

Adatok néhány kórokozó és szaprofita gomba cellulázenzim-aktivitásának vizsgálatához

D. A. ABDEL KADER, SZEGI JÓZSEF és GULYÁS FERENC

MTA Talajtani és Agrokémiail Kutató Intézete, Budapest

A cellulóz — valamennyi növény sejtfalának egyik fontos alkotórésze, ami állandóan képződik a fotoszintézis és a növények növekedése során — közel a felét teszi ki a fotoszintézis útján megkötött szerves szénnek.

A növényi cellulózfракció elbontását a talaj cellulózbontó mikroflórája végzi [4, 8, 9, 14, 15, 20]. Ebben a folyamatban fontos szerepet játszanak a talajgombák, közöttük a szaprofita és patogén szervezetek egyaránt [6, 14, 19]. Több kutató kimutatta [2, 7], hogy a *Fusarium*, a *Verticillium* és az *Alternaria* nemzetségbe tartozó kórokozó gombák között, amelyek a kultúrnövények, így a búza gyökerének a megbetegedését okozzák, intenzív cellulózbontók találhatók.

A nem-patogén gombaszervezetek — így például a *Trichoderma*, az *Aspergillus* és a *Chaetomium* nemzetséghez tartozó fajok — cellulózbontásban betöltött szerepét nagyrészt már tisztázták [3, 5, 9, 14, 16, 17]. A kórokozó gombák cellulázenzim-aktivitásának a tanulmányozása információkat nyújt arra nézve is, hogy a fertőzési mechanizmus milyen módon megy végbe. A cellulázenzim-termelés nagy mértékben elősegíti a gombák behatolását a növényi sejtekbe.

Mivel a különböző gombák cellulózbontó aktivitása nagy mértékben függ a cellulózforrástól [6, 11, 12, 18, 19, 20], többféle cellulózforrást használtunk fel laboratóriumi kísérleteinkben a vizsgált gombák cellulázenzim-aktivitásának a tanulmányozására.

Anyag és módszer

Laboratóriumi kísérletekben megvizsgáltuk, hogyan bontják el a cellulózt a fertőzött búzanövényekből izolált különböző patogén *Fusarium* törzsek és a növények rhizoszférájából izolált szaprofita gombák.

50–50 ml ásványi tápoldatot (összetétele: 1000 ml desztillált vízben 1 g NH_4NO_3 , 0,5 g KCl, 1,5 g KH_2PO_4 és 0,5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$) tartalmazó, 100 ml-es Erlenmeyer-lombikok első csoportjánál szűrőpapírt (Whatman 1), második csoportjánál gyapotvattát, harmadik csoportjánál cellulózport (MN 300) — amelynek a lebegését a tápoldatban „tween 80” hozzáadásával javítottuk — alkalmaztunk cellulózforrásként. Valamennyi cellulózforrást 2%-nak megfelelő mennyiségben adagoltuk a lombikokba.

A vizsgálatok során öt *Fusarium* törzs és 26 szaprofita gomba cellulózbontó képességét határoztuk meg. Az oltást a gombák micélium-szuspenziójának bevitelével végeztük. Az ismétlések száma négy volt.

A gombák cellulolitikus aktivitását 2 hónapos inkubáció után határoztuk meg. Mértük a tápoldatba bevitt cellulóz súlycsökkenését, és a tápoldatból kimutatható redukáló cukrok mennyiségét [10].

Kísérleti eredmények

A kapott eredmények azt mutatták, hogy mind a növényi kórokozó, mind a szaporfita gombák képesek a különféle cellulózforrások elbontására.

1. A szűrőpapír elbontása

Az 1. táblázat adataiból látható, hogy amikor szűrőpapír volt az egyedüli szénforrás, két hónap után a *Fusarium oxysporum* bizonyult a legintenzívebb cellulózbontónak (88,73%), és a redukálócukor-termelése is magas volt (196,50 µg).

COOPER és WOOD [2] beszámoltak arról, hogy a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, ami a paradicsomnövények hervadását okozza, jellegzetesen kizárólag a vaszkuláris elemekben jelenik meg, és ott termeli a betegség szimptomáit okozó anyagokat. Azt is megemlítették, hogy ez a gomba könnyedén termel in vitro olyan enzimeket, amelyek a növényi sejtek falában levő különböző poliszacharidákat degradálják, és bizonyíték van arra, hogy ezek közül az enzimek közül egy vagy több szerepet játszhat a hervadási szindrómában.

A *Fusarium solani* két izolátuma közül az egyik nagy-, a másik kis-mértékben bontotta el a cellulózt, de mindkettő nagyjából azonos mennyiségű redukáló cukrot termelt. Ez valószínűleg az izolátumok azon képességének tudható be, hogy cellulázenzimeket termelnek, amelyek elbontják a szűrőpapírt, és a dekompozíció végtermékeként redukáló cukrok keletkeznek.

Néhány szaprofita gomba igen aktívan bontotta el a szűrőpapírt. Közülük a *Botryotrichum piluliferum* bizonyult a leghatékonyabb cellulózbontónak, és a redukálócukor-termelése is magas volt. SIU [14] beszámolt arról, hogy a nagy cellulózbontó képességű gombák között a *Botryotrichum*-fajok igen gyakoriak.

A *Trichoderma harzianum*₂ és a *Trichoderma koningi*₁ szintén nagymértékben bontotta a cellulózt. A vizsgált szaprofita izolátumok közül az utóbbi volt az, amelynek a hatására a legtöbb redukáló cukor képződött. WABNEGG és munkatársai [20] beszámoltak különböző *Trichoderma* izolátumokról, amelyek hatékonyan elbontották a szűrőpapírt, amikor az volt az egyedüli szénforrás. Azt is megjegyezték, hogy a *Trichoderma* normális cellulolitikus törzseinek az esetében összefüggést figyeltek meg a szűrőpapír elbontásának mértéke és a redukáló cukrok képzése között.

HANKIN és ANAGNOSTAKIS [6] megállapították, hogy amikor natív gyapotcellulózt alkalmaztak egyedüli szénforrásként, sok hétbe telt, amíg meg tudták állapítani, vajon a vizsgált tenyészetek termelnek-e cellulózt, de amikor kezelt cellulózokat használtak, a szükséges inkubációs idő jelentősen csökkent.

A legkevesebb cellulózt az *Ulocladium botrytis* és a *Talaromyces*-fajok bontották el, és nagyjából azonos mennyiségű redukáló cukrot termeltek (1. táblázat).

1. táblázat

Kórokozó és szaprofita gombák cellulázenzim-aktivitása különböző cellulózforrások alkalmazása esetén

(1) Gombatörzsek	(2) Szűrőpapír		(5) Gyapottvatta		(6) Cellulózpor	
	(3) Elbontott cellulóz, %	(4) Redukáló cukor, µg	(3) Elbontott cellulóz, %	(4) Redukáló cukor, µg	(3) Elbontott cellulóz, %	(4) Redukáló cukor, µg
a) Kórokozó gombák						
<i>Fusarium oxysporum</i>	88,73	196,50	4,40	28,80	22,30	20,00
<i>Fusarium solani</i> ₁	85,30	65,00	45,40	36,05	20,30	28,80
<i>Fusarium solani</i> ₂	12,50	59,30	9,70	25,60	23,50	31,50
<i>Fusarium ventricosum</i> ₁	30,39	32,05	7,80	32,00	23,60	23,90
<i>Fusarium ventricosum</i> ₂	30,80	33,65	15,30	46,50	29,20	31,20
b) Szaprofita gombák						
<i>Mucor racemosus</i>	33,05	28,80	5,90	33,65	41,20	28,80
<i>Ulocladium botrytis</i>	15,14	27,40	1,20	28,80	22,80	27,20
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	49,04	32,05	33,00	43,25	25,90	119,35
<i>Talaromyces</i> sp.	14,42	31,20	26,20	32,85	26,50	29,60
<i>Bysochlamys fulva</i>	45,10	40,85	26,80	28,00	18,90	0,00
<i>Chaetomium</i> sp.	64,79	59,30	49,20	28,80	27,80	119,00
<i>Botryotrichum piluliferum</i>	95,80	223,50	29,40	31,20	22,80	28,08
Steril micelium ₁	18,16	27,20	12,70	33,65	12,50	26,40
Steril micelium ₂	79,28	108,15	19,30	29,60	14,70	23,20
Steril micelium ₃						
(Basidiomycetes)	67,71	32,05	50,70	33,60	2,20	28,08
<i>Aspergillus ustus</i>						
(éretlen cleistothecia)	69,80	131,00	29,60	32,05	11,40	21,60
<i>Aspergillus ustus</i>	41,66	65,00	25,10	32,00	31,00	28,08
<i>Penicillium</i> sp.						
(Monoverticillata sectio)	83,10	98,55	41,90	35,25	12,00	27,20
<i>Penicillium</i> sp.						
(Fasciculata sectio)	18,28	225,60	5,90	24,00	10,70	27,20
<i>Penicillium</i> sp.						
(Asymmetrica sectio)	55,20	26,00	41,50	26,40	11,60	26,40
<i>Penicillium cyclopium</i> ₁	24,38	25,60	9,70	24,00	21,80	27,20
<i>Penicillium cyclopium</i> ₂	16,48	28,80	2,40	31,20	17,30	28,08
<i>Penicillium brevi-compactum</i>	26,86	28,80	6,20	32,25	28,90	28,08
<i>Penicillium</i> sp.	70,00	84,50	34,40	32,25	12,90	25,60
<i>Trichoderma pseudokoningi</i>	45,04	56,10	27,10	32,05	16,70	28,08
<i>Trichoderma harzianum</i> ₁	49,70	95,35	29,90	33,60	29,40	43,25
<i>Trichoderma harzianum</i> ₂	80,70	202,50	30,20	39,25	24,70	30,40
<i>Trichoderma harzianum</i> ₃	47,94	29,60	27,50	28,80	14,90	26,40
<i>Trichoderma konignii</i> ₁	76,60	375,00	26,70	27,20	8,60	24,00
<i>Trichoderma konignii</i> ₂	48,60	98,55	36,00	32,00	12,50	24,20
<i>Trichoderma aureoviride</i>	43,24	103,35	37,10	38,45	24,50	23,90

2. Gyapottvatta elbontása

A táblázat adataiból látható, hogy amikor gyapottvatta volt az egyedüli szénforrás, a különböző kórokozó és szaprofita gombák izolátumainak a cellulózbontó aktivitása, illetve redukálócukor-termelése egyaránt viszonylag alacsony volt.

A legtöbb cellulózt a *Fusarium solani*₁ bontotta el a növényi kórokozó gombák közül (45,4%), és viszonylag sok redukáló cukrot képezett. A *Fusarium oxisporum*, amely szűrőpapír esetében a legtöbb cellulózt értékesítette, a gyapotvatta-cellulózt csak kis mértékben támadta meg. A különböző *Fusarium*-izolátumok közül a *Fusarium ventricosum*₂ termelte a legtöbb redukáló cukrot. A megfigyelt jelenségek magyarázata feltehetőleg a vattarostok komplex szerkezetében rejlik. A rostok molekulái mind amorf, mind nagy számú kristályos komponenst tartalmaznak, és ilyen szerkezetű anyag esetében csökken az enzimhatás.

HANKIN és ANAGNOSTAKIS [6] megállapítása a natív, illetve a kezelt cellulóz alkalmazása közötti különbségről — amit a szűrőpapírral kapcsolatban tettek — a gyapotvatta esetében is érvényes.

Egy steril micélium izolátum (*Basidiomycetes*) és egy *Chaetomium*-faj, bontotta el százalékosan a legtöbb cellulózt a kísérletbe vont gombák közül. SIV [14] megállapította, hogy talajviszonyok között néhány bazidiomiceta és *Chaetomium*-fajhoz tartozó gomba indítja be a cellulózbontás folyamatát, oly módon, hogy cellulázenzimeket szintetizál és juttat be a tápközegbe. A celluláz enzimszisztéma tagjai a tápközegben feloldják a cellulózt.

REESE és munkatársai [13] azt találták, hogy bizonyos mikroszervezetek képesek növekedni a vegyi kezeléssel depolimerizált cellulózzsármazékokon, de natív cellulózon nem. Ebből két celluláz létezésére következtettek: ezek a C₁ és C_x enzimek. A C₁ enzim képes arra, hogy a rostos gyapotcellulózból lineáris glukozanhidrid-láncokat hasítson le, amelyeket aztán egy másik celluláz (C_x enzim) depolimerizál.

A többi vizsgált szaprofita gombához képest a *Trichoderma harzianum*₂ és a *Cladosporium sphaerospermum* izolátumai viszonylag nagy mennyiségű redukáló cukrot termeltek, és a gyapotvattából közel azonos mennyiségű cellulózt bontottak el. Ennek az lehet az oka, hogy a két szóbanforgó gomba celluláztermelése nagyjából megegyezik.

3. A cellulózpor elbontása

Amikor MN 300 cellulózport alkalmaztunk egyedüli szénforrásként, a különféle gombák általában kevesebb cellulózt bontottak el, mint a szűrőpapír esetében, míg a kapott értékek nagyjából megegyeztek azokkal, amelyeket gyapotvatta-szénforrás esetében kaptunk.

Amint az a táblázatból látható, a különböző *Fusarium*-izolátumok alacsonyabb százalékban degradálták a cellulózport és a redukálócukor-termelésük is alacsony volt. Ez valószínűleg a szénforrás komplex szerkezetének tudható be. A különféle *Trichoderma*-izolátumok közül a *Trichoderma harzianum*₁ bontotta el a legtöbb cellulózt és termelte a legtöbb redukáló cukrot, és sorrendben utána a *Trichoderma harzianum*₂ következett. HALLIWELL [5] megállapította, hogy a *Myrothecium verrucaria* ugyanolyan mértékben támadja meg a Whatman cellulózport, mint a természetes gyapotrostokat, azonban a golyós malomban megőrölt natív gyapotot könnyebben tudják megtámadni az enzimek.

A *Cladosporium sphaerospermum* és a *Chaetomium*-izolátumok hasonló százalékban bontották el a cellulózport, és azonos nagy mennyiségben termeltek redukáló cukrot is. Ez alighanem annak tudható be, hogy cellulázenzimeket — többek között β -glucosidase enzimet — hoznak létre.

Összefoglalás

A vizsgált kórokozó és szaprofita gombák többsége képes volt a különböző cellulóz szénforrásokat egyedüli szénforrásként hasznosítani.

A vizsgált gombák legkönnyebben a szűrőpapír-cellulózt bontották el, valószínűleg azért, mert annak a molekulái sokkal több amorf komponenset tartalmaznak, mint kristályost és ez elősegíti az enzimek működését.

Egyugyanazon gombanemzetséghez tartozó izolátumok közül némelyik nagy százalékban bontja el a cellulózt, mások viszont nem, mint pl. a *Trichoderma* esetében. Ezt valószínűleg eltérő cellulázenzim — különösen a β -glucosidase — termelésük okozza. A β -glucosidase a cellobiózt a redukáló cukor szintjére degradálja.

Valamennyi izolátum viszonylag kevésbé hatásosnak bizonyult a gyapotrost-cellulóz és a MN 300 cellulózpor elbontásában. Ennek az lehet az oka, hogy e két szénforrás — a könnyen elbontható szűrőpapír-cellulózzal ellentétben — komplex szerkezetű cellulózmolekulákat tartalmaz.

Irodalom

- [1] BELLANY, W. D.: Cellulose as a source of single cell protein — a preliminary evaluation. General Electric Report No. 69-C-335. 1969.
- [2] COOPER, R. M. & WOOD, R. K. S.: Induction of synthesis of extracellular cell-wall degrading enzymes in vascular wilt fungi. *Nature*. **246**. 309–311. 1973.
- [3] EGGINS, H. O. W. & PUGH, G. J. F.: Isolation of cellulose-decomposing fungi from the soil. *Nature*. **193**. 94–95. 1962.
- [4] GARRETT, S. D.: Soil fungi and soil fertility. Pergamon Press. London. 1963.
- [5] HALLIWELL, G.: The action of cellulolytic enzymes from *Myrothecium verrucaria*. *Biochem. J.* **79**. 185–192. 1961.
- [6] HANKIN, L. & ANAGNOSTAKIS, S. L.: Solid media containing carboxymethylcellulose to detect C_x cellulase activity of micro-organisms. *J. Gen. Microbiol.* **98**. 109–115. 1977.
- [7] HASIJA, S. K., GULYÁS, F. & SZEGI, J.: Cellulose decomposition by phytopathogenic species of *Alternaria*. *Acta Phytopath.* **14**. (1–2) 13–15. 1979.
- [8] MANDELS, M. & REESE, E. T.: Induction of cellulase in fungi by cellobiose. *J. Bact.* **79**. 816–826. 1960.
- [9] MANDELS, M., PARRISH, F. W. & REESE, E. T.: Sophorose as an inducer of cellulase in *Trichoderma viride*. *J. Bact.* **83**. 400–408. 1962.
- [10] MILLER, G. L.: Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* **31**. 426–428. 1959.
- [11] PARK, D.: A modified medium for isolation and enumeration of cellulose decomposing fungi. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* **60**. 148–151. 1973.
- [12] RAUTELA, G. S. & COWLING, E. B.: Simple cultural test for relative cellulolytic activity of fungi. *Appl. Microbiol.* **14**. 892–898. 1966.
- [13] 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.
- [14] SIU, R. G. H.: Microbial decomposition of cellulose with special reference to cotton textiles. Reinhold. New York. 1951.
- [15] SZEGI, J.: Vlijanie pH na razvitie nekotoryh cellulozorazlagajusesih mikroorganizmov. *Agrokémia és Talajtan. Suppl.* **13**. 73–78. 1964.
- [16] TANSEY, M. R.: Isolation of thermophilic fungi from self-heated, industrial wood chip piles. *Mycologia*. **63**. 537–547. 1971.
- [17] TANSEY, M. R.: Agar-diffusion assay of cellulolytic ability of thermophilic fungi. *Arch. Microbiol.* **77**. 1–11. 1971.
- [18] TOYAMA, N.: Synthesis of decomposition of cellulose by microorganisms. *J. Fermentation Technol.* **39**. 511–519. 1961.

- [19] WABNEGG, F., MESSNER, K. & RÖHR, M.: Abbau von Zellulose und Lignin durch Basidiomyzeten. *Holzforschung und Holzverwertung*. **30**. (415) 79–80. 1978.
- [20] WABNEGG, F., MESSNER, K. & RÖHR, M.: A screening method for the estimation of filter paper activity. *J. Gen. Microbiol.* **117**. 267–269. 1980.

Érkezett: 1981. szeptember 25.

Determination of Cellulase Enzyme Activities of Pathogenic and Non-pathogenic Fungi

D. A. ABDEL KADER, J. SZEGI and F. GULYÁS

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

Summary

Comparative experiments were conducted to determine the cellulase enzyme activities of pathogenic fungi (5 *Fusarium* species isolated from the roots of infected wheat plants) and saprophytic fungi (26 species).

The study of the cellulase enzyme production of pathogenic fungi may provide information on the mechanism of infection, and it may facilitate the evaluation of how pathogenic a fungus species is for plants.

50–50 ml of mineral nutrients dissolved in distilled water (1.0 g NH_4NO_3 , 0.5 g KCl, 1.5 g KH_2PO_4 and 0.5 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ in 1 liter distilled water) were poured into 100 ml Erlenmeyer flasks. The flasks were divided into 3 groups and to each group a different cellulose source (viz. Whatman No. 1 filter paper, cotton fibers and cellulose powder MN 300 – tween 80) was added at a rate of 2%. (Of the different cellulose sources it is the cotton fiber that corresponds most to native plant cellulose in quality.) Then each group of flasks was inoculated with 5 isolates of *Fusarium* and 26 isolates of various saprophytic fungi.

Detection of the cellulolytic activities of the fungi was carried out after 2 months, in two different ways. In the first group the changes in the amounts of cellulose were determined, while in the second group the end products of cellulose degradation – in the form of reducing sugars – were measured.

According to our findings it was filter paper cellulose that was the most easily decomposed by the fungi examined. This may be due to the fact that its molecules contain more amorphous components than crystalline ones, and this facilitates enzyme activity. It was observed that the cellulose decomposing abilities of the various isolates of the same genus – for instance those of *Trichoderma* – may differ considerably. This is probably caused by their differing cellulase enzyme productions – especially the production of β -glucosidase. The latter enzyme degrades cellulose to the reduced glucose level.

Most of the isolates showed relatively low efficiency in decomposing cellulose in the form of cotton fibers or cellulose powder MN 300. In all probability this may be attributed to the structure of the cellulose molecules of both sources which is more complex than that of the cellulose molecules of filter paper.

Table 1. Cellulase enzyme activity of certain pathogen and saprophytic fungi as affected by various sources of cellulose. (1) Fungal strain. a) pathogenic fungi; b) saprophytic fungi. (2) Filter paper. (3) Decomposed cellulose, %. (4) Amount of reducing sugars, μg . (5) Cotton fibers. (6) Cellulose powder.

Angaben zur Cellulaseaktivität einiger pathogenen und saprophyten Pilze

D. A. ABDEL KADER, J. SZEGI und F. GULYÁS

Forschungsinstitut für Bodenkunde und Agrikulturchemie der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, Budapest

Zusammenfassung

Die Cellulaseaktivität einiger pathogenen (aus den Wurzeln erkrankter Weizenpflanzen isolierten *Fusarium*-Arten) und saprophyten Bodenpilze wurde untersucht und verglichen.

Die Kenntnis der Bildung von der Cellulase pathogener Pilze kann uns über den Infektionsmechanismus informieren und zur Beurteilung der Ansteckungsfähigkeit beitragen. Zum Zweck der Untersuchung wurden verschiedene Cellulose-Substrate verwendet, so z. B. Filterpapier (Whatman 1), reine Baumwolle (Watte) und Cellulosepulver (MN-300). Unter diesen steht die Qualität der Watte der nativen Pflanzencellulose am nächsten. Die verschiedenen Cellulosearten wurden in einem flüssigen Nährmedium von mineralischer Zusammensetzung als einzige Kohlenstoffquelle verwendet. Die Untersuchungen wurden an 5 *Fusarium* und 26 saprophyten Pilzisolaten durchgeführt.

In 100-ml-Erlenmeyer-Kolben wurden je 50 ml Nährlösung (Zusammensetzung auf 1000 ml: 1 g NH_4NO_3 , 0,5 g KCl, 1 g KH_2PO_4 , 0,5 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) mit je 2%-igem Cellulose-Gehalt gegeben und diese wurde mit den Isolaten geimpft. Die Cellulaseaktivität der Pilze wurde nach 2 Monaten auf zweierlei Weisen bestimmt. Wir ermittelten entweder die Änderung der Cellulosemengen oder die Menge der reduzierenden Zucker als Endprodukt der Cellulasewirkung.

Die untersuchten Pilze haben am leichtesten die Filterpapiercellulose zersetzt, wahrscheinlich wegen dem Überwiegen der amorphen Komponenten unter ihren Molekülen, die die Wirksamkeit der Enzyme besser förderten als die kristallinen.

Unter den Isolaten der gleichen Pilzgeneration zersetzten nur einige die Cellulose in grossem Ausmass, wie z. B. im Falle von *Trichoderma*. Dies wird aus der Abweichung ihrer Cellulaseproduktionsfähigkeit — besonders ihrer unterschiedlichen Fähigkeit in der Glucosidase-Erzeugung — folgen. Die Glucosidase degradiert nämlich die Cellulose bis auf das Niveau der reduzierenden Zucker.

Sämtliche Isolate erwiesen sich verhältnismässig weniger wirksam bei der Zersetzung von Baumwollfasern (Watte) und vom Zellulosepulver MN-300. Der Grund dafür kann im Vergleich mit der Filterpapiercellulose in der komplexeren Struktur dieser Kohlenstoffquellen liegen.

Tab. 1. Cellulaseaktivität von pathogenen und saprophyten Pilzen bei verschiedenen Cellulosequellen. (1) Pilzstämme: a) Pathogene Pilze; b) Saprophytenpilze. (2) Filterpapier. (3) Zersetzte Cellulose, %. (4) Reduzierende Zucker, μg . (5) Baumwollwatte. (6) Cellulosepulver.

Данные к анализу целлюлозоэнзимной активности некоторых патогенных и сапрофитных грибов

Д. А. АБДЕЛ КАДЕР, Й. СЕГИ и Ф. ГУЯШ

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

Резюме

Провели сравнительные исследования с целью определения целлюлозной активности некоторых патогенных (виды *Fusarium* изолированные с корней больной пшеницы) и сапрофитных почвенных грибов.

Изучение образования энзима целлюлозы патогенными грибами может дать информацию для познания механизма заражения и для оценки способности возбудителя. Для исследований использовали различные целлюлозные субстраты — фильтровальную бумагу (Ватман 1), хлопковую вату и целлюлозную пыль (MN—300). Из них хлопковая вата стоит

наиболее близко к нативной растительной целлюлозе. Различные целлюлозы являлись единственным источником углерода в жидкой минеральной питательной среде. Исследования провели с пятью изолированными *Fusarium* и 26-ю сапрофитными рондами.

В 100 мл колбы Эрленмейера внесли 50–50 мл питательного раствора (состав на 1000 мл.: $\text{NH}_4\text{NO}_3 = 1 \text{ г}$, $\text{KCl} = 0,5 \text{ г}$, $\text{KH}_2\text{PO}_4 = 1 \text{ г}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 0,5 \text{ г}$) и целлюлозу в количестве соответствующем 2%, затем инокулировали изолированными грибами. Целлюлозную активность грибов через два месяца оценили двумя способами. В первой группе определили количественное изменение целлюлозы, во второй группе измерили конечный продукт разрушения целлюлозы, находящейся в форме редуцируемого сахара.

Изученные грибы легче всего разрушили целлюлозу фильтровальной бумаги, по всей вероятности потому, что ее молекулы содержат аморфных компонентов больше чем кристаллических и это способствовало деятельности энзимов.

Из изолированных грибов, относящихся к одному и тому же роду, одни в значительной мере разрушают целлюлозу, другие нет, как например в случае *Trichoderma*. Предполагается, что это происходит за счет различного производства энзимов целлюлозы, особенно β -глюкозидазы. β -глюкозидаза деградирует целлюлозу до уровня редуцируемого сахара.

Все изолированные грибы оказались относительно менее эффективными в отношении разрушения целлюлозы хлопковой ваты и целлюлозной пыли МН-300. Причина этого может заключаться в том, что это два источника углерода — в противоположность легко разрушаемой целлюлозе фильтровальной бумаги — содержат молекулы целлюлозы комплексной структуры.

Табл. 1. Целлюлозо-энзимная активность сапрофитных и патогенных грибов при различных источниках углерода. (1) Виды грибов. а) Патогенные грибы. б) Сапрофиты. (2) Фильтровальная бумага. (3) Разрушенная целлюлоза, %. (4) Редуцируемый сахар, $\mu\text{г}$. (5) Хлопковая вата. (6) Целлюлозная пыль.