

Néhány talajgomba enzimkiválasztása

D. BAKALIVANOV,

Puskarov Talajtani Intézet, Szófia (Bulgária)

Az utóbbi időben a biológiai tényezők szerepe a növények táplálkozásában mind nagyobb fontosságot nyer. Ennek a problémának a megoldása közvetlen kapcsolatban van egyes biológiailag aktív anyagoknak a talajmikroflóra által történő kiválasztásával.

Az ezzel kapcsolatban végzett kutatások (GALIKEEV [6]) azt mutatják, hogy a talajgombák biológiai aktivitása enzimkiválasztásuk függvénye. Ugyanez idéz elő számos folyamatot a talaj szervesanyagának lebontásánál, ami a növények táplálkozási viszonyait megjavítja. REMPE [9] megállapította, hogy a növények mikroorganizmusokkal történő beoltásánál a stimuláló hatást a kataláz, a peroxidáz, az amiláz és a proteáz enzimek okozzák.

Anyag és módszer

Vizsgálatainkhoz Bulgária különböző talajaiból izolált és a szófiai Puskarov Talajtani Intézet gyűjteményéből származó talajgombákat használtunk fel. Meghatároztuk a Czapek tápoldatban 10 napig tenyésztett gombák kataláz-, ureáz-, szaharáz-, celluláz-, proteáz- és amiláz enzim kiválasztását. A kataláz enzimet titrimetrikusan, az ureáz enzimet Nessler reagenssel, a szaharázt Bertrand módszerével, a cellulázt, proteázt és amilázt DINGLE, REID és SOLOMONS [4, 5] CSOLAKOV és munkatársai [3] által módosított agar-diffúziós módszerével határoztuk meg. A táblázatban közölt elemzési adatokból megállapítható, hogy a talajban leginkább elterjedt mikrogombák többségének tenyészoldatából katalázenzim vonható ki. Ezen enzim legaktívabb termelője az *Aspergillus flavus* Y, 0 és 13. törzsei. A *Penicillium purpurogenum*, *Penicillium canescens*, az *Aspergillus oryzae*, a *Trichoderma viride* és más fajok a kataláz enzimet kisebb mennyiségben állítják elő. A vizsgált többi gomba nem bizonyult aktív enzimtermelőnek. A vizsgálatok eredményei a mellékelt táblázatban kerülnek bemutatásra.

Az eredmények megbeszélése

A talajmikroorganizmusok kataláz enzim kiválasztásának nagy jelentősége van a hidrogénperoxid, bizonyos alkoholok és egyéb anyagok elbontásánál a talajban. Ezek az enzimek elősegítik a talaj által tartalmazott szervesanyagok elbontási folyamatait. A katalázaktivitás közvetlen kapcsolatban van a talaj termékenységével. Az ezzel kapcsolatosan végzett kutatásokból (PEJVE [8]) megállapítható, hogy a termékeny talajok nagyobb mennyiségű aktív kataláz enzimet tartalmaznak, mint a terméketlen talajok.

1. táblázat

Néhány gombatörzs enzimaktivitása 1 ml tápoldatban

(1) A gombatörzsek neve	(2) Katalízis aktivitás elbon- tott H ₂ O ₂ mg	(3) Ureáz		(4) Szaharáz	(5) Celluláz	(6) Proteáz	(7) Amiláz	
		Termelt		NH ₃ µg	invert cukor mg	Japán egységben		
1. <i>Aspergillus flavus</i> 13	2,4	11	1,1	88	42	58		
2. <i>Aspergillus flavus</i> Y	2,62	10	0,9	19	14,5	—		
3. <i>Aspergillus flavus</i> 187	1,96	10	1,1	40	nyom	15		
4. <i>Aspergillus flavus</i> O	2,47	8	1,3	—	—	—		
5. <i>Aspergillus flavus</i> B	2,21	13	10,6	—	—	—		
6. <i>Aspergillus flavus</i> Z	2,06	9	0,2	—	—	—		
7. <i>Aspergillus flavus</i> 17	0,38	4	—	—	—	—		
8. <i>Aspergillus flavus</i> -Plovdiv	0,26	8	8,0	—	—	—		
9. <i>Aspergillus oryzae</i> D B	2,20	9	12,7	47	43	—		
10. <i>Aspergillus oryzae</i>	1,48	12	—	—	—	—		
11. <i>Penicillium canescens</i>	1,50	11	4,0	10	—	—		
12. <i>Aspergillus ventii</i>	1,42	5	0,7	38	—	—		
13. <i>Trichoderma viride</i>	1,36	6	—	—	—	—		
14. <i>Trichoderma lignorum</i>	1,88	11	0,14	34	—	—		
15. <i>Penicillium purpurogenum</i> D B	1,53	40	0,1	nyom	—	—		
16. <i>Penicillium purpurogenum</i> E4	1,29	9	0,7	nyom	—	—		
17. <i>Penicillium purpurogenum</i>	1,17	10	—	—	—	—		
18. <i>Penicillium lilacinum</i>	1,07	11	2,7	14,9	nyom	—		
19. <i>Aspergillus pulverulentus</i>	1,07	10	—	12,0	—	—		
20. <i>Aspergillus terreus</i> E	0,68	6	3,7	—	—	—		
21. <i>Aspergillus terreus</i> 120	0,35	13	4,0	—	—	—		
22. <i>Aspergillus terreus</i> D B	0,17	5	2,0	1	15	—		
23. <i>Aspergillus minimus</i>	0,31	3	1,1	1	14	—		
24. <i>Aspergillus niger</i> A—32	0,41	5	6,1	10	—	—		
25. <i>Aspergillus niger</i> D B	0,29	9	4,3	32	—	—		
26. <i>Paecilomyces varioti</i>	0,29	6	4,3	14,5	—	nyom		
27. <i>Penicillium cyclopium</i>	0,24	7	8,0	32	—	—		
28. <i>Penicillium candido-fulvum</i>	0,24	2	—	nyom	—	—		
29. <i>Penicillium funiculosum</i>	0,17	9	—	10	—	—		
30. <i>Fusarium moniliforme</i>	0,17	2	4,3	—	—	—		
31. <i>Aspergillus sulfureus</i> D B	0,17	7	10,0	—	—	—		
32. <i>Aspergillus fumigatus</i> D B	0,14	8	0,8	—	—	—		
33. <i>Aspergillus clavatus</i>	0,14	5	—	—	—	—		
34. <i>Aspergillus flavipes</i>	—	—	8,0	nyom	—	—		
35. <i>Penicillium ochraceus</i> D B	—	—	—	—	—	—		
36. <i>Aspergillus archiflavipes</i> A—28	0,07	11	2,0	1	—	—		
37. <i>Aspergillus tamarii</i>	0,02	20	6,5	—	—	—		
38. <i>Aspergillus rubeosus</i>	0,05	10	3,7	1	—	—		
39. <i>Aspergillus ochraceus</i>	0,17	10	5,0	13,5	—	—		
40. <i>Aspergillus ustus</i>	0,05	9	—	—	—	—		

Az ureáz enzim résztvesz bizonyos nitrogéntartalmú anyagok ammonifikálásában és a talaj nitrogénkörforgalmának és nitrogényensúlyának egyik tényezője. Ezen oknál fogva vizsgálat tárgyává tettük néhány a talajban eléggé elterjedt gomba ureáz enzim kiválasztását. Ezen elemzés adataiból megállapítható, hogy a *Penicillium purpurogenum* D. B., az *Aspergillus tamarii*, *Aspergillus flavus* B. és az *Aspergillus terreus* C 120 törzsek választják

ki a legnagyobb mennyiségben az aktív ureáz enzimet. A többi vizsgált gombatörzs is termel ilyen fermentet, de kisebb mértékben, mint a fentiek.

Megállapítottuk továbbá, hogy a bolgár talajokban nagyon elterjedt talajgombák szacharáz enzimet is termelnek. Ez az enzim bontja le a diszacharidokat, a triszacharidokat és nagy szerepet játszik a talajok szervesanyagának átalakulási folyamatában. Éppen ezért a termékeny talajok több szacharázt tartalmaznak, mint a terméketlen talajok (PEJVE [8]). Adataink szerint az *Aspergillus sulfureus* D. B., az *Aspergillus flavus* B., az *Aspergillus oryzae* D. B., a *Penicillium cyclopium* és egyéb törzsek a legaktívabb szacharáz-enzimtermelők.

Úgyszintén megvizsgáltuk a talajgombák celluláz, proteáz és amiláz-enzim kiválasztó tevékenységét. A celluláztermelésben a legaktívabbnak az *Aspergillus flavus* 13 (aktivitásértéke 88 japánegység) mutatkozott. Az *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Penicillium lilacinum*, *Penicillium cyclopium* celluláz kiválasztó aktivitása 32 és 47 japánegység között változott. A vizsgált egyéb gombák kevésbé aktív celluláz enzimet választanak ki. A talajmikroorganizmusok celluláz kiválasztása számottevő fontossággal rendelkezik a cellulóz elbontásánál a talajban. Vizsgálataink során megállapított celluláztermelés bizonyítja a gombák aktivitását a cellulóze elbontásánál mind üvegházi, mind szabadföldi kísérletekben, ahol a növényeket és a talajt ugyanazon talajgombák tiszta tenyészetével oltottuk be (BAKALIVANOV [1]). Ezekben a kísérletekben korrelációt figyeltünk meg a cellulóz elbomlási foka és a vizsgált gombák által termelt celluláz enzim aktivitása között.

Vizsgálatainknak megfelelően a legaktívabb proteáz enzimtermelők az *Aspergillus flavus* 13 és az *Aspergillus oryzae*. Az *Aspergillus flavus* γ, az *Aspergillus nidulans*, az *Aspergillus terreus* D. B. és egyéb törzsek szintén termelnek proteáz enzimet, de nem nagyon aktívan. Az egyéb vizsgált talajgombák proteáz enzimet nem választanak ki. TRAJNINA [10] és KUČERA [7] adatai szerint bizonyos *Aspergillus flavus* törzsek szintén a legaktívabb proteáz-enzimtermelőknek bizonyultak. Modellkísérletekben (BAKALIVANOV [2]) ezen enzim kiválasztása a fent említett talajgombák által fokozta szerepüket a talaj szervesanyagainak ammonifikálásában.

A csatolt táblázat adatai azt mutatják, hogy a vizsgált törzsek közül csak az *Aspergillus flavus* 13 és az *Aspergillus flavus* 187 törzsek termelnek amiláz enzimet. A vizsgált talajgombák között az amiláz enzim termelő képesség nem tekinthető elterjedtnek.

Az általunk végzett vizsgálatok alapján levonhatjuk azt a következtetést, hogy Bulgária talajaiban az eléggé elterjedt gombák, mint az *Aspergillus flavus*, az *Aspergillus oryzae*, az *Aspergillus terreus*, a *Trichoderma lignorum*, a *Penicillium funiculosum*, a *Paecilomyces varioti* és már törzsek életfolyamatainak során intenzíven termelnek a talajban folyó elbontási folyamatoknál fontos enzimeket, így a katalázt, az ureázt, a szacharázt, a cellulázt, a proteázt és csak az *Aspergillus flavus* néhány törzse az amilázt.

A szerző köszönetét óhajtja kifejezni Dr. CSOLAKOV, G.-nak, a Szófia Kémiai és Gyógyszervegyészeti Kutató Intézet munkatársának szíves együttműködéséért és a tanulmányozott talajgombák tenyészdadataiból a celluláz-, a proteáz- és amiláz-enzimtartalom meghatározásában nyújtott technikai segítségéért.

Összefoglalás

Bulgária talajaiban eléggé elterjedt talajgombák tenyészedatainak kémiai és agardiffúziós elemzése alapján megállapítottuk, hogy az *Aspergillus flavus*, az *Aspergillus terreus*, a *Trichoderma viride*, a *Penicillium purpurogenum* és sok egyéb gomba különböző aktivitással választja ki azokat az enzimeket, amelyek résztvesznek a talaj szervesanyagainak elbontásában. A kataláz-, az ureáz-, a szaharáz- és a celluláz enzim kiválasztó képesség a vizsgált gombák között nagyon elterjedt. A proteáz- és amiláz enzim kiválasztása csak néhány talajgombafajnál volt megfigyelhető.

Irodalom

- [1] BAKALIVANOV, D.: O vozdejsztvii indoliluksuzsnoj kiszlotü na nekotorie mikroorganizmi pocsvü. Szimp. Sztimuljacii Rasztenij, Szofia, 1966. Teziszü dokladov. Bolg. AN. 4—5. 1966.
- [2] BAKALIVANOV, D.: V"rhu biologiceszskata aktivnoszt na njakoi pocsveni mikroszkopicsni g"bi. Diss. Inszt. Poesv. Puskarov. Szofia. 1968.
- [3] CSOLAKOV, G. et al.: Celuloza ot mikroorganizmi. IV. Vlijanie na temperaturata v"rhu celuloznata aktivnoszt na g"bi ot rodovete Aspergillus i Penicillium. Tr. nauesn. iszled. him.-farmakol. inszt. Szofia. 5. 148. 1966.
- [4] DINGLE, J. & SOLOMONS, G. L.: A micro-method for the examination of the biochemical activities of microorganisms. Nature (London) 168. 425—26. 1951.
- [5] DINGLE, J., REID, W. W. & SOLOMONS, G. L.: The enzymic degradation of pectin and other polysaccharides II. Application of the "cup-plate" assay to the estimation of enzymes. J. Sci. Fd. Agric. 4. 149—155. 1953.
- [6] GALIKEEV, H. L.: O biohimieseszkoj aktivnosztü ekstraktovej nepatogennüj gribov vüdelennüj iz atmosfjernogo vozduha. Mikrobiologija. 34. 727—729. 1965.
- [7] KUČERA, M.: Preparatoni cistëni proteáze vëhosystëmu ektroforëzon na skrobu a chromatografii na D. E. M. C. Szb. Vëda a vyzkum v prmysly protravinárskëm. Praha. 16. 1965.
- [8] PEJVE, Ja. V.: Biohimija pocsv. Szel'hozgiz. Moszkva. 1961.
- [9] REMPE, E. H. & KOLTAGOVA, O. G.: Vlijanie kornevüj mikroorganizmov na razvitie i pocsvënonoe pitanie rasztenij. Agrobiologija, (5) 706—721. 1965.
- [10] TRAJNINA, T.: Vnedrenie fermentnüj preparatov v narodnoe hozjajsztvo. Dokl. vsesz. konf. vnedreniju fermentnüj preparatov, Moszkva. 1. 56—62. 1961.

Érkezett: 1968. szeptember 18.

Ferment Excretions of Some Soil Fungi

D. BAKALIVANOV

„N. Pushkarov" Soil Science Institute Sofia (Bulgaria)

Summary

On the basis of the chemical and agar-diffusive analyses of the culture solutions of some fungi rather wide-spread in Bulgarian soils, it was established that *Aspergillus flavus*, *Asp. terreus*, *Trichoderma viride*, *Penicillium purpurogenum* and many other fungi excreted with different activities the ferments taking part in the decomposition of organic substances in the soil. The ability to excrete the ferments catalase, urease, saccharase and cellulase is common among the investigated fungi. The excretion of protease and amylase could only be observed in a few species and strains of soil fungi.

Table 1. Ferment activity of some fungi strains in 1 ml medium. 1) Names of fungi strains, 2) Catalase activity, decomposed H_2O_2 mg. 3) Urease, produced NH_3 mg. 4) Saccharase, produced invert sugar mg. 5) Cellulase. 6) Protease and 7) Amylase given in Japanese units.

Über die Enzymausscheidung einiger Bodenpilze

D. BAKALIVANOV

„Puschkaroff“ Institut für Bodenkunde, Sofia (Bulgarien)

Zusammenfassung

Auf Grund der chemischen, sowie Agardiffusionsanalysen der Nährlösungen von in den bulgarischen Böden ziemlich verbreiteten Bodenpilzen wurde festgestellt, dass *Aspergillus terreus*, *Trichoderma viride*, *Penicillium purpurogenum* und noch mehrere andere Pilze diejenigen Enzyme mit verschiedener Aktivität ausscheiden, welche im Abbau der organischen Stoffe des Bodens teilnehmen. Die Fähigkeit Katalase-, Urease-, Saccharase- und Zellulaseenzyme auszuschleiden ist bei den untersuchten Pilzen recht verbreitet. Die Ausscheidung von Protease und Amylase war nur bei einigen Pilzarten zu beobachten.

Tab. 1. Enzymaktivität einiger Pilzstämmen in 1 ml Nährlösung. (1) Pilzstamm; (2) Katalaseaktivität, gespaltenes H_2O_2 mg; (3) Urease, produziertes NH_3 mg; (4) Saccharase, Invertzuckerproduktion mg; (5) Zellulase; (6) Protease; (7) Amylase, in japanischen Einheiten.

Выделение ферментов некоторыми микроскопическими почвенными грибами

Д. БАКАЛИВАНОВ

Почвенный Институт им. Н. Пушкирова, София (Болгария)

Резюме

На основании химических и агардиффузионных анализов среды выращивания почвенных грибов, наиболее распространенных в почвах Болгарии, установили, что *Aspergillus terreus*, *Trichoderma viride*, *Penicillium purpurogenum* и многие другие грибы с различной активностью выделяют ферменты, принимающие участие в разложении органического вещества почвы. В способности выделять ферменты каталазы, уреазы, сахаразы и целлюлозы среди изученных грибов наблюдаются значительные расхождения. Выделение ферментов протеазы и амилазы наблюдалось только у некоторых видов почвенных грибов.

Табл. 1. Энзимная активность некоторых штаммов грибов в 1 мл питательного раствора. (1) Наименование штамма грибов. (2) Каталазная активность, разложенная H_2O_2 мг. (3) Уреаза, продуцированный NH_3 , мг. (4) Сахараза, выход инвертного сахара в мг. (5) Целлюлоза. (6) Протеаза. (7) Амилаза, выраженная в японских единицах.