

## Adatok a mikroszervezetek pigmentképzésének tanulmányozásához

GULYÁS FERENC és SZEGI JÓZSEF

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, Budapest

A talajmikroorganizmusok között jelentős számban található olyan szervezetek, amelyek sötétbarna pigment anyagot képeznek és választanak ki környezetükbe. Melanin képzést figyeltek meg azotobacterek, sugárgombák és gombák tenyészeiben. A szakirodalomban különösen a sugárgombák és gombák melaninképzésére vonatkozóan található részletes adatok, közlemények.

DOUGLAS és SAN CLEMENTE [3], SCHANEL [13], MENCHER és HEIM [11], KÜSTER [8, 9], ZENOVA [18, 19] közleményeikben hangsúlyozták a fenoloxidáz fermentek lényeges szerepét a pigmentképzés folyamatában és rámutattak arra, hogy a közegbe bevitt aromás vegyületeken kívül a mikroszervezetek által szintetizált aromás és kinon szerkezetű anyagok is lehetnek melanin források. A pigment anyagok nem tekinthetők csupán végtermékeknek, a közegben ezek további ferment hatásoknak, kémiai változásoknak vannak kitéve, amelyek eredményeképpen bonyolultabb, összetettebb huminszerű anyagokká alakulhatnak. Már LAATSCH és munkatársai [10], SCHEFFER [14] és PLOTTHO [12] is rámutattak arra, hogy a mikroszervezetek által szintetizált pigmentanyagok változásokon mennek keresztül és egyre inkább hasonlónak válnak a huminsavak kivonataihoz.

KONONOVA és ALEKSZANDROVA [6] megfigyelései szerint a glükóz szénforrást tartalmazó, folyékony, szintetikus közegben tenyésztett *Aspergillus niger*, valamint egy *Penicillium* törzs sötét színű, huminszerű anyagot képezett. KÜSTER [9] a szintetikus közegen tenyésztett sugárgombák kultúrfolyadékából melanint, és huminszerű anyagokat különített el. KANG és FELBECK [5] az *Aspergillus niger* spóráiból és micéliumából vontak ki huminszerű termékeket, amelyek megállapításuk szerint elemi összetétel, metoxitartalom, 72%-os kénsavba való oldhatóságuk tekintetében megegyeztek, vagy közel álltak a talajból kivont huminsavakhoz.

### Kísérleti rész

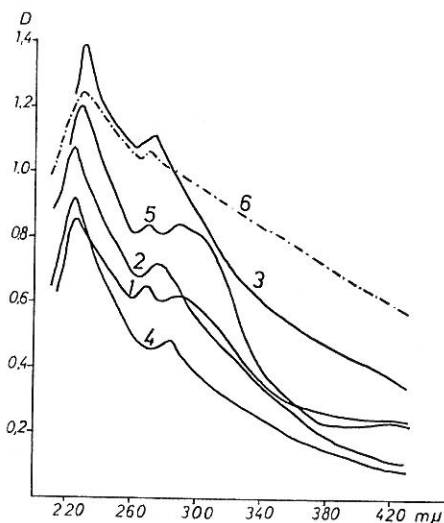
Munkánk során tanulmányoztuk a mikroszervezetek pigmentképzését befolyásoló tényezők közül a különböző szén- és nitrogénforrások jelentőségét. A pigmentképzés intenzitását a gombák és sugárgombák szűrt tenyészfolyadékának optikai sűrűsége alapján jellemeztük.

Részletes U. V. spektrum vizsgálatokat végeztünk az *Aspergillus niger* és a 4-36 jelzésű *Streptomyces* (series Chartreusis) törzs kultúrfolyadékából elkülönített melanin- és huminszerű anyagokkal, összefüggésbe hozva spektrum-

görbék adatait a szintetikus *Dopa*-melanin és a talajból kivont huminsavak ultraibolya fény abszorpciós sajátágaival. A pigment- és humuszanyagok tulajdonságainak jellemzésére széles körben alkalmazzák a különböző optikai vizsgálati módszereket. A humusz- és melanin anyagok optikai viselkedése, nevezetesen ultraibolya és infravörös fény abszorpciójuk szoros kapcsolatban van minőségükkel, szerkezeti felépítésükkel, fiziko-kémiai sajátosságaikkal. A fentiekből kiindulva összehasonlító vizsgálataink céljára, az optikai elemző módszert választottuk.

A mikroszervezeteket módosított összetételű, folyékony Czapek-féle tápközegben, 28 °C-os termosztátban inkubáltuk. A közeg szacharóz helyett 2% glicerin, illetve glükóz szénforrást és a kísérlet variánsainak megfelelően különböző nitrogénforrásokat tartalmazott: 1.  $\text{NaNO}_3$ , 2. glicin, 3. glicin + tirozin, 4. Élesztőkivonat, 5. Pepton. A nitrogénforrásokat 16 : 1 = C : N aránynak megfelelő mennyiségben vittük be a tápközegbe. A kiegészítő nitrogén forrásként alkalmazott tirozin mennyisége 0,2 g/liter volt. Minden egyes kezelésnél 1000 ml tápoldatra számítva az alábbi mikroelem kiegészítést eszközöltük:  $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 0,001$  g,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 0,001$  g,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} = 0,001$  g,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 0,001$  g.  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 0,02$  g A kolorimetriás vizsgálatok céljára a fenti összetételű tápoldatból 100 ml-es Erlenmeyerekbe 20–20 ml tápoldatot adagoltunk. A steril tápoldatokat azonos spóraszuszpenzió mennyiséggel oltottuk be. Egy hónapig tartó inkubáció után a micéliumot elkülönítettük a tápoldattól és a pigmentképzés intenzitását elektrokolorimetrikus úton 540  $m\mu$ -nál mértük. Az eredményeket az 1. táblázatban ismertetjük.

Az U. V. spektrum vizsgálatához csak glicerin szénforrást használtunk, az előzőekben ismertetett N-forrás variánsokkal és nyomelemekkiegészítéssel.



1. ábra

A különböző N-forrásokon inkubált *Aspergillus niger* folyékony tápközegéből elkülönített melanin anyagok U.V. abszorpciós görbéi. 1.  $\text{NaNO}_3$ . 2. Glicin. 3. Glicin + Tirozin. 4. Élesztőkivonat. 5. Pepton-tartalmú közegből kinyert melanin görbéje. 6. *Dopa*-melanin

1. táblázat

A szén- és nitrogénforrások hatása sugárgombák és mikroszkopikus gombák pigmentképzésére

(1) A mikroorganizmusok laboratóriumi jelzése	(2) G l ű k ő z				
	NaNO <sub>3</sub>	(3) Glicin	(4) Glicin + Tirozin	(5) Élesztő- kivonat	(6) Pepton
	(7) A kultúrfolyadékok optikai sűrűsége E 2,10 = 100%				
Aspergillus candidus	12,9	35,4	38,6	28,4	35,9
Aspergillus niger	34,8	50,0	72,4	58,4	68,6
Penicillium verruculosum	10,0	17,4	24,5	56,2	49,5
Penicillium sp. ser. P. funiculosum (P-511)	8,7	17,4	43,3	51,2	45,7
Streptomyces flavovirens (S-9)	6,3	18,1	25,7	51,9	51,2
Str. ser. Chartreusis (4-36)	34,0	25,5	61,2	71,7	38,1
Str. ser. Chartreusis (1-56)	13,1	47,6	67,6	37,6	38,6
Str. ser. Chartreusis (2-40)	12,1	30,2	45,7	81,4	76,2
Str. ser. Venezuelae (4-15)	10,2	13,7	32,3	35,7	39,8

(1) A mikroorganizmusok laboratóriumi jelzése	(8) G l i c e r i n				
	NaNO <sub>3</sub>	(3) Glicin	(4) Glicin + Tirozin	(5) Élesztő- kivonat	(6) Pepton
	(7) A kultúrfolyadékok optikai sűrűsége E 2,10 = 100%				
Aspergillus candidus	9,1	20,9	43,1	44,9	39,0
Aspergillus niger	71,4	100,0	87,6	86,2	81,9
Penicillium verruculosum	7,4	20,5	35,2	58,3	46,7
Penicillium sp. ser. P. funiculosum (P-511)	5,2	11,3	37,6	45,7	50,0
Streptomyces flavovirens (S-9)	8,3	21,7	29,8	58,6	65,7
Str. ser. Chartreusis (4-36)	38,6	21,9	72,8	79,5	46,9
Str. ser. Chartreusis (1-56)	24,3	56,2	64,3	62,4	36,7
Str. ser. Chartreusis (2-40)	31,0	37,1	78,6	100,0	79,5
Str. ser. Venezuelae (4-15)	9,3	22,5	28,4	45,4	38,1

Az inkubáció 500 ml-es Erlenmeyerekben történt, a steril tápoldat mennyisége 100 ml volt. A beoltást spóraszuszpenzió bevitelével végeztük. Az álló kultúrákat (rázatás nélkül) 3 hónapon át inkubáltuk. Az inkubáció befejeztével a tenyészfolyadékot a micéliumtól szűréssel elválasztottuk. A kultúrfolyadékban levő sötét színű pigmentanyagot KÜSTER [9] által ismertetett metodika szerint sósavval kicsaptuk, a csapadékot centrifugálással elválasztottuk a tápközegtől és centrifugán mostuk. A sötét színű csapadékot a továbbiakban n-butanollal extraháltuk. A butanolban oldható frakciót melanin anyagként jellemeztük, míg a butanolban oldhatatlan részt, mint huminszerű produktumot külön vizsgáltuk. A butanol extraktot bepároltuk és a visszamaradt melaninanyagot 0,1 n NaOH-ban feloldottuk. A butanolban oldhatatlan csapadékrészből (huminszerű anyagok) az extrakció céljából alkalmazott

butanolt elpárologtattuk és az előbbieknél megfelelően 0,1 n NaOH-ban feloldottuk.

A mikroszervezetek által képzett melanin és huminszerű produktumok ultraibolya spektrumát összehasonlítottuk a kémiai úton előállított *Dopa*-melanin, valamint a talajból kivont huminsavak spektrálgörbéinek adataival.

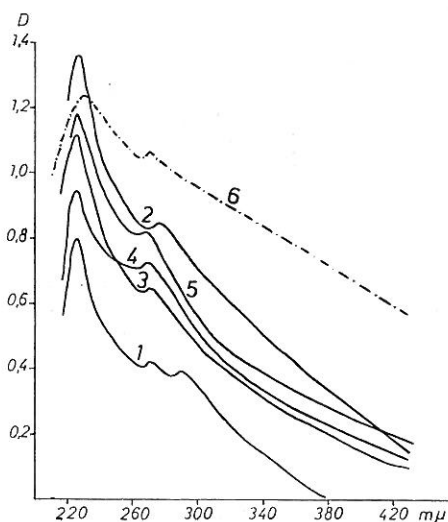
A *Dopa*-melanint ARNOW [1] módszere alapján állítottuk elő DL-dihidroxifenilalanin-ból.

A huminsavakat TYURIN [17] módszerével vontuk ki barna erdőtalajból és mészlepedékes csernozjom talajból. A Na-humátokat és a *Dopa*-melanint a spektrofotometriás vizsgálatok céljára az előbbieknél megegyezően 0,1 n NaOH-ban oldottuk fel. A melanin és humuszanyagok UV abszorpciós spektrumát 210 m $\mu$ -tól 440 m $\mu$ -ig terjedő fénytartományban határoztuk meg, Spektromom 201 UV spektrofotometer segítségével. A pigment és huminanyagokról felvett spektrumgörbéket az 1., 2., 3. és 4. ábrán mutatjuk be.

### Eredmények és következtetések

A táptalaj szűrletek optikai sűrűségének adatait az 1. táblázatban ismer-tetjük, a legmagasabb extinkció érték %-ában kifejezve ( $E_{2,1} = 100$ ).

Mint a táblázat adataiból is kitűnik, a tápközegben alkalmazott szén-és nitrogénforrások jelentős mértékben befolyásolták a mikroszervezetek pigmentképzését. A sugárgombák melaninképzése általában a glicerin szénforrást tartalmazó közegben volt magasabb. A gombáknál nehezebb megítélni a szénforrás és a pigmentképzés kapcsolatát, mert a nitrogénforrástól függően erősen változott a pigmentképzés intenzitása. A mikroszervezetek pigmentképzését a nitrogénforrás minősége nagyobb mértékben befolyásolta, mint a szénforrás. Élesztőkivonat N-forrást tartalmazó közegben volt legintenzívebb a

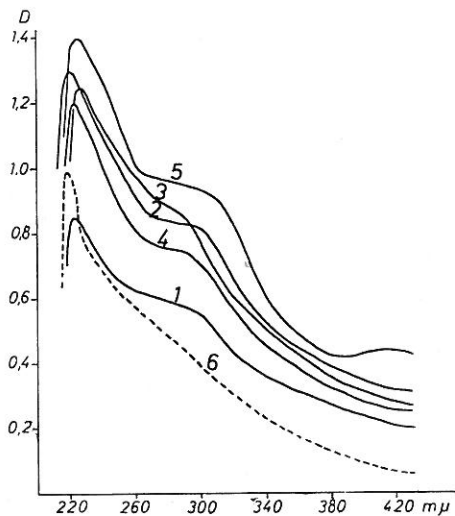


2. ábra

Különböző N-forrásokon inkubált 4–36 jelzésű *Streptomyces* (series *Chartreusis*) törzs melanin produktumainak U.V. abszorpciós görbéi. Jelzéseket lásd 1. ábra

pigment szintézis. Glicin nitrogénforrást tartalmazó közeg optikai sűrűsége általában fele, egyharmada volt az élesztőkivonatot tartalmazó közegekben mért értékeknek. Ettől eltérően viselkedett az 1-56 jelzésű *Streptomyces* törzs és az *Aspergillus niger*, amelyek a glicin tartalmú közegben ugyanolyan jól képeztek pigment anyagokat, mint élesztőkivonat jelenlétében. Kis mennyiségű (0,02%) tirozin bevitele jelentős mértékben fokozta a glicin tartalmú közegben a pigment termelését. Mindez arra mutat, hogy a tirozin a fenoloxidáz fermentekkel kölcsönhatásba lépve gyorsan melaninizálódott.

Az UV görbék összehasonlításából kitűnik, hogy a melanin és huminszerű anyagok spektrumgörbéi jelentősen eltérnek egymástól. A táptalajból elkülönített melaninanyagok elnyelési maximummal rendelkeznek a 220–230  $m\mu$ -ig terjedő UV tartományban, illetve 260–290  $m\mu$ -ig terjedő fénytartományban. Az első maximum általában 225  $m\mu$ -nál helyezkedik el. A 260–290  $m\mu$ -ig terjedő fénytartományban egy vagy két elnyelési maximum figyelhető meg. Két elnyelési maximuma van az  $NaNO_3$  nitrogénforrást tartalmazó közegben inkubált *Aspergillus niger* és a *Streptomyces* törzs pigmentanyagának egyaránt. Az *Aspergillus niger* peptont tartalmazó közegből elkülönített pigmentanyaga ugyancsak két elnyelési maximummal rendelkezik. A nitrogénforrástól függően az elnyelési maximum helyzete változik, ami arra mutat, hogy különböző melanin minőségekkel állunk szemben. A szintetikus Dopa-melanin vizsgált spektrumában (210–430  $m\mu$ -ig) elnyelési maximum figyelhető meg, 230 és 270  $m\mu$ -nál. A melanin anyagokra jellemző a 250–300  $m\mu$ -ig terjedő UV tartományban jelentkező maximum. STEIN [15, 16] a szintetikus Dopa-melanin elnyelési maximumát 270  $m\mu$ -nál jelölte meg, CROMARTIE és HARLEY-MASON [2] közlése szerint az 5,6,-dihidroxyindol elnyelési maximumai 270 és 300  $m\mu$ -nál helyezkednek el. ZENOVA [18] megállapításai szerint, kromo-



3. ábra

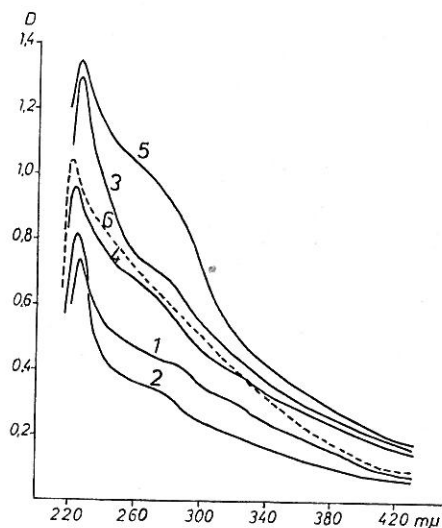
A különböző N-forrásokon inkubált *Aspergillus niger* huminszerű produktumainak U.V. abszorpciós görbéi. 1—4-es jelzéseket lásd 1. ábra. 5. Pepton-tartalmú közegből kinyert huminszerű anyagok görbéje. 6. Na humát csernozjom talajból

gén *Streptomyces* törzsek pigmentanyagai elnyelési maximummal rendelkeznek a 250–300  $m\mu$ -ig terjedő UV tartományban. A pigmentanyagok egy vagy több maximummal is rendelkezhetnek e sávban, ami kapcsolatban van azzal, hogy a pigmentanyagok összetettek és egyes frakciók elnyelési csúcspontja a spektrum különböző szakaszán helyezkedik el.

A tápközegből elkülönített huminszerű anyagok (n-butanolban nem oldódó frakció) elnyelési maximummal rendelkeznek 220–225  $m\mu$ -ig terjedő UV tartományban. 225  $m\mu$ -tól a görbék maximummal nem rendelkeznek, csupán kidomborodást (konvexitást) mutatnak 260–300  $m\mu$  között, amelyek azonban maximumban nem mennek át. A talajból kivont huminsavak (Na humátok) UV spektrumában éles maximum volt megfigyelhető 218  $m\mu$ -nál (csernozjom talajból), illetve 220  $m\mu$ -nál (barna erdőtalajból kivont huminsav). A 220–430  $m\mu$ -ig terjedő fénytartományban a spektrálgörbe monoton lefutású, maximumok, kidomborodások (konvexitás) nem figyelhetők meg.

Az irodalmi adatok túlnyomó többsége szerint a huminsavak UV spektrumában 220  $m\mu$ -tól elnyelési maximum nem figyelhető meg, és az abszorpciós görbék monoton lefutásúak. Ezzel ellentétes közlések szerint (KUMADA [7]) az ún. ligno-huminsavak UV spektrumában 238  $m\mu$ -nál elnyelési maximum található.

HARGITAI [4] podzolos barna erdőtalajból, rendzinából és szolonyec talajokból vont ki huminsavakat, amelyek elnyelési maximummal rendelkeztek 238–240  $m\mu$ -ig terjedő UV tartományban. Véleménye szerint ez kapcsolatos a talaj specifikus humuszanyagának fejlődésével, ugyanis egyes talajok mint pl. podzol-talajok jelentős mértékben tartalmaznak ún. huminsav előképződményeket, amelyekre jellemző az e fénytartományban jelentkező elnyelési maximum.



4. ábra

A különböző N-forrásokon inkubált 4–36 jelzésű *Streptomyces* (series *Chartreusis*) törzs huminszerű produktumainak U.V. abszorpciós görbéi. 1–5-ös jelzéseket lásd 1. ábra. 6. Na-humát barna erdőtalaj

A mikroszervezetek folyékony táptalajából elkülönített pigment és huminszerű anyagok spektrálgörbéinek értékelése alapján megállapítható, hogy e két produktum optikai sajátosságait tekintve különbözik egymástól. A melanin-anyagok spektrálgörbéi közel állnak a szintetikus *Dopa*-melanin UV görbéjéhez, bár attól minőségileg eltérnek, differenciáltabbak. A huminszerű anyagokról, optikai viselkedésük alapján megállapítható, hogy jól elkülönülnek a melanintól, de egyben azzal való kapcsolatukat is jelzi a spektrálgörbéiken 260—300  $m\mu$  között jelentkező konvexitás.

Az UV spektrumok összehasonlítása alapján arra következtethetünk, hogy a mikroszervezetek melanin anyagai a közegben bonyolultabb, összetettebb huminszerű produktummá alakulhatnak. E humin előképződmények az idő függvényében, kedvező környezeti viszonyok jelenléte esetén, talajviszonyok között, tovább differenciálódnak és specifikus humuszanyagokká alakulhatnak.

### Ö s s z e f o g l a l á s

A szerzők vizsgálták az *Aspergillus niger* és 4—36 jelzésű *Streptomyces* törzs kultúrközegéből elkülönített melanin és huminszerű produktumok ultraibolya spektrumát 210—430  $m\mu$ -ig terjedő fényhullámhossz tartományban. Megállapították, hogy a pigmentanyagok 225 és 230  $m\mu$  között jelentkező elnyelési maximumát egy vagy két elnyelési maximum követi, a 260—290  $m\mu$ -ig terjedő UV spektrumban. Az *Aspergillus niger* és a *Streptomyces* törzs pigmentanyagainak 260—290  $m\mu$  között fellépő maximumai jelentősen eltérnek. A tápközegben alkalmazott nitrogénforrás befolyásolta a pigmentanyagok minőségét. A folyékony táptalajból elkülönített „huminsavak” jól kifejezett maximummal rendelkeztek a 220—225  $m\mu$ -ig terjedő fénytartományban. Ezt követően maximumok nem figyelhetők meg a spektrumban csupán konvexitás 260—300  $m\mu$ -ig terjedő UV tartományban, ott ahol a melanin produktumok esetében az elnyelési maximumok lépnek fel. Összehasonlítás céljából a szintetikus *Dopa*-melanin, valamint talajból kivont humátok abszorpciós spektrumát is meghatározták. A *Dopa*-melanin elnyelési maximuma 230  $m\mu$ -nál és 270  $m\mu$ -nál jelentkezett. Az Na-humátok elnyelési maximuma 218 illetve 220  $m\mu$ -nál volt. Ezt követően az elnyelési görbe monoton lefutású, csúcsok, kidomborodások nem figyelhetők meg. A mikroszervezetek pigment és huminszerű anyagainak UV abszorpciós sajátosságai alapján arra lehet következtetni, hogy ezek az anyagok eredetüket, képződésüket tekintve kapcsolatban állnak egymással. A pigmentanyagok bonyolultabb, összetettebb huminszerű produktummá alakulhatnak. A huminszerű előképződmények az idő függvényében tovább differenciálódhatnak.

### I r o d a l o m

- [1] ARNOW, L. E.: Preparation of Dopa-melanin. *Science*. **87**. 308. 1938.
- [2] CROMARTIE, R. I. T. & HARLEY-MASON, J.: Melanin and its precursors. 8. The oxidation of methylated 5-6-dihydroxy-indoles. *Biochem. J.* **66**. 713—720. 1957.
- [3] DOUGLAS, R. J. & ŠAN-CLEMENTE, C. L.: Respiraiton of scab producing strains of *Actinomyces*. *Canad. J. Microbiol.* **2**. 407—415. 1956.
- [4] HARGITAI, L.: Humuszanyagok minőségének vizsgálata, ultraibolya spektrumaik alapján. *MTA Agrártud. Öszt. Közlem.* **22**. 225—240. 1963.
- [5] KANG, K. S. & FELBECK, G. T.: A comparison of the alkaline extract of tissues of *Aspergillus niger* with humic acids from three soils. *Soil Sci.* **99**. 175—181. 1964.

- [6] KONONOVA, M. M. & ALEKSZANDROVA, I. V.: Biohimija processza gumusz-obra-zovaniija i nekotórije voproszú pitaniija rasztenij. Izv. AN. SSSR. szer. biol. **23**. (1) 79—88. 1958.
- [7] KUMADA, K.: Absorption spectra of humic acids. Soil and Plant Food. **1**. 29—30. 1955.
- [8] KÜSTER, E.: Mikrobielle Polyphenoloxidasen und Humusbildung. Zbl. Bakt. Teil. I. **160**. 207—213. 1953.
- [9] KÜSTER, E.: Phenol oxidases in Streptomyces. In: Enzyme Chemistry of Phenolic Compounds. Ed. Pridham, J. B. Pergamon. London. 1963.
- [10] LAATSCH, W., HOOPS, L. & BIENECK, O.: Über Huminsäuren des Pilzes *Spicaria elegans*. Z. Pfl. Ernähr. Düng. **58**. 258—268. 1952.
- [11] MENCHER, J. R. & HEIM, A. H.: Melanin biosynthesis by *Streptomyces lavendulae*. J. gen. Microbiol. **28**. 765—770. 1962.
- [12] PLOTHO, O.: Weitere Untersuchungen zur Humusbildung der Mikroorganismen. Z. Pfl. Ernähr. Düng. **55**. 151—169. 1951.
- [13] SCHANEL, L.: Red pigment formation and humic acid synthesis by white rot fungi. In: Studies about Humus. „Humus et Planta IV.” Prague. 1967.
- [14] SCHEFFER, Y.: Recent work in humus research. Trans. V. Internat. Cong. Soil Sci. **1**. 208. 1954.
- [15] STEIN, W. D.: A comparison of some natural and synthetic melanins. Nature. **174**. 601—302. 1954.
- [16] STEIN, W. D.: Ultra-violet absorption investigation of melanins. Nature. **175**. 472. 1955.
- [17] TYURIN, I. B.: K metodike analiza dlja szravnitel'novo izucsenija szosztava poevennovo perejnoja ili gumusza. Tr. Poesv. in.ta im. V. V. Dokucsaeva. AN SSSR. **38**. 59—76. 1951.
- [18] ZENOVA, G. M.: Melanoidnue pigmentü aktinomicetov. Mikrobiologija. **34**. 278—283. 1965.
- [19] ZENOVA, G. M.: Melanoidnue pigmentov nehromogennüh aktinomicetov. Mikrobiologija. **37**. 454—459. 1968.

Érkezett: 1971. december 18.

## Study of Pigment Formation of Microorganisms

F. GULYÁS and J. SZEGI

Research Institute for Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest (Hungary)

### Summary

U.V. spectra of melanin and humin-like substances separated from the culture media of *Aspergillus niger* and *Streptomyces* 4—36 strains were studied at 210—430 m $\mu$ . Pigments showed their absorption maxima at 225—230 m $\mu$  which were followed by one or two absorption maxima in the U.V. range at 260—290 m $\mu$ . The absorption maxima of pigment products of *Aspergillus niger* and *Streptomyces* strains at 260—290 m $\mu$  differed from each other to a great extent. Nitrogen sources applied to the culture media had influence on the quality of pigments. „Humic acids” separated from the liquid culture media had their well-expressed maxima at 220—225 m $\mu$ . There weren't any other maxima observed in the spectrum, only convexicity in 260—300 m $\mu$  U.V.-range, where the absorption maxima of melanin products were also observed. Absorption maxima of synthetic *Dopa* melanin and humate substances, extracted from the soil, were also determined. Absorption maxima of *Dopa* melanin were observed at 230 m $\mu$  and 270 m $\mu$ . Those of Na-humates were found at 218 m $\mu$  and 220 m $\mu$ . After that the absorption curve evenly decreased, there weren't any other peaks observed. On the basis of the U.V.-spectra analysis of microorganisms' pigment and humin-like products it can be stated that they are in connection with each other in relations to their origin and formation. Pigments can be transformed into more complex humin-like substances. Humin-like preformations can differentiate further on by time.



*Table 1.* Effect of carbon and nitrogen sources on the pigment formation of *Streptomyces* and microscopic fungi. (1) Strains of microorganisms and their laboratory marks. (2) Glucose. (3) Glycine. (4) Glycine + tyrosine. (5) Yeast extract. (6) Pepton. (7) Optical density of culture media, E 2, 10 = 100%. (8) Glycerine.

*Figure 1.* U.V. absorption curves of melanin separated from *Aspergillus niger* liquid culture medium, incubated on various nitrogen sources, 1. NaNO<sub>3</sub>. 2. Glycine. 2. Glycine + tyrosine. 4. Yeast extract. 5. Absorption curve of melanin separated from the pepton containing culture medium. 6. *Dopa* melanin.

*Figure 2.* U.V. absorption curves of melanin products of *Streptomyces* 4—36 strain (series *Chartreusis*) incubated on various nitrogen sources. Signs see Figure 1.

*Figure 3.* U.V. absorption curves of humin-like substances of *Aspergillus niger* incubated on various nitrogen sources, 1—4 signs see Figure 1. 5. Absorption curves of humin-like substances separated from the pepton containing culture medium. 6. Nahumate extracted from chernozem.

*Figure 4.* U.V. absorption curves of humic substances of *Streptomyces* 4—36 (series *Chartreusis*) strain incubated on various nitrogen sources, 1—5 signs see Figure 3. 6. Na-humate extracted from brown forest soil.

## Beiträge zur Pigmentbildung von Mikroorganismen

F. GULYÁS und J. SZEGI

Forschungsinstitut für Bodenkunde und Agrikulturchemie der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, Budapest (Ungarn)

### Zusammenfassung

Es wurde das UV-Spektrum im Bereich von 210—340 m $\mu$  der aus dem Kulturmedium von *Aspergillus niger* und dem *Streptomyces*-Stamm 4—36 abgedehnten melanin- und huminartigen Produkte untersucht. Es wurde festgestellt, dass dem Absorptionsmaximum der Pigmentstoffe zwischen 225—230 m $\mu$  noch zwei weitere Absorptionsspitzen im UV-Bereich von 260—290 m $\mu$  folgen. Die zwei letzteren Absorptionsspitzen der Pigmentstoffe von *Aspergillus niger* und dem untersuchten *Streptomyces*-Stamm weichen voneinander ab. Die Qualität der Pigmentstoffe wurde durch die im Nährmedium angewendete Stickstoffquelle beeinflusst. Die aus dem flüssigen Nährmedium abgedehnten „Huminsäuren“ wiesen im Bereich von 220—225 m $\mu$  ein unterschiedenes Maximum auf. Bei den höheren Wellenlängen kann im Spektrum kein weiteres Maximum beobachtet werden, nur eine Konvexität im Bereich von 260—300 m $\mu$ , dort wo bei den Melaninprodukten die Absorptionsmaxima auftreten. Zum Vergleich wurde auch das Absorptionsspektrum des synthetischen *Dopa*-Melanins und der aus dem Boden extrahierten Humate bestimmt. Die Absorptionsmaxima des *Dopa*-Melanins traten bei 230 und 270 m $\mu$  auf. Das Absorptionsmaximum der Na-Humate lag bei 218, bzw. 220 m $\mu$ . Bei höheren Wellenlängen zeigt die Absorptionskurve einen monotonen Ablauf, es können weder weitere Spitzen, noch Wölbungen beobachtet werden. Aufgrund der UV-Absorptionseigenschaften der pigment- und huminartigen Stoffe der Mikroorganismen kann darauf geschlossen werden, dass diese Stoffe bezüglich ihres Ursprunges und ihrer Bildung miteinander im Zusammenhang stehen. Die Pigmentstoffe können in kompliziertere, zusammengesetzte huminartige Produkte übergehen. Die huminartigen Formationen können sich im Laufe der Zeit weiter differenzieren.

*Tab. 1.* Einfluss der Kohlen- und Stickstoffquellen auf die Pigmentbildung der Strahlen- und anderen mikroskopischen Pilze. (1) Benennung und Bezeichnung der Mikroorganismen. (2) Glukose. (3) Glykokoll. (4) Glykokoll + Tyrosin. (5) Hefeauszug. (6) Pepton. (7) Optische Dichte der Kulturmedien, E 2, 10 = 100%. (8) Glyzerin.

*Abb. 2.* UV-Absorptionskurven der aus, mit verschiedenen N-Quellen inkubierten, flüssigen *Aspergillus niger*-Nährmedien abgedehnten Melaninstoffe. 1. NaNO<sub>3</sub>. 2. Glykokoll. 3. Glykokoll + Tyrosin. 4. Hefeauszug. 5. Kurve von dem aus peptonhaltigem Medium gewonnenen Melanin. 6. *Dopa*-Melanin.

*Abb. 2.* UV-Absorptionskurven von Melaninprodukten des mit verschiedenen N-Quellen inkubierten *Streptomyces*-Stammes 4—36 (series *Chartreusis*). Bezeichnungen s. Abb. 1.

Abb. 3. UV-Absorptionskurven von Huminprodukten des mit verschiedenen N-Quellen inkubierten *Aspergillus niger*. Bezeichnungen 1—4 s. Abb. 1. 5. Kurve von aus peptonhaltigem Medium gewonnenen huminartigen Stoffen. 6. Na-Humat aus Tschernosjom-Boden.

Abb 4. UV-Absorptionskurven von den huminartigen Produkten des mit verschiedenen N-Quellen inkubierten *Streptomyces*-Stammes 4—36 (series *Chartreusis*). Bezeichnungen 1—5 s. Abb. 1. 6. Na-Humat aus braunem Waldboden.

## Данные к изучению образования пигментов у микроорганизмов

Ф. ГУЯШ и И. СЕГИ

Научно-исследовательский институт почвоведения и агрохимии Академии Наук Венгрии, Будапешт

### Резюме

Авторы изучали ультрафиолетовый спектр меланина и гуминообразного вещества, выделенных из культуральной среды штаммов *Aspergillus niger* и *Streptomyces* 4—36, в области длины световых волн от 210 до 430 мμ. Определили, что у пигментов за максимумом поглощения, проявляющимся между 225—230 мμ следуют один или два максимума поглощения в ультрафиолетовом спектре при длине волн 260—290 мμ. Максимумы пигментов штаммов *Aspergillus niger* и *Streptomyces*, проявляющиеся в области 260—290 мμ, сильно различаются. Источник азота, использованный в питательной среде влияет на качество пигментов. «Гуминовые кислоты», выделенные из жидкой питательной среды, имеют хорошо выраженный максимум в области света с длиной волн 220—225 мμ. После этого максимумов в спектре не наблюдаются, только выпуклости в области ультрафиолетовых лучей при длине волн 260—300 мμ, там где максимумы поглощения проявляются и у меланина. Для сравнения определили адсорбционный спектр синтетического *Dopa* — меланина и выделенных из почвы гуматов. Для *Dopa* — меланина максимум поглощения проявляется при длине волн 230—270 мμ. Максимум поглощения для гуматов натрия проявлялся при 218 мμ или 220 мμ. После этого кривая поглощения снижалась монотонно, отдельных пик и искривлений не наблюдалось. На основании особенностей поглощения ультрафиолетовых лучей пигментами и гумусообразными веществами микроорганизмов можно сделать заключение, что эти вещества по своему происхождению, образованию связаны между собой. Пигментные вещества могут преобразоваться в более сложный, комплексный гуминообразный продукт. Гуминообразные образования в зависимости от времени могут и дальше дифференцироваться.

Табл. 1. Влияние источников углерода и азота на образование пигментов лучистых микроскопических грибов. (1) Название микроорганизмов и лабораторное обозначение. (2) Глюкоза. (3) Глицин. (4) Глицин + Тирозин. (5) Дрожжевая вытяжка. (6) Пептон. (7) Оптическая плотность культуральной жидкости, E 2, 10 = 100%. (8) Глицерин.

Рис. 1. Кривые адсорбции ультрафиолетовых лучей веществами меланина, выделенными из жидкой питательной среды культуры *Aspergillus niger*, инкубированного на различных источниках азота. 1. NaNO<sub>3</sub>. 2. Глицин. 3. Глицин + Тирозин. 4. Дрожжевая вытяжка. 5. Кривые меланина, выделенного из питательной среды, содержащей пептон. 6. *Dopa* меланина.

Рис. 2. Кривые ультрафиолетовой адсорбции продуктов меланина штаммов *Streptomyces* 4—36 (series *Chartreusis*) Обозначение смотри на рисунке 1.

Рис. 3. Кривые адсорбции ультрафиолетовых лучей гуминообразными продуктами *Aspergillus niger* инкубированного на различных источниках азота. Обозначения 1—2—3—4 смотри на рисунке 1. 5. Кривые гуминообразных веществ, выделенных из среды содержащей пептон. 6. Гумат натрия из чернозема.

Рис. 4. Кривые адсорбции ультрафиолетовых лучей гуминообразных веществ штамма *Streptomyces* 4—36 (series *Chartreusis*). Обозначения 1—2—3—4—5 смотри на рисунке 3. 6. Гумат натрия из бурой лесной почвы.