozik optimálisnak.

A mikroszkopikus gombák nitrogéntáplálkozásával kapcsolatban, főleg

ipari vonatkozásban, számos közlemény jelent meg. Így megfigyelték hogy egyes gombafajok  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  nitrogénforrást tartalmazó tápoldatból elsők az ammónium ionokat veszik fel, s csak ezek teljes eltűnése után kerül sor a nitrát ionok felvételére. Ugyanakkor leírtak olyan mikrogombákat is amelyek a nitrátot előnyben részesítik az ammóniummal szemben. Ebből kiindulva, korábban, egyes kutatók (SAKAMURA [6]) a mikroszkopikus gombákat ammóniofil és nitrátofil csoportokra osztották fel. Napjainkban már semmi kétség nem fér ahhoz, hogy az ilyen felosztás rendkívül relatív, mivel a nitrogénforrás értékesítését nagy mértékben befolyásolják a környezeti tényezők, így a tápközeg hidrogén ionjainak koncentrációja is.

A grafikonok adataiból kielemezhető, hogy az általunk lefolytatott kísérlet során, tehát a két nitrogénforrás egyidejű alkalmazása mellett, az egyes nitrogénforrások érvényesülése nagy mértékben függ a kémhatástól. Általános törvényszerűségként levonható az, hogy a hidrogén ion koncentráció növekedésével, azaz a táptalaj pH-jának csökkenésével párhuzamosan növekszik a nitrátfelvétel és csökken az ammónium értékesítése. Ez alól kivételt képeznek a vizsgált *Penicillium* fajok, amelyeknél a nitrátfelvétel a pH-tól függetlenül változatlanul alacsony nívón marad.

A szubsztrátum kémhatása és a mikroszervezetek nitrogénfelvétele közötti kölcsönviszony magyarázata céljából több hipotézist állítottak fel. Az egyik ilyen feltételezés abból indul ki, hogy a szubsztrátum H ion koncentrációja azáltal, hogy befolyásolja a sejtmembrán kolloidjainak elektromos töltését, végeredményben azt is meghatározza, hogy az milyen kémhatás mellett bocsájtja át magán a kationokat és mely kémhatás mellett az anionokat. Más szerzők abból kiindulva, hogy a szubsztrátum kémhatása nem csupán a sejtmembrán elektromos töltését befolyásolhatja, hanem a hidrogén illetve a hidroxid ionok azon áthaladva megváltoztathatják a citoplazma kolloidjainak elektromos töltését is, s ez váltja ki a szelektáló hatást. Ugyanis magas hidrogén ion koncentráció jelenlétében a plazma kolloidok pozitív töltést vesznek fel, ezért a nitrátot kötik meg, míg neutrális pH-hoz közeledve azok egyre inkább negatív töltést vesznek fel, s kationokat kötik meg.

Jóllehet az adszorpciós elmélet igen érdekes és sok esetben logikus magyarázatát adja a különböző nitrogén vegyületek érvényesülésének a szubsztrátum hidrogén ion koncentrációjának függvényében, azonban a rendelkezésünkre álló adatok távolról sem elégségesek az elmélet általános érvényűvé tételéhez. Ugyanis számos ellentétes kísérleti adattal is találkozunk. Nem szabad számításon kívül hagyni a különböző organizmusok eltérő belső sajátosságait, azaz eltérő kémiai felépítését, amelynek következtében nem csupán a protoplazma izoelektrikus pontjai térhetnek el egymástól, de olyan s ez esetben rendkívül fontos tulajdonságok is különbözőek lehetnek mint a nitrát redukáló képesség.

Az 1. ábrából látható, hogy a vizsgált *Penicillium* törzsek esetében az ammónium felvétel a pH emelkedésével párhuzamosan növekszik és a pH 7-es kezeléskor éri el a maximumot. A nitrátfelvétel az összes kísérleti variánsoknál nagyjából azonos értékeket adott.

A 2. ábra adatai azt mutatják, hogy a kísérletbe vont *Fusarium* törzsek savanyú szubsztrátumban lényegesen több nitrátnitrogént értékesítenek mint a *Penicillium* törzsek. A nitrátfelvétel a törzsek túlnyomó többségénél a pH 6-os kezeléskor érte el a maximumát, s utána hirtelen csökkent. Az ammónium felvétel viszont a pH 7-es kezeléskor tetőzött.

A 3. ábrából a tanulmányozott *Aspergillus*, *Hormodendrum*, *Stachybotrys*, *Humicola*, *Trichoderma* és *Verticillium* génuszokhoz tartozó törzsek nitrát és ammónium értékesítési görbéi elemezhetőek ki. A vizsgált törzsek túlnyomó többsége pH 5-ös kémhatású tápoldatból veszi fel a legtöbb nitrátot, míg az ammónium felvétel maximuma a pH 7-es kezeléseknél van.

A cellulóz értékesítési, valamint a nitrogénfelvételi görbék összehasonlítása során megállapítható, hogy a kísérletbe vont törzsek táplálkozása során a szén és a nitrogén egymáshoz viszonyított aránya 25 : 1 körül van, s ettől az aránytól egyes törzsek kisebb mértékben eltérnek.

pH 9-es kémhatású tápoldatban a tanulmányozott törzsek túlnyomó többsége már nem növekedett cellulózon. Néhány esetben gyenge növekedést megfigyeltünk ugyan, mivel azonban sem az elbontott cellulóz meghatározása során, sem pedig a nitrogénfelvétel vizsgálata során nem kaptunk értékelhető adatokat, a bemutatott ábrákban ez nem szerepel.

### Összefoglalás

A tanulmányozott 20 különböző fajokhoz tartozó mikroszkópikus gomba pH 6-os és pH 7-es tápközegben bontotta el a legtöbb cellulózt. pH 9-es kémhatású táptalajban már lényeges cellulóz értékesítést nem figyeltünk meg.

A nitrogénforrásként szolgáló  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  felvételének tanulmányozása során megállapítást nyert, hogy a vizsgált mikroszkópikus gombák alacsony pH mellett inkább a nitrátnitrogént, a neutrális kémhatáshoz közeledve pedig elsősorban az ammónium ionokat használták fel a tápoldatból.

A felhasznált cellulóz és a nitrogénvegyületek egymáshoz viszonyított aránya általában 25 : 1 körül mozgott, bár az egyes törzsek esetében bizonyos eltéréseket figyeltünk meg.

### Irodalom

- [1] BÜNNING, E.: Über die Farbstoff- und Nitrataufnahme bei *Aspergillus niger*. *Flora*. **131**. 106. 1936.
- [2] ITZEROTT, D.: *Flora*. **131**. 60. 1936, cit. FOSTER, J. W. *Chemical activities of fungi*. Acad. Press, New York. 1949.
- [3] JENSEN, H.: The fungus flora of the soil. *Soil Sci.* **31**. 123. 1931.
- [4] KAUFMAN, D. D. & WILLIAMS, L. E.: Effect of the soil carbon: N ratio on soil fungi. *Phytopathol.* **53**. 956. 1963.
- [5] RIPPEL, K.: Quantitative Untersuchungen über die Abhängigkeit der Stickstoffassimilation von der Wasserstoffkonzentration bei einigen Pilzen. *Arch. Mikrobiol.* **2**. 72. 1931.
- [6] SAKAMURA, T.: *Planta* **11**. 765. 1930. cit. FOSTER, J. W. *Chemical activities of fungi*. Acad. Press, New York. 1936.
- [7] SINDEN, J. W., MIX, A. J. & SIEU, R. G. H.: *Microbiological series report N° 8*. U. S. Army Quartermaster General Laboratories. februar 12, 1948.
- [8] SZEGL, J.: Adatok néhány cellulózbontó mikroomba N táplálkozásához, II. N forrás minősége és a C : N arány. *Agrokémia és Talajtan*. **17**. 225. 1968.
- [9] TAHA, E. E. M.: The growth activity of cellulose decomposing fungi as influenced by cultural conditions. *Z. allg. Mikrobiol.* **3**. 275. 1963.

Érkezett: 1968. szeptember 18.



## Data on the Nitrogen Nutrition of some Decomposing Microscopic Fungi

### II. Correlation between the pH of the Nutrient Medium and the Quality of the N-source

J. SZEGI

Research Institute of Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest

#### Summary

The most cellulose was decomposed in pH 6 and pH 7 media by the microscopic fungi belonging to the 20 different investigated species. However in pH 9 medium, no significant cellulose utilization could be observed.

In the course of studying  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (serving as the N-source) assimilation it was established that the examined microscopic fungi utilized nitrate nitrogen at low pH values but when the pH of the liquid medium approached neutral, primarily the ammonium ions were preferred by them.

The ratio of the utilized cellulose and nitrogen compounds was around 25 : 1 in general, although there were some deviations from this in the case of some strains.

*Figure 1.* The effect of the pH of the medium on cellulose and nitrogen utilization of some *Penicillium* species. 1. *Penicillium* sp. 2. *Penicillium nalgiovensis*. 3. *Penicillium* sp. *P. funiculosum* series. 4. *Penicillium verruculosum*. 5. *Penicillium* sp. *P. purpurogenum* series. 6. *Penicillium piscarium*. Ordinate: weight mg of the decomposed cellulose and the assimilated nitrogen. Abscissa: pH of medium

*Figure 2.* The effect of the pH of the medium on the cellulose and nitrogen utilization of some *Fusarium* species. 1. *Fusarium nivale*. 2. *Fusarium avenaceum* var. *herbarum*. 3. *Fusarium solani* var. *argillaceum*. 4. *Fusarium* sp. 5. *Fusarium aquaeductuum* var. *dimerum*. 6. *Fusarium* sp.

*Figure 3.* The effect of the pH of the medium on cellulose and nitrogen utilization of some microscopic fungi. 1. *Aspergillus ustus*. 2. *Trichoderma* sp. 3. *Hormodendrum* sp. 4. *Humicola* sp. 5. *Mycelia sterila*. 6. *Nigrospora* sp. 7. *Verticillium candellabrum*. 8. *Stachybotrys atra*.

### Données concernant la nutrition azotée de quelques champignons microscopiques décomposant la cellulose

#### II. Relation entre le pH du milieu nutritif et la qualité de la source d'azote

J. SZEGI

Institut de Recherches Pédologiques et de Chimie Agricole de l'Académie des Sciences de Hongrie, Budapest

#### Résumé

Les champignons microscopiques étudiés, appartenant à 20 espèces différents, ont décomposé davantage la cellulose dans des milieux nutritifs à pH 6 et pH 7. Dans un milieu à pH 9 l'auteur n'a pas observé une décomposition notable de la cellulose.

Au cours de l'étude de l'utilisation du  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , servant de source d'azote, l'auteur a établi que les champignons microscopiques examinés ont assimilé de préférence à un pH bas l'azote nitrique, au voisinage de la réaction neutre c'est surtout l'azote ammoniacal qu'ils ont utilisé.

Le rapport de la cellulose et des composés azotés utilisés a été 25 : 1 approximativement, quoique l'on ait pu observer certaines déviations dans le cas de certaines souches.

*Fig. 1.* L'effet du pH du milieu nutritif sur l'utilisation de la cellulose par quelques espèces de *Penicillium*. 1. *Penicillium* sp. 2. *Penicillium nalgiovensis*. 3. *Penicillium* sp. de la série *P. funiculosum*. 4. *Penicillium verruculosum*. 5. *Penicillium* sp. de la série *P. purpurogenum*. 6. *Penicillium piscarium*. Axe vertical: poids de la cellulose et de l'azote utilisés, axe horizontal: pH du milieu nutritif.

*Fig. 2.* L'effet du pH du milieu nutritif sur l'utilisation de la cellulose et de l'azote par quelques espèces de *Fusarium*. 1. *Fusarium nivale*. 2. *Fusarium avenaceum* var.

herbarum. 3. *Fusarium solani* var. *argillaceum*. 4. *Fusarium* sp. 5. *Fusarium aquaeductuum* var. *dimerum*. 6. *Fusarium* sp.

*Fig. 3.* L'effet du pH du milieu nutritif sur l'utilisation de la cellulose et de l'azote par quelques champignons microscopiques. 1. *Aspergillus ustus*. 2. *Trichoderma* sp. 3. *Hormodendrum* sp. 4. *Humicola* sp. 5. *Mycelia sterila*. 6. *Nigrospora* sp. 7. *Verticillium candellabrum*. 8. *Stachybotrys atra*.

### Данные к азотному питанию некоторых целлюлозоразрушающих микроскопических грибов

## II. Зависимость между pH питательной среды и качеством источника азотного питания

И. СЕГИ

Научно-исследовательский институт почвоведения и агрохимии А. Н. Венгрии, Будапешт

### Резюме

Нами установлено, что микроскопические грибы, принадлежащие к 20 видам, разложили больше целлюлозы при pH питательной среды 6—7. При pH—9 питательной среды значительного изменения в использовании целлюлозы не наблюдалось.

При изучении  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  как источника азота, установили, что изученные микроскопические грибы при низком значении pH лучше усваивают нитратный азот, а при реакции среды близкой к нейтральной из питательной среды в первую очередь усваивают аммонийные ионы.

Относительное соотношение между усвоенной целлюлозой и азотными соединениями приблизительно равнялось 25 : 1, хотя для отдельных штаммов наблюдались некоторые расхождения.

*Рис. 1.* Влияние pH питательной среды на использование целлюлозы и азота некоторыми видами *Penicillium*. 1. *Penicillium* sp. 2. *Penicillium nalgiovensis*. 3. *Penicillium* sp. *P. funiculosum* series 4. *Penicillium verruculosum*. 5. *Penicillium* sp. *P. purpurogenum* series. 6. *Penicillium pisearium*. Вертикальная ось: вес разложенной целлюлозы и усвоенный азот в мг. Горизонтальная ось: pH питательного раствора.

*Рис. 2.* Влияние pH питательной среды на использование целлюлозы и азота некоторыми видами *Fusarium*. 1. *Fusarium nivale*. 2. *Fusarium avenaceum* var. *herbarum*. 3. *Fusarium solani* var. *argillaceum*. 4. *Fusarium* sp. 5. *Fusarium aquaeductuum* var. *dimerum*. 6. *Fusarium* sp.

*Рис. 3.* Влияние pH питательной среды на использование целлюлозы и азота некоторыми микроскопическими грибами. 1. *Aspergillus ustus*. 2. *Trichoderma* sp. 3. *Hormodendrum* sp. 4. *Humicola* sp. 5. *Mycelia sterila*. 6. *Nigrospora* sp. 7. *Verticillium candellabrum*. 8. *Stachybotrys atra*.