

A sugárgombák cellulózbontásának tanulmányozása

A. N. IBRAHIM, M. A. EL-SHERBENY és M. A. A. AMIN

Al-Azhar Egyetem, Kairó, E. A. K.

A mikroszervezetek cellulózbontó tevékenységének tanulmányozása mind elméleti, mind pedig gyakorlati szempontból igen fontos, mivel a cellulóztartalmú növényi hulladékok ipari és mezőgazdasági hasznosításának megoldása napjaink feladata.

SCALES [22] az elsők között vizsgálta a cellulóz elbontását és azt találta, hogy a sugárgombák képesek elbontani ezt a vegyületet. Megfigyeléseit alátámasztotta MACBETH [12] is, aki több actinomyces-fajnál tapasztalt cellulózleépítést. LIESKE [11] viszont az általa kitenyésztett *Streptomyces*-kultúrák között egyetlen cellulózbontót talált. FULLER és NORMAN [6] talajszuszpenzióhígítással módszerrel több mint félmillió cellulózbontó sugárgomba-egyedet mutatott ki 1 g talajban.

REESE és munkatársai [20] megállapították, hogy egyes mikroszervezetek csak bizonyos cellulózszármazékokon (karboxi-metil-cellulóz) növekednek, s nem képesek elbontani a gyapotcellulózt. Ez arra utal, hogy nem rendelkeznek C₁-enzimmel, amely lineáris glükózanhidrid-láncokat hasít le a cellulózzstrózból, amelyeket azután egy másik enzim, a C_x-celluláz depolimerezál. REESE és munkatársai [21] egy másik munkájukban arról adnak számot, hogy bizonyos *Streptomyces*-fajok folyékony szűrlete a cellulózt cellobiózá és cellobiózá tudja lebontani.

HENSSEN [9] fontos szerepet tulajdonít a komposzt cellulóztartalmának elbontásában egyes termofil *Nocardia*- és *Streptomyces*-fajoknak. HARDISSON és VILLANUEVA [8] a Kanári-szigetek talajából számos cellulolitikus sugárgomba-törzset tenyésztett ki, melyek közül négy bizonyult intenzív cellulózbontónak. Ugyanakkor SZEGI [27] arról számolt be, hogy az actinomycesek sokkal kisebb mértékben bontották a cellulózt mint a mikroszkopikus gombák, és jóval érzékenyebbek az előbbieknél a külső környezet kedvezőtlen tényezőivel szemben.

TÖRNE [28] szerint az actinomycesek kedvező hőmérséklet és páratartalom esetén tudják a cellulózt értékesíteni. A lebontás függ a cellulóz kémiai sajátosságaitól.

STUTZENBERGER [24] szerint az actinomycesekhez tartozó *Thermomonospora curvata* cellulózenzim szintézisének optimális feltételei 55 °C-os hőmérsékleten és pH 6-os kémhatás mellett adóttak, ásványi sókat, cellulózt és élesztőkvivonatot tartalmazó tápközegben. Véleménye szerint az actinomycesek, mint cellulózbontók lényeges szerepet játszanak a komposztálás folyamatában. Más munkáiban [25, 26] megállapította, hogy a *Thermomonospora curvata* képes értékesíteni mind a gyapotcellulózt, mind a karboxi-

metil-cellulózt, következésképpen szintetizálja mind a C_1 -, mind pedig a C_x -cellulázenzimet. Vizsgálatai szerint a reakciórendszerben a cellulóz hidrolízisének sebessége (a redukáló cukrok mennyisége alapján mérve) kezdetben lineáris, majd a későbbiek során az aktivitás csökken.

CRAWFORD és MCCOY [4] szerint a *Streptomyces thermodiastaticus* és a *Thermomonospora fusca* cellulózbontó sugárgombák cellulázenzimeji a szaporodással egyidőben szintetizálódnak, és a karboxi-metil-cellulóz-láncot véletlenszerűen szakítják szét, miközben cellobióz, glükóz és közepes hosszúságú oligoszaharid-láncok keletkeznek.

IBRAHIM [10] az egyiptomi talajokban előforduló actinomyceták fontos szerepére hívta fel a figyelmet. Vizsgálatai szerint a cellulózbontó aktivitás nem stabil tulajdonság a sugárgombáknál.

Anyag és módszer

Munkánk során 20 különböző *Streptomyces*-tenyészetet vizsgáltunk meg [10]. A cellulózbontás aktivitását CRAWFORD és MCCOY [4] módszerével határoztuk meg. Ásványi tápoldatot tartalmazó kémcsőbe 2 db, 1 cm² nagyságú szűrőpapírnégyszetet helyeztünk. Ezt követően a tápoldatot spóraszuszpenzióval beoltottuk és 3 hétig inkubáltuk. A cellulózbontó aktivitást a szűrőpapír méretének csökkenése alapján mutattuk ki.

Az egyes cellulózféleségek és azok eltérő mennyiségeinek hatása a vizsgált Streptomyces-tenyészetek cellulózbontó aktivitására

Cellulózforrásként részben szűrőpapírt (Whatman No. 1), részben pedig gyapotvattát alkalmaztunk. Ezeket az anyagokat golyósmalomban aprítottuk fel, annyira, hogy 20 mesh méretű szitalyukakon átmenjenek. A 250 ml-es Erlenmeyer-lombikban levő tápoldat 50 ml-nyi mennyiségeihez különböző koncentrációkban (2,5; 5,0; és 10 mg/ml) adtuk a felaprított szűrőpapírt és gyapotot, majd beoltottuk a vizsgált tenyészetek szárazanyag-suszpenziójával. Az egyes kezeléseket három ismétlésben állítottuk be. Az inkubációt álló és rázatott kultúrákkal végeztük 28 °C-on. A rázatásnál 180 rezgésszámot alkalmaztunk percenként és célunk annak megállapítása volt, hogy milyen hatással van az aeráció az egyes tenyészetek cellulolitikus aktivitására. A redukáló cukrok mennyiségét 1, 2, 3, 4 és 7 hetes inkubációs periódusokban mértük.

A cellulázenzim aktivitásának vizsgálata

A streptomyceta-kultúrákat ásványi tápoldatban [inkubáltuk cellulóz jelenlétében. A cellulázaktivitást kétféle módszerrel mértük, melyek hasonlóak a MANDELS és WEBER [14] által javasolt eljárásokhoz.

A C_1 -celluláz képződéséhez a vizsgált streptomycetákat 2 literes Erlenmeyer-lombikokban, 400 ml ásványi táptalajban tenyésztettük. A 7,2–7,4 pH-ra beállított tápoldatot, amely 2 g felaprított gyapotot, illetve szűrőpapír-őrleményt tartalmazott, beoltottuk a streptomyceták spóraszuszpenziójával, majd 3 hétig rázattuk vízfürdőben, 28 °C-on. Az inkubációt követően a tenyészeteket Whatman No. 44-es szűrővel szűrtük és Seitz EK szűrőn átszívattuk és csíráltatnítottuk.

A szűrleteket azonnal felhasználtuk a celluláz kimutatásához. E célból 3,2 ml filtrátumot és 0,8 ml nátriumacetát-puffert (0,6 M) adtunk 90 mg

felaprított gyapothoz. Ennek a reakcióelegynek a pH-ját 6,0–6,3-ra állítottuk be, majd 28 °C-on 8 napos inkubáció következett. Ezek után meghatároztuk a redukáló cukrok mennyiségét.

A C_x-celluláz kimutatásánál alkalmazott táptalaj hasonló összetételű volt, azzal a különbséggel, hogy a szénforrás karboxi-metil-cellulóz volt. A táptalaj pH-ja az előbbiekkal megegyezően 7,2–7,4 volt. Háromhetes inkubáció után a tenyészetet szűrtük, majd szűréssel sterilizáltuk, s azonnal felhasználtuk az enzimaktivitás kimutatására. 3,5 ml 4%-os karboxi-metil-cellulózból, 0,1 ml 1,0 mol-os nátriumacetát-pufferből és 0,4 ml 10-szeres hígítású tenyészfolyadék-szűrletből állítottuk össze a reakcióelegyet, amelyet 8 napig inkubáltunk. A felszabaduló redukáló cukrokat NELSON [16] módszerével határoztuk meg.

Eredmények értékelése

A tanulmányozott streptomyceta-törzsek nagy eltéréseket mutattak a cellulázenzim szintézisének szempontjából.

A vizsgálat eredményeiből kitévnik, hogy a *Str. viridans* 581-es és 1130-as, illetve a *Str. violaceoruber* 1133-as törzse bontja a legnagyobb intenzitással a szűrőpapírt. TOYAMA [29] szerint, bár a karboxi-metil-cellulóz (CMC) széles körben használt a cellulázenzim szubsztrátjaként, egyes nem cellulózbontó fajok is képesek hasznosítani, amelyek ugyanakkor nem bontják a natív cellulózt. Több korábbi és újabb irodalmi közlemény igazolja, hogy számos actinomyceta-faj képes a natív cellulózt szén- és energiaforrásként hasznosítani [6, 12, 15, 22, 24, 27, 28]. Különösen LIESKE [11], HENSEN [9], REESE et al. [21], HARDISSON és VILLANUEVA [8], ENGER és SLEEPER [5], CRAWFORD és MCCOY [4] és IBRAHIM [10] szolgáltatott adatokat a *Streptomyces*-fajoknak a cellulózbontásban betöltött szerepével kapcsolatban.

A különböző koncentrációkban alkalmazott cellulózforrások hatása a fenti három cellulózbontó streptomyceta-tenyészet cellulolitikus aktivitására az 1. táblázatból látható.

A vizsgált *Streptomyces*-kultúrák cellulózbontó aktivitása nagy változatosságot mutat. A cellulázenzim szintézise függ az egyes cellulózfeleségektől és azok koncentrációjától. HALLIWELL [7] szerint a cellulóztartalmú anyagok enzimatis hidrolízise függ a lánchosszúságtól, a kristályos és amorf részek egymáshoz viszonyított arányától, valamint a polimerizáció (Dp) fokától. NORKANS [17] és COWLING [3] a polimerizációs fok és az enzimatis aktivitás közötti összefüggéseket vizsgálta.

Az általunk vizsgált streptomyceta-tenyészetek a felaprított gyapot-cellulózt intenzívebben bontották el, mint a szűrőpapírt. Feltételezhetően a bontásnál serkentő szerepet játszottak a kezeletlen gyapotrostban levő biológiailag aktív anyagok.

A cellulózkoncentráció lényeges mértékben befolyásolta a különböző *Streptomyces*-tenyészetek növekedését és cellulázsintézisét.

A szűrőpapír-szénforráson tenyésztett streptomyceta-kultúrák növekedése eltérő módon alakult. Legaktívabb cellulózbontónak a *Str. viridans* 581-es törzs bizonyult, ezt követte a *Str. violaceoruber* 1133-as törzs, s utolsó helyre szorult a *Str. viridans* 1130-as törzs. A *Str. viridans* 581-es törzs 10 mg/ml szűrőpapír-örlemény jelenlétében mutatta a legnagyobb aktivitást.

A *Str. violaceoruber* 1133-as tenyésztete 5 mg/ml szűrőpapírdózis jelenlétében növekedett legjobban, míg a *Str. viridans* 1130-as törzse 2,5 mg/ml szűrőpapír-koncentráció mellett tanúsított maximális aktivitást.

1. táblázat

A szénforrás és a levegőztetés hatása különböző *Streptomyces*-kultúrák cellulázaktivitására

(1) Az inkubáció formája	(1) Cellulóz szénforrás megnevezése és mennyisége, mg/ml	(3) Redukáló cukrok, µg/ml					(4) Átlag
		1	2	3	4	7	
		inkubációs periódus, hét					
<i>Str. viridans</i> 581							
a) Álló tenyésztet szűrlete	c) Szűrőpapír						
	2,5	60	25	25	100	75	57
	5,0	60	75	50	90	100	75
	10,0	25	60	60	75	190	82
	Átlag	48,3	53,3	45,0	88,0	121,7	
	d) Gyapot						
	2,5	75	50	50	90	75	68
	5,0	90	75	50	90	110	83
	10,0	60	50	35	100	60	61
	Átlag	75	58,3	45	93,3	81,7	
b) Ráztatott tenyésztet szűrlete	c) Szűrőpapír						
	2,5	90	50	50	140	90	84
	5,0	90	90	75	120	140	103
	10,0	50	90	90	100	240	114
	Átlag	76,7	76,7	71,7	120	166,7	
	d) Gyapot						
	2,5	100	75	75	120	100	94
	5,0	120	100	75	125	145	113
	10,0	90	75	50	150	90	91
	Átlag	103,3	83,3	66,7	131,7	111,7	
<i>Str. viridans</i> 1130							
a) Álló tenyésztet szűrlete	c) Szűrőpapír						
	2,5	90	90	60	60	110	82
	5,0	50	75	50	75	60	62
	10,0	50	35	60	60	60	53
	Átlag	63,3	66,7	56,7	65	76,7	
	d) Gyapot						
	2,5	50	75	75	60	50	62
	5,0	75	90	35	100	50	70
	10,0	75	75	35	75	90	70
	Átlag	66,7	80	48,3	78,3	63,3	
b) Ráztatott tenyésztet szűrlete	c) Szűrőpapír						
	2,5	120	110	90	100	150	114
	5,0	80	90	75	110	90	89
	10,0	75	60	90	90	90	81
	Átlag	91,7	86,7	85	100	110	
	d) Gyapot						
	2,5	75	100	100	100	75	90
	5,0	100	120	60	140	90	102
	10,0	100	90	60	110	150	102
	Átlag	91,7	103,3	73,3	116,7	105	

1. táblázat folytatása

(1) Az inkubáció formája	(2) Cellulóz, szénforrás megnevezése és mennyisége, mg/ml	(3) Redukáló cukrok, µg/ml					Átlag
		1	2	3	4	7	
		inkubációs periódus, hét					
<i>Str. violaceoruber</i> 1133							
a) Álló tenyészet szűrlete	c) Szűrőpapír						
	2,5	110	75	17	100	75	87
	5,0	75	90	60	140	150	103
	10,0	50	75	75	50	125	75
	Átlag	78,3	80	70	96,7	116,7	
	d) Gyapot						
	2,5	90	75	100	110	35	82
5,0	60	100	75	125	60	84	
10,0	95	90	35	75	150	89	
Átlag	81,7	88,3	70	103,3	81,7		
b) Rázott tenyészet szűrlete	c) Szűrőpapír						
	2,5	140	100	100	140	100	116
	5,0	110	120	90	175	200	139
	10,0	75	100	95	80	150	100
	Átlag	108,3	106,7	95	131,7	150	
	d) Gyapot						
	2,5	120	100	140	150	75	117
5,0	90	140	100	160	90	116	
10,0	120	120	60	100	240	128	
Átlag	110	120	100	136,7	135		

A vattaőrlemény alkalmazásakor a *Str. viridans* 581-es törzse 5 mg/ml dózis jelenlétében volt a legaktívabb. A *Str. violaceoruber* 1133-as tenyészeténél 10 mg/ml volt az optimális adag. A *Str. viridans* 1130-as törzsénél a cellulózkoncentráció változása 5–10 mg/ml között nem befolyásolta a cellulózbontó aktivitást. COWLING [3] és STUTZENBERGER [24] szerint a gyapot koncentrációjának nagy jelentősége van a cellulózbontó sugárgombák cellulózsintézise szempontjából.

SIU és SINDEN [23], MANDELS és REESE [13], STUTZENBERGER [24], valamint CRAWFORD és MCCOY [4] véleménye szerint gyapotcellulóz-szénforrás esetében az oldható cukrok fokozatosan szabadulnak fel. Ugyanakkor a szűrőpapír lebomlása gyorsabb mint a gyapoté. Ez nagyobb tömegű redukáló cukor gyors felhalmozódásához vezet, ami viszont a további cellulázenzimszintézist akadályozza a cellulózbontó mikroszervezetek tenyészeiben. RAUTELA és KING [18], valamint MANDELS és WEBER [14] szerint a tápközegben felhalmozódó redukáló cukrok gátolják a δ-glukozidáz-enzim aktivitását, s ezért a lassabban lebomló kristályos szerkezetű gyapot egyenletesebb cellulázenzimszintézist eredményez mint a szűrőpapír.

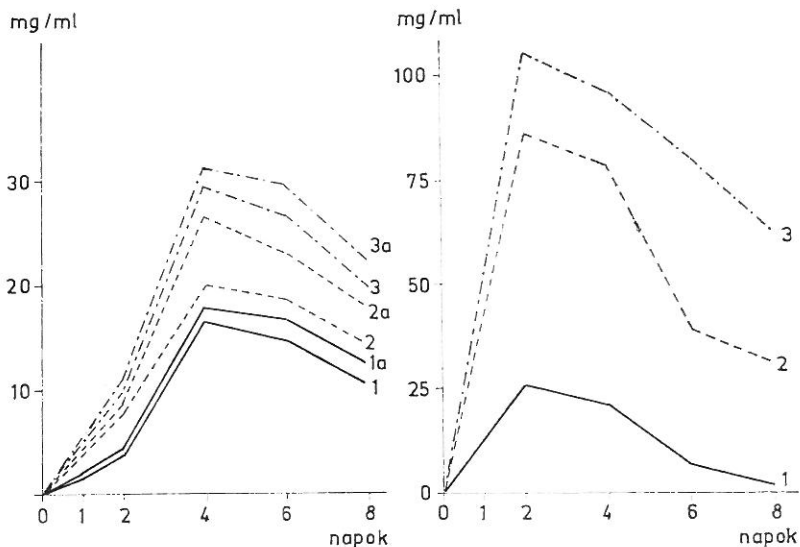
A különböző streptomyceta-tenyészetek celluláz-szintetizáló aktivitása nem volt egyforma az inkubációs periódusok alatt. A felaprított szűrőpapíron tenyésztett *Str. viridans* 581-es törzse 7 hetes inkubációs idő alatt termelt maximális mennyiségű redukáló cukrot, míg a *Str. viridans* 1130-as kultúra által szintetizált redukáló cukrok mennyisége az 1., 2., 3. és 4. hetekben egyenletes volt, majd 7 hetes inkubáció után a redukálócukor-produkció

sebessége növekedett. Ugyanezen tendencia érvényesült a *Str. violaceoruber* esetében is, ahol a maximális redukálócukor-szintézist 7 hetes inkubáció után észleltük, azonban a felhalmozódott cukormennyiség jóval nagyobb volt, mint az előbbi két törzs esetében.

A fentiektől eltérő a redukáló cukrok felszabadulása alapján mért cellulázaktivitás gyapotőrlemény-cellulózforrás alkalmazásakor. A *Str. viridans* 581-es tenyészet ilyen körülmények között 1 hetes inkubáció során maximális mennyiségű redukáló cukrot termelt, majd a 2 és 3 hetes periódusokban a cukrok felhalmozódása csökkent. Maximális produkció 4 hetes inkubációs periódusban volt megfigyelhető, majd 7 hét után a felhalmozódás csökkent. A *Str. viridans* 1130-as törzsnél a redukáló cukrok felhalmozódását tekintve két csúcs volt megfigyelhető, az egyik 2 hetes, a másik pedig 4 hetes inkubációs periódusban, majd 7 hét után fokozatos csökkenést tapasztaltunk. A *Str. violaceoruber* esetében a redukáló cukrok felhalmozódását a 2 és 4 hetes inkubációs periódusokban észleltük.

A 7 hetes inkubációs periódust követően a redukáló cukrok felhalmozódásának csökkenése a gyapot-cellulózforrást tartalmazó kezeléseknél a gyapot-cellulóz kristályos frakciójának magas arányával magyarázható. A redukáló cukrok felszabadulásának csökkenése 3 hetes inkubációt követően valószínűleg annak tulajdonítható, hogy a felszabadult redukáló cukrok felhasználásával új vegetatív sejteket szintetizálnak a sugárgombák.

A kísérletben vizsgált streptomyceta-törzsek celluláztermelő aktivitására a levegőztetés eltérően hatott. Az aeráció azonban minden tenyészetnél serkentette a cellulázszintézist a stacionar tenyészetekhez viszonyítva. Ezek az észlelések megerősítik ALEXANDER [1], TOYOMO [29], STUTZENBERGER



1. ábra

A különböző *Streptomyces*-tenyészetek C₁- és C₂-celluláztermelése. 1. *Str. viridans* 581. 2. *Str. viridans* 1130. 3. *Str. violaceoruber* 1133. A C₁-celluláztermelésnél a csak számokkal jelölt kezelések szűrőpapír-őrleményt, az a-val jelölt kezeléseket felaprított gyapotot tartalmaznak. Függőleges tengely: Redukáló cukrok, mg/ml. Vízszintes tengely: Inkubációs időszak, napokban

[24, 25, 26], valamint CRAWFORD és MCCOY [4] eredményeit, akik úgy találták, hogy a cellulóztartalmú anyagok lebontása forgó vízfürdőben való rázattal meggyorsul. Az említett szerzők ezt az eljárást alkalmazták a cellulózsintézis tanulmányozására. A levegőztetés hatása — vizsgálataink szerint — sokkal kifejezettebb volt olyan tenyészeteknél, amelyekben felaprított vatta volt a szénforrás.

A streptomyceták cellulózsintézisének a levegőztetés hatása 10 mg/ml koncentrációnál volt a legkifejezettebb.

A C_1 -celluláz termelésével kapcsolatos adatokat az 1. ábrán mutatjuk be. Az adatok szerint a gyapotrostok jelenlétében a C_1 -celluláz nagyobb mértékben képződik, mint szűrőpapírt tartalmazó közegben. A C_1 -cellulázsintézis az inkubáció első négy napján közel lineáris, amit elhúzódó csökkenő szakasz követ. A vizsgálat során a *Str. violaceoruber* aktívabbnak bizonyult mint a másik két tenyészet. RAUTELA és KING [18], CHANG és USAMI [2], MANDELS és WEBER [14], valamint USAMI és CHANG [30] szerint a gyapot viszonylag ellenálló a gyors hidrolízissel szemben, ami lehetővé teszi a redukáló cukrok fokozatos felszabadulását, s ez inkább serkenti mint gátolja a cellulózsintézist.

A C_x -celluláz vizsgálatánál a redukáló cukrok felhalmozódása az első két nap folyamán lineárisan növekszik, majd azt követően csökken a reakció-időszak befejezéséig.

A C_1 -celluláz és C_x -celluláz reakciórendszerekre kapott adatok, a cellulózreakció linearitása az első néhány napban, majd a továbbiakban a redukáló cukrok mennyiségében kimutatható csökkenés e cellulázrendszerek meghatározási sajátossága, amint erre REESE [19], valamint MANDELS és WEBER [14] is rámutatnak. STUTZENBERGER [25] szerint a C_1 - és C_x -celluláz reakciósebességében az idő függvényében jelentkező csökkenés abból ered, hogy a cellulózpólimer megtámadható felületei csökkennek, vagy olyan a visszamaradó cellulóz, amelyhez az enzim specifikussága gyenge.

Összefoglalás

Egyiptomi talajokból kitenyésztett streptomyceták cellulózbontó aktivitását és cellulázenzim-szintetizáló képességét vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy a legaktívabb cellulózbontónak a *Streptomyces violaceoruber* 1133-as törzse, valamint a *Str. viridans* 581-es és 1130-as tenyészet bizonyult.

Cellulózforrásként kétféle cellulózt, golyósmalomban felaprított gyapotot és szűrőpapírt alkalmaztunk 2,5, 5,0 és 10,0 mg/ml koncentrációban. Az inkubációs periódus során az 1., 2., 3., 4. és 7. hét végén meghatároztuk a redukáló cukrok mennyiségét.

Megállapítottuk, hogy a gyapotcellulózon a vizsgált streptomyceták jobban növekedtek mint a szűrőpapíron. Az optimális cellulózkoncentráció a cellulázenzim szintézise szempontjából 5 mg/ml volt. A levegőztetés nagy mértékben növelte a vizsgált streptomyceta-kultúrák cellulózbontó aktivitását.

A három vizsgált tenyészet mind a két cellulázenzim-komponenst (C_1 és C_x) szintetizálta. A *Str. violaceoruber* 1133-as törzs mutatta a legnagyobb cellulázaktivitást, ezt követte a *Str. viridans* 1130-as tenyészet, majd a *Str. viridans* 581-es törzs. A C_1 -cellulázaktivitás az inkubáció negyedik napján érte el a maximumot, míg a C_x -cellulázaktivitás csúcsértéke a reakcióidő második napján jelentkezett.

Irodalom

- [1] ALEXANDER, M.: Introduction to soil microbiology. Wiley & Sons. New York. 1961.
- [2] CHANG, W. S. & USAMI, S.: Production and utilization of *Trichoderma* cellulase by submerged culture. J. Ferment. Technol. **47**. 447–455. 1969.
- [3] COWLING, E. B.: A review of literature on the enzymatic degradation of cellulose and wood. Forest Products Laboratory. Report No. 2116. Madison. Wis. USA. 1958.
- [4] CRAWFORD, D. L. & MCCOY, E.: Cellulases of *Thermomonospora fusca* and *Streptomyces thermodiastaticus*. Applied Microbiol. **24**. 150–152. 1972.
- [5] ENGER, M. D. & SLEEPER, B. P.: Multiple cellulase system from *Streptomyces antibioticus*. J. Bact. **89**. 23–27. 1965.
- [6] FULLER, W. H. & NORMAN, A. G.: Cellulose decomposition by aerobic mesophilic bacteria from soils. III. Effect of lignin. J. Bact. **46**. 291–297. 1943.
- [7] HALLIWELL, G.: The action of cellulolytic enzymes from *Myrothecium verrucaria*. Biochem. J. **79**. 185–192. 1961.
- [8] HARDISSON, C. & VILLANUEVA, J. R.: Utilisation de la cellulose par quelques *Streptomyces* isolé des sols de Tenerife (Iles Canaries). Ann. Inst. Pasteur. **107**. Suppl. No. 3. 148–151. 1964.
- [9] HENSSEN, A.: Über die Bedeutung der thermophilen Mikroorganismen für die Zersetzung des Stallmistes. Archiv Microbiol. **27**. 63–81. 1957.
- [10] IBRAHIM, A. N.: *Streptomyces* population of the soil and rhizosphere of berseem and lucerne. Al-Azhar Bull. Agric. Sci. 1976.
- [11] LIESKE, R.: Morphologie und Biologie der Strahlenpilze. Leipzig. 1921.
- [12] MACBETH, I. G.: Studies on the decomposition of cellulose in soil. Soil Sci. **1**. 437–487. 1916.
- [13] MANDELS, M. & REESE, E. T.: Induction of cellulase in *Trichoderma viride* as influenced by carbon sources and metals. J. Bact. **73**. 269–278. 1957.
- [14] MANDELS, M. & WEBER, J.: The production of cellulases. Adv. Chem. Ser. **95**. 391–414. 1969.
- [15] NAPLEKOVA, N. N.: Blijanje razlicnih form azota na intenzivnoszt' cellulozozaruzsenija v pocsvah Gornogo Altaja. In: Genezis pocsv Zapadnoj Szibiri. Nauka Szibirszk. Otdel. Novoszibirszk. 1964.
- [16] NELSON, H.: A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. J. Biol. Chem. **135**. 375–380. 1944.
- [17] NORKANS, B.: Studies in growth and cellulolytic enzymes of *Tricholoma*. Samb. Bot. Upsal enses. **11**. (7) 127–136. 1950.
- [18] RAUTELA, G. S. & KING, K. W.: Significance of the crystal structure of cellulose in the production and action of cellulase. Arch. Biochem. Biophys. **123**. 589–601. 1968.
- [19] REESE, E. T.: Enzymatic hydrolysis of beta-glucans. J. Ferment. Technol. **43**. 62–77. 1965.
- [20] REESE, E. T., SIU, R. G. H. & LEVINSON, H. S.: The biological degradation of soluble cellulose derivatives and its relationship to the mechanism of cellulose hydrolysis. J. Bact. **59**. 485–497. 1950.
- [21] REESE, E. T., SMAKULA, E. & PERLIN, A. S.: Enzymic production of cellotriose from cellulose. Arch. Biochem. Biophys. **85**. 171–175. 1959.
- [22] SCALES, F. M.: Some filamentous fungi tested for cellulose destroying power. Bot. Gaz. **60**. 149–153. 1915.
- [23] SIU, R. G. H. & SINDER, J. W.: Effect of pH, temperature, and mineral nutrition on cellulolytic fungi. Amer. J. Bot. **38**. 248–290. 1951.
- [24] STUTZENBERGER, F. J.: Cellulase production by *Thermomonospora curvata* isolated from municipal solid waste compost. Applied Microbiol. **22**. 147–152. 1971.
- [25] STUTZENBERGER, F. J.: Cellulolytic activity of *Thermomonospora curvata*. Nutritional requirements for cellulase production. Applied Microbiol. **24**. 77–82. 1972.
- [26] STUTZENBERGER, F. J.: Cellulolytic activity of *Thermomonospora curvata*. Optimal assay conditions, partial purification, and product of cellulase. Applied Microbiol. **24**. 83–90. 1972.
- [27] SZEGI, J.: Vlijanja pH na razvitie nektorih cellulozorazlogajusis mikroorganizmov. Agrokémia és Talajtan. **13**. Suppl. 73–78. 1964.
- [28] TÖRNE, E. VON: Experimentelle Untersuchungen über den Einfluss der Lebens-tätigkeit von Mikroorganismen und Bodentieren auf den Abbau von Zellulose. I. Pedobiologia. **5**. 211–227. 1965.

- [29] TOYAMA, N.: Synthesis and decomposition of cellulose by micro-organisms. *J. Ferment. Technol.* **39**. 511–519. 1961.
- [30] USAMI, S. & CHANG, W. S.: Studies on the production and application of cellulase by submerged culture. *Bull. Waseda Daigaku Rikogaku Kenkyusho Hokoku.* **44**. 35–43. 1969.

Érkezett: 1980. június 9.

A Study of Cellulose Degradation by Various Streptomyces Strains

A. N. IBRAHIM, M. A. EL-SHERBENY and M. A. A. AMIN

Al-Azhar University, Cairo (A. R. E.)

Summary

The cellulolytic activities of three *Streptomyces* strains (*S. viridans* 581 and 1130 and *S. violaceoruber* 1133) cultivated from Egyptian soils were studied.

Ground surgical-grade absorbent cotton and ground filter paper, used as two types of cellulose, were added in various amounts (2.5, 5 and 10 mg/ml) to the minimal medium [4] and incubated for different periods (1, 2, 3, 4 and 7 weeks). Cellulases production was measured by the liberation of soluble reducing sugars during the various incubation periods.

The cellulolytic activities of the studied *Streptomyces* strains varied considerably depending on the type and concentrations of the cellulosic materials. Cotton was found to be a more suitable type of cellulose for the growth of *Streptomyces* strains than filter paper. The concentration of 5 mg/ml in the minimal medium was found to be the optimum concentration for the growth and cellulases production by the different strains.

Aeration greatly increased the activities of the different strains for the decomposition of both types of cellulosic materials.

All the tested strains produced the two cellulases (C_1 and C_x). *S. violaceoruber* 1133 showed the highest production rate of cellulases followed by *S. viridans* 1130 and 581. The peak of C_1 activity was found to be at 4 days' incubation, while that of C_x occurred at 2 days' incubation.

Table 1. Effects of carbon sources and aeration on the cellulase activities of the studied *Streptomyces* strains. (1) Aeration treatment. a) standing culture filtrates; b) shaken culture filtrates. (2) Carbon source, and the amount used, mg/ml. c) filter paper; d) cotton. (3) Reducing sugars, $\mu\text{g/ml}$, measured after various incubation periods, weeks.

Figure 1. Production of C_1 and C_x celluloses by various *Streptomyces* cultures. 1. *S. viridans* 581; 2. *S. viridans* 1130; 3. *S. Violaceoruber* 1133. In the case of C_1 cellulase production single Arabic numerals indicate treatment using ground filter paper, while Arabic numerals accompanied by the letter „a” indicate treatment using ground cotton. Vertical axis: reducing sugars, mg/ml. Horizontal axis: incubation period, days.

Untersuchung des Zelluloseabbaues von Streptomyces Stämmen

A. N. IBRAHIM, M. A. EL-SHERBENY und M. A. A. AMIN

»Al-Azhar« Universität, Kairo (E. A. R.)

Zusammenfassung

Es wurde die zellulolytische Aktivität von drei *Streptomyces* Stämmen (*S. viridans* 581 und 1130, und *S. violaceoruber* 1133) isoliert aus ägyptischen Böden, untersucht.

In den Versuchen diente gemahlene sterile Watte und gemahlene Filterpapier als Zellulosequellen. Diese zwei Zellulose Typen wurden in verschiedenen Mengen (2,5, 5 und 10 mg/ml) zu einer Nährlösung [4] hinzugefügt und verschieden lange Zeit hindurch

(1, 2, 3, 4 und 7 Wochen) inkubiert. Das Ausmass der Cellulase-Produktion wurde am Ende der einzelnen Inkubationsperioden durch das Freiwerden von reduzierenden Zuckern bestimmt.

Die zellulolytische Aktivität der untersuchten Streptomyces Stämme änderte sich beträchtlich je nach dem Typ und der Konzentration des Zellulosematerials. Baumwolle war entsprechender für die Zucht von Streptomyces-Stämmen, als Filterpapier. Die 5 mg Zellulose/ml Konzentration in der Nährlösung war die optimale für das Wachstum und die Cellulase-Produktion der einzelnen Stämme. Lüftung erhöhte die Aktivität der einzelnen Stämme in hohem Masse.

Die drei untersuchten Stämme produzierten die beiden Cellulase-Komponenten C_1 und C_x ; *S. violaceoruber* 1133 wies die höchste Produktionsrate von Cellulase auf, danach *S. viridans* 1130 und 581. Die höchste Aktivität vom Komponenten C_1 zeigte sich nach einer Inkubation von 4 Tagen, diejenige vom Komponenten C_x nach einer von 2 Tagen.

Tab. 1. Einfluss der C-Quellen und der Lüftung auf die Cellulase-Aktivität der untersuchten Streptomyces-Stämme. (1) Art der Inkubation: a) Filtrate stehender Kulturen; b) Filtrate geschüttelter Kulturen. (2) Typ der verwendeten Zellulose und ihre Menge in der Nährlösung, mg/ml: c) Filterpapier; d) Baumwolle (Watte). (3) Menge der reduzierenden Zucker am Ende der einzelnen Inkubationsperioden ($\mu\text{g/ml}$).

Abb. 1. Produktion der Cellulase-Komponenten C_1 und C_x durch die einzelnen Streptomyces-Stämme. 1. *S. viridans* 581. 2. *S. viridans* 1130. 3. *S. violaceoruber* 1133. Im Falle der C_1 -Cellulaseproduktion bedeuten die alleinstehenden arabischen Ziffern Behandlungen mit gemahlenem Filterpapier, während die arabischen Ziffern mit dem Buchstaben »a« Behandlungen mit Baumwolle angeben. Ordinate: Menge der reduzierenden Zucker, mg/ml. Abszisse: Inkubationsperiode, Tage.

Изучение разрушения целлюлозы лучистыми грибами

А. Н. ИБРАХИМ, М. А. ЭЛ-ШЕРБЕНЬ и М. А. А. АМИН

Университет Ал-Азар, Каир (А. Р. Е.)

Резюме

Изучили целлюлозоразрушающую активность и способность синтезировать целлюлозный энзим стрептомицетами изолированными из египетских почв. Установили, что самыми активными по разрушению целлюлозы оказались штаммы *Streptomyces violaceoruber* 1133, *Str. viridans* 581, 1130.

В качестве источников целлюлозы использовали размельченный хлопок и фильтровальную бумагу в концентрациях 2,5, 5,0 и 10,0 мг/мл. В период инкубации, в конце 1, 2, 3, 4 и 7 недели определили содержание редуцируемых сахаров.

Установили, что изученные штаммы лучистых грибов лучше развивались на целлюлозе хлопка, чем на фильтровальной бумаге. Оптимальная, с точки зрения синтеза энзима целлюлозы, оказалась концентрация 5 мг/мл. Проветривание в значительной степени увеличило целлюлозоразрушающую активность культур стрептомицет.

Три изученных штамма синтезировали оба компонента целлюлозного энзима (C_1 и C_x). Самую высокую активность по разрушению целлюлозы показал штамм *Str. violaceoruber* 1133, за ним следовал *Str. viridans* 1133 и, наконец, *Str. viridans* 581.

Целлюлозная активность C_1 достигла своего максимума на четвертый день инкубации, максимальную величину целлюлозной активности C_x наблюдали на второй день инкубации.

Табл. 1. Влияние источников целлюлозы и проветривания на целлюлозоразрушающую активность культур стрептомицет. (1) Форма инкубации: а) Фильтрат инкубации; б) Фильтрат встряхиваемой культуры. (2) Название источников целлюлозы и количество целлюлозы в мг/мл: в) Фильтровальная бумага. д) Хлопок. (3) Редуцируемые сахара мг/мл. (Измеряя в 1—7 недельный период инкубации).

Рис. 1. Продуктирование целлюлозы C_1 и C_x различными культурами стрептомицет. 1. *S. viridans* 581. 2. *S. viridans* 1130. 3. *S. violaceoruber* 1133. При продукции целлюлозы C_1 цифрами обозначили варианты получившие фильтровальную бумагу, буквой «1» — варианты с хлопком. По вертикальной оси: редуцируемые сахара, мг/мл. По горизонтальной оси: Время инкубации в днях.