

Badania nad mikoflorą zasiedlającą przetworzone odpady keratynowe w glebie

TERESA KORNIŁOWICZ

Katedra Mikrobiologii Rolniczej AR w Lublinie

Kornilowicz T.: (Department of Microbiology Agricultural Academy in Lublin, Akademicka 15, 20-934 Lublin, Poland). *Studies on the microflora colonizing keratin-bark-urea manure*. Acta Mycol. XXVIII (1): 19-30, 1993.

The studies demonstrated the succession of physiologically differentiated communities of fungi that colonize the organic component of keratin-bark-urea manure. There were no records of any typical keratinolytic forms that represent geophilic dermatophytes and chrysospories.

WSTĘP

W ostatnich latach dla celów pozyskiwania dodatkowych środków użyźniających opracowywane są metody chemicznego przetwarzania odpadów organicznych. Efektem jednej z nich jest organiczno-mineralny nawóz o nazwie granulaty keratyno-koro-mocznikowy zawierający 23,6 % zmodyfikowanego białka keratynowego, 35,4 % mocznika, 31,5 % zmodyfikowanej kory (odpady ligno-celulozowe) i 9,5 % wody. Nawóz ten uzyskano w wyniku ogrzewania z parą wodną o temperaturze ok. 100°C piór drobiu, kory drzew iglastych i mocznika w proporcji 1:1:2 (W o l s k i et al., 1979; W o l s k i, 1985).

Ocena skutków nawożenia gleb uprawnych (gleby lekkie) granulatem keratyno-koro-mocznikowym z zastosowaniem testów mikrobiologicznych (G o s t k o w s k a, J e z i e r s k a - T y s, 1989; G o s t k o w s k a et al., 1989) ujawniła spadek aktywności metabolicznej drobnoustrojów (wyrażonej aktywnością dehydrogenazową i oddechową) oraz zaburzeniami w przemianach azotu w tym środowisku (hamowanie nitryfikacji, akumulacja toksycznych azotynów, ulatnianie amoniaku). Użyźnianie gleb lekkich tym niekonwencjonalnym nawozem wywoływało również zakłócenia w składzie zespołów mikoflory glebowej (K o r n i ł o w i c z,

1989, 1991). Wyrażały się one m.in. selekcją gatunkową w obrębie grzybów celulolitycznych oraz zmniejszeniem częstotliwości występowania gatunków keratynolitycznych.

W niniejszej pracy zbadano zasiedlanie komponenty keratyno-korowej ww. preparatu przez mikoflorę gleby lekkiej. Badaniami objęto florę grzybową uczestniczącą w przemianach złożonych białek w glebie, a więc grzyby znane z uzdolnień keratynolitycznych, jak również mikoflorę przejawiającą ogólną aktywność proteolityczną.

MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto uprawną glebę piaszczystą (gleba bielkowa wytworzona z piasku słabogliniastego). Próby gleby pobierano z pola obsianego roślinami zbożowymi (PGR Sobieszyn – woj. lubelskie). Charakterystykę podstawowych właściwości fizycznych i chemicznych, sposób pobierania i przygotowywania gleby do doświadczeń podano w innej pracy (K o r n i ł ł o w i c z, 1992).

Granulat keratyno-koro-mocznikowy otrzymano z Katedry Chemii Nieorganicznej i Analitycznej AM w Lublinie. Po rozdrobnieniu odmywano go z mocznika niezwiązanego chemicznie. Mocznik wypłukiwano wodą destylowaną aż do zaniku reakcji (B o h u o n, D e l a r n e, C o r n o y, 1967). Pozostały materiał po wysuszeniu i przesianiu przez sito o średnicy oczek 2 mm używano do badań. Zawierał on zmodyfikowaną keratynę piór i połączenia lignocelulozowe (W o l s k i, 1985). Zgodnie z tymi danymi oraz W o l s k i e g o, G l i ń s k i e g o (1989) przyjęto, że w skład komponenty zawierającej N-organiczny, obok zdenaturowanej chemicznie (w wyniku destrukcji mostków dwusiarczkowych) keratyny wchodzi polipeptydy i śladowe ilości aminokwasów powstałe w procesie amonolizy tego białka pod wpływem mocznika.

Badania mikoflory zasiedlającej przetworzoną keratynę w glebie prowadzono metodą pułapek (K o r n i ł ł o w i c z, 1992). Inkubację gleby prowadzono w temperaturze $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ przez 3; 7; 14; 30; 60; 120; 150 i 180 dni. Dla każdego terminu przygotowywano 2 powtórzenia. Woreczki z materiałem keratyno-korowym okresowo poddawano ocenie mikologicznej analizując:

1 – mikrogrzyby wyrosłe na agarze glukozowym Sabourauda z dodatkiem 30 mcg/cm^3 streptomycyny i 2 mcg/cm^3 chlorocykliny (stosowanych w pożywce Martina),

2 – grzyby wykazujące uzdolnienia proteolityczne na podłożu z 2 % żelatyną jako jedynym źródłem C, N i energii oraz w/w antybiotykami,

3 – grzyby potencjalnie keratynolityczne na agarze glukozowym Sabourauda z 500 mcg/cm^3 aktidionu (D v o ř a k, O t ě n a š e k, 1969) oraz streptomycyną i chlorocykliną (w ilościach jak podano wyżej) zamiast chloramfenicolu. Podłoże

to jest stosowane do izolacji geofilnych dermatofitów oraz przedstawicieli *Chrysosporium*, głównych destruentów materii keratynowej w glebie.

We wszystkich przypadkach analizowano 60 grudek preparatu wykładanych na 20 płytkach z odpowiednim podłożem selektywnym.

Identyfikacji grzybów dokonywano na materiale znajdującym się bezpośrednio na pożywce izolacyjnej lub w mikrokulturach po uprzednim odszczepieniu izolatów na skosy z pożywką Sabourauda bez antybiotyków.

Klasyfikację rodzajową i gatunkową prowadzono na podstawie cech makro- i mikromorfologicznych uwydatnionych w hodowlach na podłożach standardowych. Korzystano przy tym z opracowań systematycznych (Messiaen, Cassini, 1968; Skirgiełło, Zadura, 1979; Domsch, Gamsch, Anderson, 1980).

Stopień zasiedlenia substratu przez poszczególne gatunki i zespoły grzybów oceniano na podstawie częstości ich izolacji. Jako liczącą się uznano co najmniej 10 % częstotliwość występowania danego gatunku w obrębie określonej grupy fizjologicznej. Przyjęto, że o preferencji w stosunku do substratu świadczy co najmniej 25 %-owa częstość izolacji propaguli danego gatunku.

WYNIKI BADAŃ

Przeprowadzone badania wykazały różnicę w tempie zasiedlania organicznej komponenty granulatu keratyno-koro-mocznikowego przez poszczególne zespoły grzybów (tab. 1). Warte podkreślenia jest to, że grzyby odporne na aktidion – po 3 dniach od wprowadzenia preparatu do gleby – zasiedlały go jedynie w 7 %. W tym samym czasie opanowanie substratu przez grzyby rozkładające żelatynę a także wyrastające na agarze Sabourauda bez aktidionu (umownie nazwane grzybami ogólnymi), osiągało odpowiednio 25 i 28 %. Największą częstotliwość zasiedlania substratu przez wszystkie badane zespoły grzybów stwierdzono w 2-gim miesiącu doświadczenia. 100 % kolonizację zanotowano tylko w przypadku mikrogrzybów opornych na aktidion (tab. 1). W kolejnych dwóch miesiącach gęstość zasiedlenia badanego materiału przez grzyby spadała, wzrastając ponownie pod koniec badań tj. w 5 i 6 miesiącu. Efekt ten nie zaznaczył się w przypadku grzybów opornych na aktidion. Postępujący spadek wielkości zasiedlenia przetworzonych odpadów keratynowych przez te drobnoustroje wskazywałby na wyczerpywanie dostępnych dla mikoflory badanej gleby połączeń azotowych preparatu. Wydaje się prawdopodobne, że część tych polimerów była oporna na rozkład mikrobiologiczny.

Zebrane wyniki (tab. 2) wskazują na sukcesję zróżnicowanych fizjologicznie zespołów mikrogrzybów zasiedlających organiczną komponentę granulatu keratyno-koro-mocznikowego. Pierwszymi kolonizatorami były grzyby wykorzystujące proste organiczne połączenia azotu (agar Sabourauda bez aktidionu) oraz grzyby

przejawiające właściwości hydrolizowania prostych białek tj. żelatyna. Wyraźne podobieństwo składu i częstotliwości izolacji większości gatunków w obrębie ww. zespołów mikoflory wskazuje na ich zbliżone właściwości fizjologiczne, tj. zdolność do proteolizy. Brak liczącej się populacji *Mucorales* (grzyby cukrowe) wśród początkowych kolonizatorów przetworzonych piór w porównaniu do naturalnego substratu (K o r n i ł ł o w i c z, 1992) wiąże się z bardzo małą ilością prostych związków w badanym materiale (W o ł s k i, G l i ń s k i, 1989).

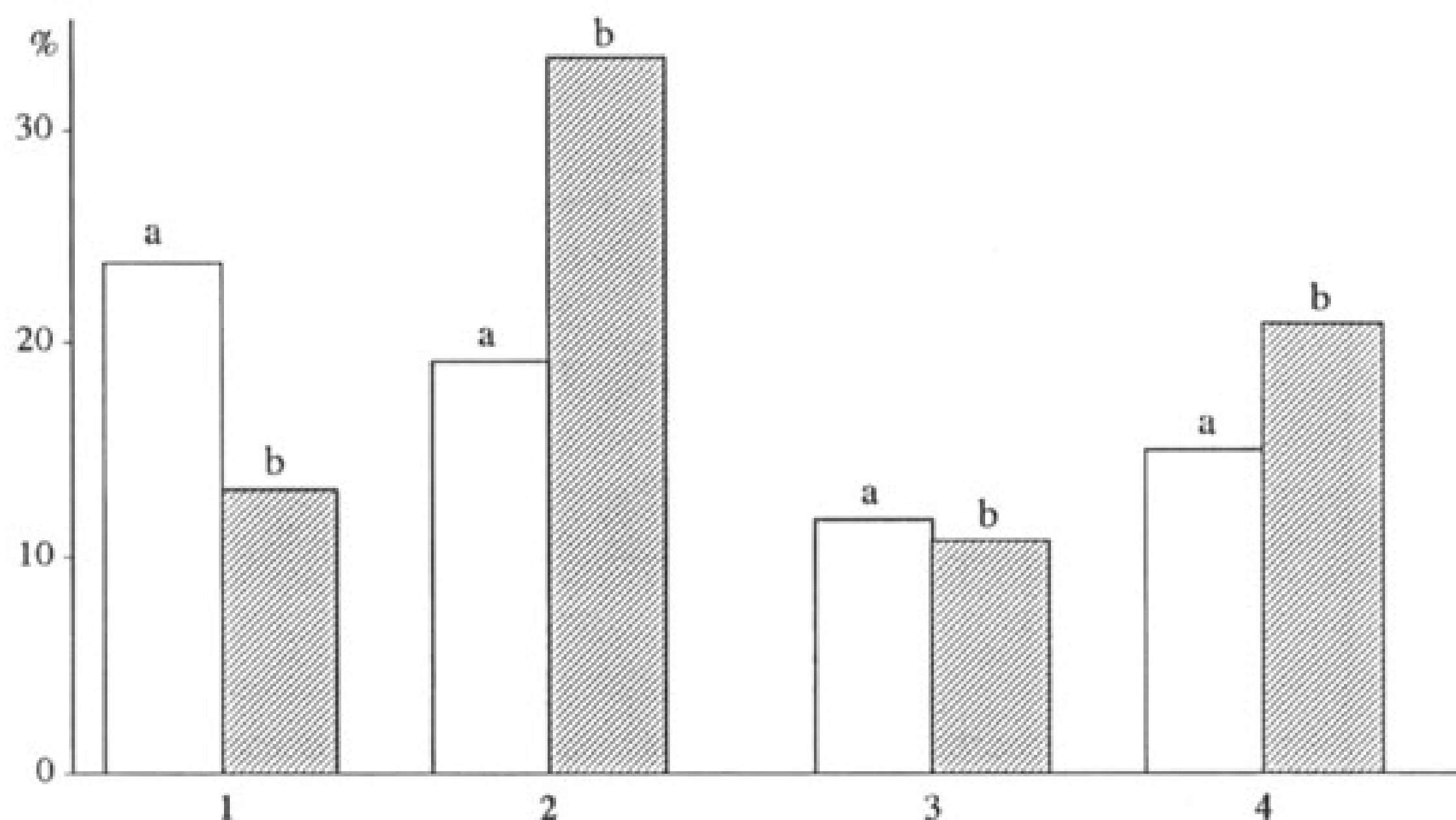
Tabela 1 – Table 1

Zasiedlanie preparatu keratynowego przez wybrane zespoły mikrogrzybów (w %)
Keratin preparation colonization by selected microfungi communities (in %)

Czas kontaktu substratu z glebą (w dniach) Time of substrate – – soil contact (in days)	Grzyby izolowane na pożywce Sabourauda bez aktidionu Fungi isolated on Sabouraud medium without actidione	Grzyby rozkładające żelatynę Fungi that decompose gelatine	Grzyby odporne na aktidion Fungi resistant to actidione
3	28,0	25,0	6,7
7	76,6	68,3	50,0
14	60,0	65,0	51,6
30	78,3	78,3	85,0
60	93,3	80,0	100,0
90	41,6	35,0	53,3
120	38,3	41,6	23,3
150	58,3	40,0	33,3
180	66,6	70,0	23,3

Obecność grzybów opornych na aktidion wyraźnie uwidoczniła się dopiero w 7-mym dniu kontaktu z glebą (tab. 1 i 2). Wolniejsze tempo wzrostu tych grzybów w porównaniu z mikoflorą przejawiającą ogólną aktywność proteolityczną (rozkładającą żelatynę) należy przypisywać powolnej enzymatycznej degradacji bardziej złożonych frakcji preparatu keratynowego. Wśród tych drobnoustrojów nie stwierdzono wszakże geofilnych dermatofitów z gatunków *Trichophyton ajelloi*, *T. terrestre* czy *Microsporum cookei* oraz przedstawicieli *Chrysosporium* reprezentujących typowo keratynolityczną mikoflorę gleby, ściśle wyspecjalizowaną w rozkładzie naturalnej keratyny w tym środowisku. Wykorzystywanie zmodyfikowanej keratyny odbywało się więc przy udziale innej, mniej wyspecjalizowanej substratowo mikoflory.

Analiza składu gatunkowego 874 wyodrębnionych izolatów grzybów wykazała, że komponent organiczny granulatu keratyno-koro-mocznikowego był zasiedlany przez 32 gatunki z 20 rodzajów, głównie grzybów niedoskonałych. Najwięcej gatunków (23) wyodrębniono na podłożu Sabourauda bez aktidionu, najmniej (9) na tej pożywce z aktidionem. Wśród najczęściej izolowanych, wyróżniono 6 gatunków grzybów (tab. 2, ryc. 1-2).

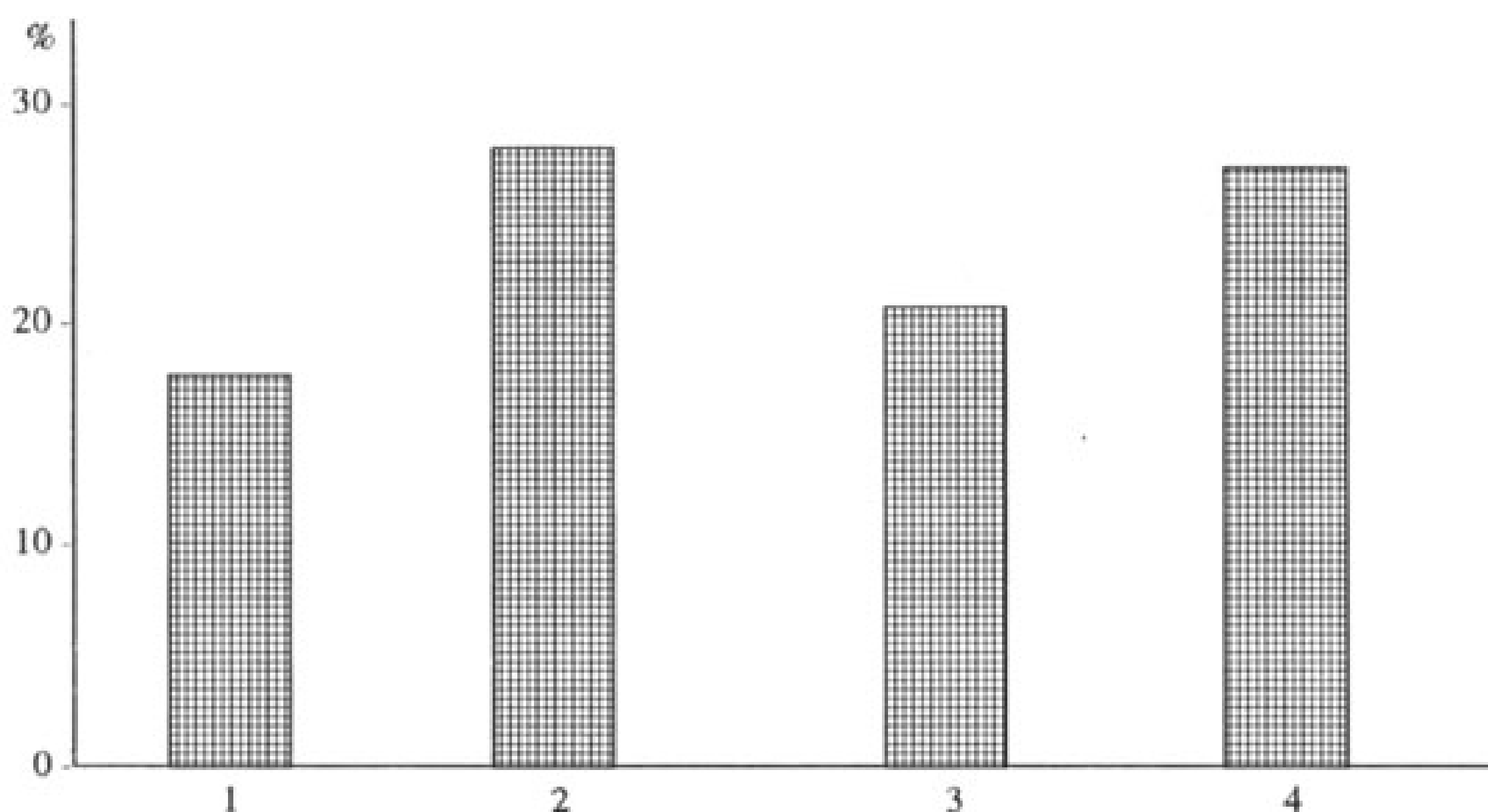


Ryc. 1. Częstotliwość izolacji wybranych gatunków grzybów wyodrębnionych na pożywce Sabourauda bez aktidionu (a) i pożywce z żelatyną (b)

Isolation frequency of selected species of fungi isolated on Sabouraud medium without actidione (a) and medium with gelatin (b)

Uwzględniono gatunki wykazujące co najmniej 10 % częstotliwość występowania w obrębie badanej populacji micromycetes – Included the species revealing at least 10 % of frequency occurrence within the examined micromycetes populations

1 – *F. oxysporum*, 2 – *F. solani*, 3 – *Penicillium* sp., 4 – *T. viride*



Ryc. 2. Częstotliwość izolacji wybranych gatunków grzybów wyodrębnionych na pożywce Sabourauda z aktidionem

Isolation frequency of selected species of fungi isolated on Sabouraud medium with actidione

Objaśnienia jak do ryc. 1 – Explanation as to Fig. 1

1 – *G. roseum*, 2 – *P. lilacinus*, 3 – *Penicillium* sp., 4 – *S. candelabrum*

Tabela 2 – Table 2

Okresowe zmiany częstotliwości izolacji grzybów wyodrębnionych na pożywce z żelatyną (A) oraz pożywce Sabourauda bez aktidionu (B) i z aktidionem (C)
 Periodical changes of isolation frequency of fungi isolated on medium with gelatine (A), Sabouraud medium without actidione (B) and with actidione (C)

Gatunek Species	Ogólna liczba izolatów Total number of isolates		Czas kontaktu substratu z glebą (w dniach) Time of substrate – soil contact (in days)																											
			3			7			14			30			60			90			120			150			180			
			A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	
<i>Aspergillus versicolor</i> (Vuill.) Tiraboschi	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary) Arnaud	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze ex Steud.	3	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link ex S. F. Gray	-	3	-	-	-	1	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cunninghamella elegans</i> Lendner	1	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	4	-
<i>Cylindrocarpon candidum</i> (Link ex S. F. Gray) Wollenw.	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Fusarium oxysporum</i> (Schlecht.) Snyer et Hans	36	73	-	-	-	-	-	-	-	6	6	-	6	20	-	7	23	-	-	2	-	6	6	-	5	13	-	6	3	-
<i>Fusarium redolens</i> Wollenw.	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.	108	62	-	-	-	-	-	-	-	18	14	-	26	8	-	28	11	-	7	8	-	4	3	-	7	6	-	18	12	-
<i>Gliocladium roseum</i> Bain.	25	16	47	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	18	-	-	10	7	5	5	4	6	7	2	3	6	12	2	-
<i>Gliocladium virens</i> Miller, Giddens et Foster	5	12	-	-	-	3	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-

Do najczęściej izolowanych grzybów o uzdolnieniach proteolitycznych należały: *Trichoderma viride*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum* oraz niektóre *Penicillium* sp., (ryc. 1). Dynamika ilościowych zmian form proteolitycznych grzybów wskazuje na sukcesję gatunków w obrębie tego zespołu. Początkowa faza zasiedlania substratu keratynowego trwająca 3 dni charakteryzowała się obecnością *Penicillium* sp. W następnych dniach monokultura *Penicillium* była stopniowo zastępowana przez grzyb szybko rosnący *T. viride*, opanowujący po 7 dniach ok. 60 % preparatu. Po dalszych 7 dniach stwierdzono pojawienie się proteolitycznych izolatów *Fusarium solani*. W 30 dniu kontaktu z glebą stopień kolonizacji preparatu przez ten gatunek osiągnął 55 %, zaś w przypadku *Trichoderma viride* ulegał obniżeniu do 30 % (tab. 2).

Ponowne pobudzenie rozwoju *F. solani* stwierdzono w ostatnim miesiącu doświadczenia. Zbiegło się ono ze wzrostem liczby propaguli proteolitycznych izolatów *Gliocladium roseum*, który jednak wyodrębniono na podłożu z aktidionem, co pośrednio świadczyłoby o szerszym spektrum substratowym tego grzyba.

Obok *Gliocladium roseum* do grzybów wyrastających na podłożu z aktidionem i przejawiających preferencję w stosunku do badanego substratu zaliczono: *Paecilomyces lilacinus*, *Sesquicillium* (*Verticillium*) *candelabrum* i niektóre *Penicillia*.

Charakterystyczne jest, że zarówno *Gliocladium roseum* jak i *Paecilomyces lilacinus* oraz *Sesquicillium candelabrum* należą do gatunków rozkładających włosy oraz pióra (E n g l i s h, 1965; K u s h w a b a, 1983; D o m s c h, G a m s c h, A n d e r s o n, 1980). Wskazują na to również obserwacje własne (dane nie opubl.). Wobec powyższego przyjęto umownie określać te grzyby jako potencjalnie keratynolityczne. Ich obecność wyraźnie zaznaczyła się dopiero w 2-gim tygodniu badań. Najszybciej opanowywało substrat *G. roseum* (35 %-owa izolacja w 30 dniu kontaktu z glebą). Wolniej rosnące *Paecilomyces lilacinus* i *Sesquicillium candelabrum* zasiedlały w tym okresie odpowiednio 20 i 25 % preparatu. W drugim miesiącu badań stwierdzono dalszy wzrost stopnia kolonizacji substratu przez wymienione gatunki, a następnie gwałtowny jego spadek. W końcowych miesiącach (5-6) badań grzyby odporne na aktidion reprezentowała tylko monokultura *S. candelabrum* (tab. 2).

Obserwacje sukcesji gatunkowej wskazują na konkurencję pokarmową grzybów kolonizujących w glebie badany substrat keratynowy. Wcześniejszymi kolonizatorami były gatunki silnie antagonistyczne, tj. *Penicillium* sp. i *Trichoderma viride*, późniejszymi formy nieantagonistyczne, tj. *Fusarium solani* i *F. oxysporum*, odporne na nagromadzone w podłożu metabolity. Zgodnie z danymi piśmiennictwa (D o m s c h, G a m s c h, A n d e r s o n, 1980) szczególnie silny antagonizm odnotowano pomiędzy *Trichoderma viride* a *Fusarium solani*. Podobne zjawisko stwierdzono w trakcie obserwacji sukcesji flory grzybowej na piórach w tej glebie (K o r n i ł o w i c z, 1992).

DYSKUSJA

Przeprowadzone badania wykazały, że w warunkach glebowych zmodyfikowana keratyna podobnie jak keratyna naturalna (K o r n i ł ł o w i c z, 1992) jest zasiedlana przez różne gatunki grzybów wykazujące sukcesję pokarmową.

Jednak w przeciwieństwie do surowych odpadów keratynowych (natywne pióra) pierwszymi kolonizatorami przetworzonych piór nie były grzyby cukrowe, lecz mikoflora charakteryzująca się aktywnością proteolityczną, o której wiadomo, że rozkłada prostsze połączenia białkowe. Grzyby te reprezentowane były przez formy ubikwistyczne, na ogół szybko rosnące, często antybiotykotwórcze, co uniemożliwiało im silne współzawodnictwo o pokarm.

Bardziej specyficzna flora mikrogrzybów pojawiła się później. W jej skład wchodziły głównie gatunki wolniej rosnące i słabiej konkurujące o substraty pokarmowe. Grzyby te nazwane umownie potencjalnie keratynolitycznymi, przypuszczalnie były odpowiedzialne za degradację bardziej złożonych frakcji białkowych preparatu keratyno-korowego.

Interesujące jest, że większość gatunków występujących w badanej glebie wykazujących preferencję w stosunku do zmodyfikowanej keratyny aktywnie zasiedlała również substrat naturalny (K o r n i ł ł o w i c z, 1992). Wskazuje to na zbliżone właściwości fizjologiczne tych grzybów oraz wykorzystywanie podobnych połączeń chemicznych obydwu rodzajów odpadów keratynowych. Można sądzić, że gatunki mniej wyspecjalizowane proteolitycznie hydrolizowały frakcje podatne na niespecyficzne proteinazy, np. polipeptydy lub białka nie-keratynowe, natomiast formy bardziej wyspecjalizowane rozszczepiałyby połączenia keratynowe odporne na powszechnie występujące u grzybów enzymy proteolityczne.

W poprzedniej pracy (K o r n i ł ł o w i c z, 1992) zwrócono uwagę na możliwość wykorzystywania przez takie gatunki jak *Gliocladium roseum* lub *Paecilomyces lilacinus* produktów degradacji keratyny piór dokonanej przez dermatofity geofilne i chrysozporia. Wyniki tej pracy wskazują na przyswajanie przez w/w gatunki produktów chemicznej modyfikacji i degradacji keratyny piór. Pozwala to przypuszczać, że grzyby – nazwane potencjalnie keratynolitycznymi – w rzeczywistości nie wykazują uzdolnień do rozkładu samej keratyny lub są słabo keratynolityczne. Ostateczne potwierdzenie tej sugestii wymaga badań z chemicznie czystymi keratynami.

We wcześniejszych badaniach własnych wykazano brak wpływu (K o r n i ł ł o w i c z, 1992) a nawet spadek (K o r n i ł ł o w i c z, 1991) częstotliwości występowania grzybów keratynofilnych z grupy dermatofitów geofilnych w glebach nawożonych granulatem keratyno-koro-mocznikowym. Obserwacje poczynione w niniejszej pracy wskazują na niezdolność tych keratynolitycznych micromycetes do zasiedlania keratynowego komponentu badanego nawozu. W świetle rezultatów badań własnych oraz danych podanych przez W o ł s k i e g o i G ł i ń s k i e g o

(1989) za główną przyczynę niezdolności grzybów keratynolitycznych do zasiedlania zmodyfikowanej keratyny należy uważać zniszczenie struktury trzeciorzędowej (rozerwanie mostków dwusiarczkowych) tego białka. Dodatkowo potwierdziłoby to udział sulfitolizy (czyli redukcji w/w wiązań) w keratynolizie grzybowej (K u n e r t, 1973).

Wyeliminowanie jako kolonizatorów preparatu keratyno-korowego grzybów wyspecjalizowanych w rozkładzie keratyny w glebie mogło się również przyczynić do jego wolniejszego rozkładu w porównaniu z odpadami zawierającymi naturalną keratynę (K o r n i ł ł o w i c z, 1992). Powolny rozkład keratynowego komponentu mógł wynikać ponadto z wytworzenia w badanym preparacie mało aktywnych połączeń azotu organicznego do czego przyczyniłaby się obecność polifenoli pochodzących z komponentu korowego. W o l s k i (1985) donosi, że w trakcie procesu technologicznego związki te powstają z ligniny pod wpływem mocznika – podobnie jak polipeptydy z keratyny – i mogą tworzyć wzajemne połączenia białek typu aminokwas-polifenol. Wiadomo ponadto, że połączenia białek lub peptydów z polimerami fenolowymi obniżają szybkość ich mikrobiologicznej degradacji nawet o 80-90 %. Przyczyną tego zjawiska jest powstanie silnych wiązań wodorowych między cząsteczkami tych związków co utrudnia proteinazom drobno-ustrojowym dostęp do wiązań peptydowych (B u r n s, 1983).

Przeprowadzone badania własne wykazały, że mikoflora zasiedlająca przetworzone odpady keratynowe składała się przede wszystkim z form saprofitycznych. Preparat keratyno-korowy stymulował rozwój grzybów fitopatogenicznych, tj. *Fusarium solani* i *F. oxysporum*. O nagromadzeniu różnych gatunków *Fusarium* w glebach nawożonych przetworzonymi odpadami keratynowymi donoszono również w badaniach wcześniejszych (K o r n i ł ł o w i c z, 1989, 1990). Zacytowane badania wskazują ponadto na stymulację liczebności w tych glebach gatunków potencjalnie owadobójczych tj. *P. lilacinus*. Z niniejszej pracy wynika, że przetworzone chemicznie odpady keratynowe, podobnie jak odpady surowe (K o r n i ł ł o w i c z, 1992), są dobrym podłożem do wyodrębniania i namnażania tych drobnoustrojów w glebie.

Spośród gatunków potencjalnie chorobotwórczych dla człowieka i zwierząt odnotowanych w prezentowanej pracy stwierdzono jedynie sporadyczne pojawianie się *Sporotrix schoenckii* i *Scedosporium apiospermum* – wykazanych również w badaniach wcześniejszych (K o r n i ł ł o w i c z, 1989, 1990). Z sanitarnego punktu widzenia wprowadzenie do gleby przetworzonych odpadów keratynowych nie stanowi więc zagrożenia epidemiologicznego. Może natomiast przyczynić się do przedłużenia okresu przeżywalności niektórych występujących w glebie potencjalnie pasożytniczych dla ludzi i zwierząt szczepów grzybów.

LITERATURA

- B u r n s K. G., 1983. Extracellular enzyme-substrate interactions in soil. [In]: Microbes in their Natural Environments. Symp. 34. The Soc. Gen. Microbial. Cambridge Univ. Press.
- D o m s c h K. H., G a m s c h W., A n d e r s o n T. H., 1980. Compendium of Soil Fungi I. Academic Press-London.
- D v o ř a k J., O t č e n a š e k M., 1969. Mycological Diagnosis of animal Dermatophytoses, Academia. Prague.
- E n g l i s h M. P., 1965. The saprophytic growth of non-keratinophilic fungi on keratinized substrate and a comparison with keratinophilic fungi. pp. 219-235.
- G o s t k o w s k a K., W o y t o w i c z B., S z e m b e r A., F u r c z a k J., J e z i e r s k a - T y s S., J a ś k i e w i c z W., 1989. Wpływ różnych środków użyźniających na aktywność mikrobiologiczną gleby piaszczystej. Zesz. Probl. PNR. 370: 75-84.
- G o s t k o w s k a K., J e z i e r s k a - T y s S., 1989. Wpływ dodatku słomy na przemiany azotu w glebie piaskowej z granulatem keratyno-koro-mocznikowym. Zesz. Probl. PNR. 370: 57-64.
- G r i f f i n D. M., 1960. Fungal colonization of sterile hair in contact with soil. Trans. Brit. Mycol. Soc. 43 : 583-596.
- K o r n i ł o w i c z T., 1989. Występowanie grzybów keratynofilnych w niektórych glebach uprawnych nawożonych granulatem keratyno-koro-mocznikowym oraz obornikiem. Zesz. Probl. PNR 370: 97-107.
- K o r n i ł o w i c z T., 1991. Występowanie mykoflory keratynofilnej oraz innych grzybów izolowanych metodą przynęty keratynowej – w glebie nie nawożonej oraz nawożonej granulatem keratyno-koro-mocznikowym, Zesz. Probl. PNR. (w druku).
- K o r n i ł o w i c z T., 1992. Badania nad mikroflorą zasiedlającą surowe odpady keratynowe (pióra) w glebie. Acta Mycol. XXVII (2): 231-245.
- K u n e r t J., 1973. Keratin decomposition by dermatophytes . I. Sulfite production as possible way of substrate denaturation. Z. f. Allg. Microbiologie. 13: 489-498.
- K u s h w a b a R. K. S., 1983. The in vitro degradation of peacock featherers by some fungi. Mycosen 26: 324-326.
- M e s s i a e n C. M., C a s s i n i R., 1968. Reserches sur les fusarioses IV – La systematique des *Fusarium*, An. Epihyties 19: 387-454.
- S k i r g i e ł l o A., Z a d a r a M., 1979. Grzyby (*Mycota*): *Phycomycetes*, *Mucorales*. [In]: Flora polska 10, Warszawa.
- W o ł s k i T., D e c h n i k I., G ł i ń s k i J., M a z u r k i e w i c z A., 1979. Nawozy organiczno-mineralne i sposób otrzymywania nawozów organiczno-mineralnych., Patent PRL. 277 122.
- W o ł s k i T., 1985. Zmodyfikowane białka keratynowe, ich właściwości fizyko-chemiczne, analiza oraz zastosowanie. Rozpr. habil. AM Lublin.
- W o ł s k i T., G ł i ń s k i J., 1989. Organiczne odpady przemysłowe i ich przetwarzanie na użyteczne rolniczo preparaty. Zesz. Probl. PNR. 370: 11-20.

SUMMARY

The present paper treats the subject of fungi colonization oh chemically modified feather keratin – a component of one of newly synthesized fertilizers (keratin-bark-urea granulate). The investigations were conducted in sandy soil where some bags with manure were introduced, after washing off chemically bounded urea. Fungi was isolated according to the method of setting substrate lumps (2 mm) out on Sabouraud glucose agar with streptomycin and chlorocycline, gelatine agar plus the above mentioned antibiotics and finally Sabouraud glucose agar with these antibiotics and actidione.

A the succesion of species and fungi communities colonizing the studied substrate was recorded. The succesion revealed a distinct nutritive character. In the first stage of colonization fungi of general proteolytic activity were recognized as those that decompose simple (not keratin) protein combinations. Moreover, it was noted that unantagonizing species like *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, occurred after a period of intensive growth of anthagonistic species – *Penicillium* sp., *Trichoderma viride*. The second stage of substrate colonization was distinguished by an increase in frequency of occurrence of fungi with ability to decay the natural keratin substrates (hair, feathers). Here are included *Gliocladium roseum*, *Paecilomyces lilacinus* and *Sesquicillium candelabrum* selected in a monoculture from in a the latter part of experiment. Among these fungi, there were no

typical keratinolytic specimens of soil microflora represented by geophilic dermatophytes and *Chrysosporium*. However, the above mentioned keratinophilic organisms occurred on the feathers placed in the same soil (Kornilowicz, 1992).

These processed feathers were colonized almost exclusively by saprophytic flora of fungi. As to the species potentially pathogenic to man and animals only, *Sporothrix schoenckii* and *Scedosporium apiospermum* were noted occasionally.