

Częstotliwość występowania i rozmieszczenie grzybów keratynofilnych w wybranych glebach uprawnych

TERESA KORNIŁŁOWICZ

Katedra Mikrobiologii Rolniczej AR w Lublinie

K o r n i ł ł o w i c z T.: (Department of Microbiology Agricultural in Lublin. Akademicka 15, 20-934 Lublin, Poland). *The frequency of occurrence and distribution of keratinophilic fungi in some arable soils*. Acta Mycol. XXVIII (1): 3-17, 1993.

The conducted researches showed that keratinophilic fungi – *Trichophyton* (with *Arthroderma*), *Chrysosporium* and *Ctenomyces* – manifested a distinct preference to rich humus soils, characterized by a smaller amount of silt and clay particles and neutral or slight alkaline reaction.

WSTĘP

Grzyby keratynofilne stanowią naturalną komponentę mikoflory glebowej wyspecjalizowaną w rozkładzie resztek keratynowych w tym środowisku. Obejmują one grzyby zwane dermatofitami geofilnymi reprezentowane przez niektóre gatunki *Trichophyton* i *Microsporum* wraz ze stadiami doskonałymi (odpowiednio *Arthroderma* i *Nannizzia* Stockolade) oraz większość gatunków pokrewnego im rodzaju, *Chrysosporium*, podzielonego ostatnio (O o r s c h o t, 1980) na *Chrysosporium* i *Myceliophthora*. Populacja glebowych keratinomycetes to formy saprofityczne, nieliczne z nich są potencjalnie chorobotwórcze głównie dla zwierząt (O t č e n a š e k, D v o ř a k, 1975; O o r s c h o t, 1980).

Rozmieszczenie grzybów keratynofilnych w glebie jest nierównomierne (K u n e r t, 1965). Najliczniej występują one w glebach zasilanych w naturalną materię keratynową, tj. w miejscach przebywania drobnych ssaków i ptactwa (D o m i n i k, M a j c h r o w i c z, 1964; N o w a k, 1970; B a t t e l l i et al., 1980; M e r c a n t i n i et al., 1980; V o l l e n k o v á, 1984) w glebach uprawnych (D o m i n i k, M a j c h r o w i c z, 1965; P r o c h a c k i, B i e ł u Ń s k a, 1968; O s t r o w s k a, 1970; C h m e l, V l a č i l i k o v á, 1977). Wyższej częstotliwości występowania tych grzybów sprzyjają gleby bogate w humus (C h m e l et al., 1972;

Chmel, Vlačiliková, 1975, 1977). Gleby mineralne są natomiast słabiej zasiedlane przez te drobnoustroje (Chmel et al., 1972). Za optymalny dla ich rozwoju odczyn gleby często przyjmuje się (Mercantini et al., 1980; Nooruddin, Singh, 1987) pH w zakresie 4,5-7,5, mimo wielokrotnie notowanej wysokiej liczebności w glebach alkalicznych (Chmel et al., 1972; McLeer, 1980; Mercantini et al., 1980; Nooruddin, Singh, 1987).

Keratinomycetes gromadzą się głównie w powierzchniowych warstwach gleby (Chmel, Vlačiliková, 1975). Cechuje je zwykle sezonowość występowania zależna m.in. od wilgotności gleby (Chmel et al., 1972; Nooruddin, Singh, 1987).

Biorąc pod uwagę stosunkowo małą ilość badań nad ekologią keratinomycetes w glebach uprawnych (Garetta, Piontelli, 1975; Chmel, Vlačiliková, Battelli et al., 1980) w niniejszej pracy przedstawiono wyniki własnych badań nad częstotliwością występowania i rozmieszczenia ww. grzybów w niektórych typach tych gleb. Starano się przy tym uchwycić zależność między składem ilościowo-jakościowym tych drobnoustrojów a właściwościami gleb.

MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto cztery gleby uprawne z terenu środkowo-wschodniej Polski dotychczas nie badanego pod względem występowania grzybów keratynofilnych. Przy typowaniu gleb brano pod uwagę: skład granulometryczny (gleby lekkie i ciężkie), zawartość próchnicy (bardziej i mniej zasobne) oraz wartości pH (bardzo kwaśne – kwaśne – słabo kwaśne – lekko alkaliczne). Wybrane gleby reprezentowały następujące typy: gleba bielkowa wytworzona z piasku słabo gliniastego (Sobieszyn, woj. lubelskie) dalej zwana piaszczystą; gleba brunatna wytworzona z gliny ciężkiej (Sobieszyn, woj. lubelskie) określana w dalszej części jako gliniasta; czarnoziem (Grabowiec, woj. zamojskie) wytworzony z lessu oraz czarna ziemia na kredzie (Strupin, woj. chełmskie).

Próby glebowe pobierano jednorazowo (Kornilłowicz, 1992) na przełomie kwietnia i maja z pól obsiewanych roślinami zbożowymi. Sposób pobierania ich oraz przygotowywania próbek reprezentatywnych podano w badaniach wcześniejszych (Kornilłowicz, 1992).

Do izolacji grzybów keratynofilnych zastosowano metodę przynęty keratynowej zwaną metodą To-Ka-Va (Benedek, 1961) stosując pióra kurcząt zamiast włosów. Pióra przygotowywano zgodnie z procedurą opisaną poprzednio (Kornilłowicz, 1992).

Dla każdej gleby przygotowywano 100 płytek. Płytki glebowe z substratem inkubowano w komorze wilgotnej w temperaturze $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ przez 4-6 tygodni. Pojawiające się naloty grzybnie przeszczepiano na płytki z agarem glukozowym

Sabourauda z dodatkiem aktidionu i chloramfenikolu (D v o ř a k, O t ě e n a š e k, 1969).

Identyfikacji rodzajowej i gatunkowej dokonywano bezpośrednio na płytkach agarowych lub w mikrokulturach po uprzednim odszczepieniu izolatów na skosy bez antybiotyków. Celem stwierdzenia owocowania płciowego grzybów we wszystkich badanych przypadkach, z grzybni wyrosłej na piórach wykonywano preparaty w kropli wody.

Ostatecznej klasyfikacji grzybów dokonywano przy wykorzystaniu opracowań systematycznych (C a r m i c h a e l, 1962; D o m i n i k, 1967; M e s s i a e n, C a s s i n i, 1969; S k i r g i e ł ł o, Z a d a r a, 1979; D o m s c h, G a m s c h, A d e r s o n, 1980; O o r s c h o t, 1980).

W ocenie częstotliwości występowania grzybów wykorzystano liczbę płytek (próbek) glebowych ze wzrostem grzybów keratynofilnych oraz pozostałej mikoflory, jak również liczbę wyodrębnionych gatunków w przeliczeniu na jedną płytkę. Przyjęto zasadę, że jedna płytka glebowa może być zasiedlona tylko przez jeden szczep danego gatunku. Za dominujące uznano gatunki o co najmniej 25 % częstotliwości występowania.

WYNIKI BADAŃ

Przedstawione dane (tab. 1) wskazują na wysoką częstotliwość występowania mikoflory keratynofilnej w badanych glebach. Zasiedlenie wszystkich próbek glebowych było związane zarówno z intensywnym wzrostem dermatofitów (75-100 % skolonizowanie gleby) jak i *Chrysosporium* (38-99 %-owa gęstość zasiedlania). Rodzaj ten najslabiej rozprzestrzenił się w glebie piaszczystej (38 %) w pozostałych glebach utrzymując się na poziomie 85-95 %.

Obok flory typowo keratynolitycznej w obrębie wyodrębnionej populacji micromycetes wysoką liczbą wyosobnień charakteryzowały się gatunki o nieustalonej dotychczas aktywności keratynolitycznej zwane umownie nie-keratynofilnymi. Ich wspólną cechą (z keratinomycetes) była wszakże oporność na aktidion. Najintensywniejszy wzrost mikoflory nie-keratynowej stwierdzono w czarnoziemiu, najslabszy w glebie piaszczystej (tab. 1).

Wykazano, że gęstość populacji mikoflory keratynofilnej w czarnej ziemi i czarnoziemiu była około dwukrotnie wyższa w porównaniu z ilością tych grzybów w glebie piaszczystej i gliniastej. Wyrażało się to większą liczbą gatunków w przeliczeniu na 1 płytkę, tj. odpowiednio 2,58-3,05 i 1,74-1,7. Zauważono przy tym, że środowiskiem glebowym najmniej sprzyjającym rozwojowi dermatofitów geofilnych była gleba gliniasta (0,74 szczepy/1 płytkę), natomiast dla *Chrysosporium* gleba piaszczysta (ww. wskaźnik wynosił 0,63). Najwyższą liczebność tych grzybów notowano natomiast w czarnej ziemi (tab. 1).

Tabela 1 – Table 1

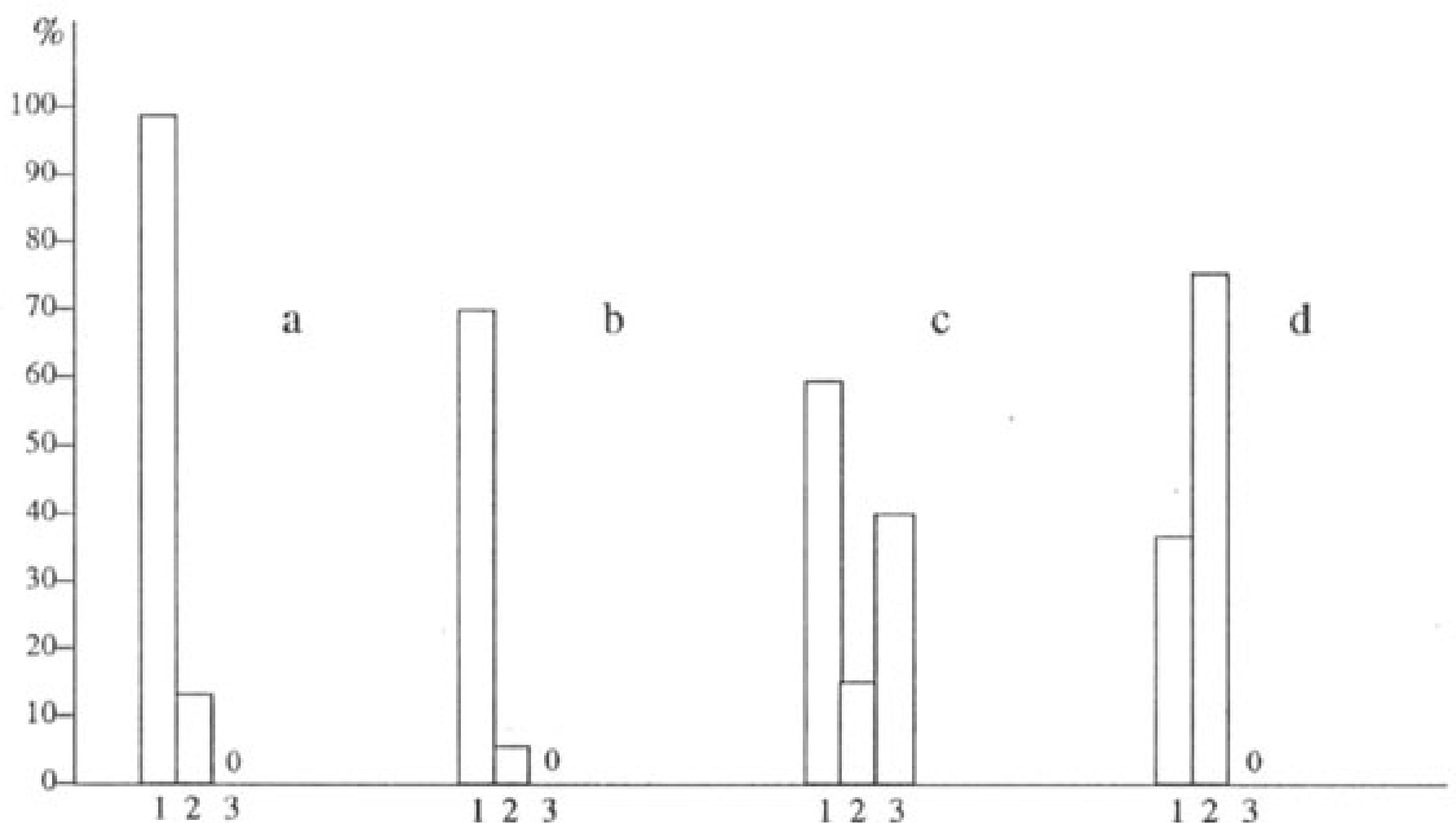
Wskaźniki częstotliwości występowania grzybów keratynofilnych i nie-keratynofilnych z badanych gleb uprawnych
The indicators of frequency of occurrence of keratinophilic and non-keratinophilic microflora in the studied cultivated soils

Wskaźniki – Indicators	Gleba – Soil			
	piaszczysta sandy	gliniasta loamy	czarnoziem chernozem	czarna ziemia black soil
Liczba płytek – Number of plates:				
– zasiedlonych przez grzyby keratynofilne colonized with keratinophilic fungi	100	100	100	99
– ze wzrostem dermatofitów geofilnych with geophilic dermatophytes growth	100	80	75	87
– ze wzrostem <i>Chrysosporium</i> with <i>Chrysosporium</i> growth	38	85	99	95
– ze wzrostem innych grzybów opornych na aktidion (nazywanych nie-keratynofilnymi) with growth of other fungi resistant to actidione (so-called non-keratinophilic)	83	100	100	97
Liczba wyodrębnionych – Number of isolated:				
– rodzajów: – keratynofilnych (genera) keratinophilic	5	5	6	5
– nie-keratynofilnych non-keratinophilic	10	11	16	10
– łącznie (total)	15	16	22	15
– gatunków: – dermatofitów (species) dermatophytes	3	3	4	4
– <i>Chrysosporium</i>	10	4	7	12
– nie-keratynofilnych non-keratinophilic	11	12	20	12
– łącznie (total)	24	17	31	28
– szczepów: – dermatofitów (strains) dermatophytes	111	74	113	122
– <i>Chrysosporium</i>	63	96	145	183
– nie-keratynofilnych non-keratinophilic	149	324	427	271
– łącznie (total)	323	494	685	576
Liczba gatunków w przeliczeniu na 1 płytkę: (Number of species on the one plate)				
– dermatofitów dermatophytes	1,11	0,74	1,13	1,22
– <i>Chrysosporium</i>	0,63	0,96	1,45	1,83
– łącznie – total	1,74	1,70	2,58	3,05
– nie-keratynofilnych non-keratinophilic	1,49	3,24	4,27	2,71

Ogółem z badanych gleb (400 prób) wyodrębniono 907 szczepów keratynomycetes, w tym 420 dermatofitów oraz 487 izolatów *Chrysosporium* (tab. 2). Populację dermatofitów geofilnych reprezentowało 5 gatunków, zaś *Chrysosporium* 12 gatunków (11 szczepów pozostawało nieoznaczone gatunkowo).

Spośród dermatofitów najczęściej izolowano *Trichophyton ajelloi* (tab. 2, ryc. 1). Największą liczebność tego grzyba wykazano w glebie piaszczystej, najniższą (34 % izolacji) w czarnej ziemi. W pozostałych glebach procent izolacji *T. ajelloi* (łącznie z formą doskonałą *Arthroderma uncinatum*) wynosił 71 % dla gleby gliniastej i 59 % dla czarnoziemu. Należy nadmienić, że z wyjątkiem czarnej ziemi badane gleby charakteryzowały się odczynem kwaśnym. W przeciwieństwie do *T. ajelloi*, szczepy *T. terrestre* wraz z formą doskonałą *A. quadrifidum* wyodrębniano głównie z lekko alkalicznej czarnej ziemi (tab. 2, ryc. 1). Występowanie tych grzybów stwierdzono w 85 % prób pobranych z tej gleby. 50 % stanowiło stadium konidialne a 50 % stadium workowe (tab. 2). W pozostałych glebach stwierdzono zaledwie 5-15 % zasiedlenie płytek przez te gatunki (tab. 2, ryc. 1).

Obok w/w, populację dermatofitów geofilnych w badanych glebach reprezentowało *Microsporum cookei*. Gatunek ten znajdowano wyłącznie w czarnoziemiu gdzie kolonizował 40 % próbek glebowych. Natomiast w żadnym wypadku nie wyodrębniono *M. gypseum*, gatunku potencjalnie chorobotwórczego dla człowieka i zwierząt. Stosując pióra jako przynętę do izolacji grzybów keratynofilnych, geofilnego dermatofita, nie stwierdzono również w innych badaniach własnych (K o r n i ł o w i c z, 1989, 1991, 1992).



Ryc. 1. Częstotliwość występowania w glebie (w %) przedstawicieli dermatofitów geofilnych

The frequency of occurrence of geophilic dermatophytes representatives in soil (in %)

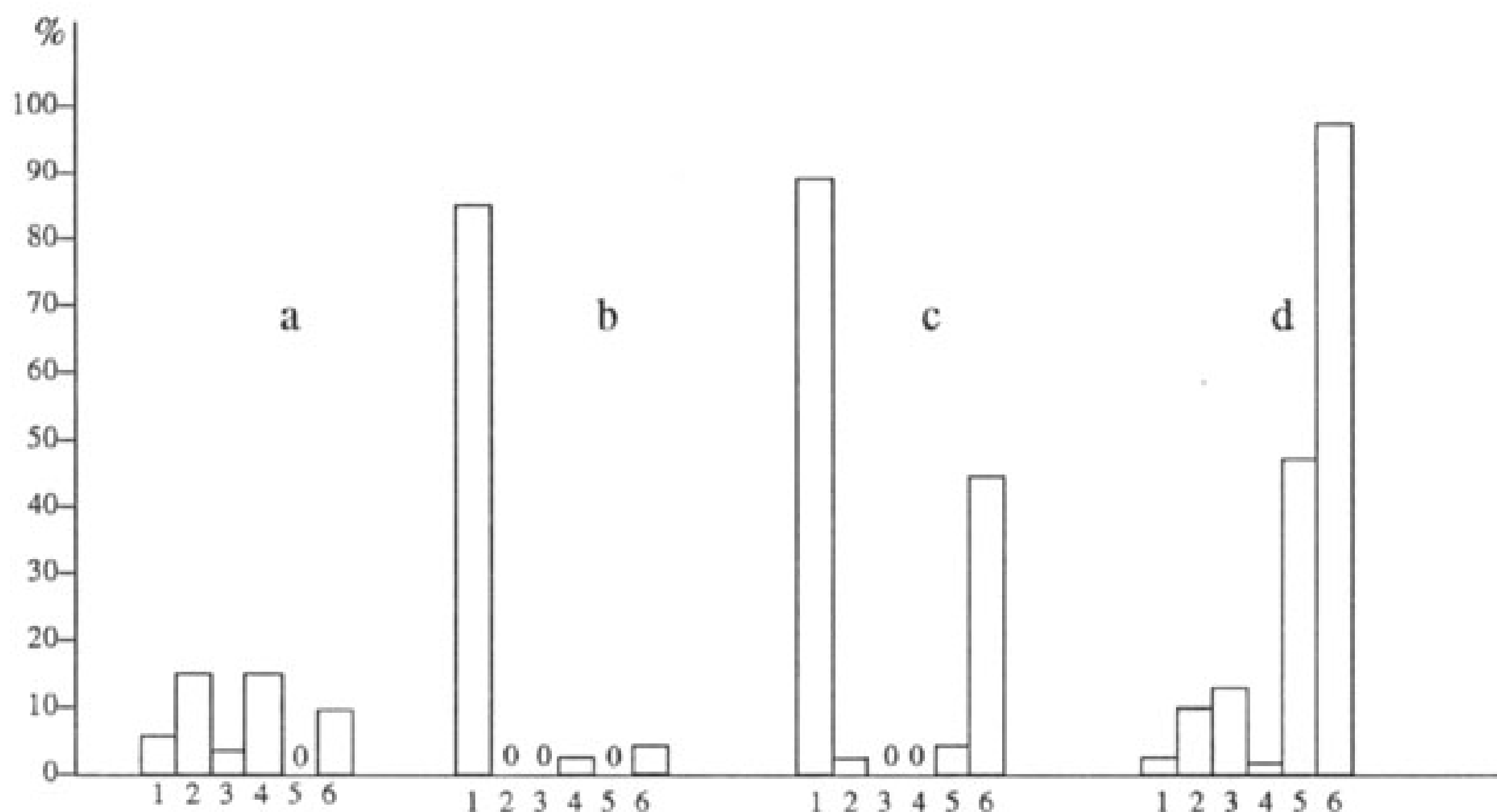
1 - *Trichophyton ajelloi* + teleom., 2 - *T. terrestre* + teleom., 3 - *Microsporum cookei*; a - gleba piaszczysta (sandy); b - gleba gliniasta (loamy), c - czarnoziem (chernozem), d - czarna ziemia (black soil)

Tabela 2 – Table 2

Grzyby keratynofilne w badanych glebach
Species of keratinophilic fungi in the studied soils

Gatunek – Species	Liczba szczepów w glebie Number of strains in soil				
	ogółem total	piaszczystej sandy	gliniastej loamy	czarno- ziemie chernozem	czarnej ziemi black soil
Dermatofity geofilne Geophilic dermatophytes					
<i>Arthroderma quadrifidum</i> Dawson et Gentles, teleom.	50	2	0	4	44
<i>Trichophyton terrestre</i> Durie et Frey complex, anam.	66	10	5	10	41
<i>Arthroderma uncinatum</i> Dawson et Gentles, teleom.	15	0	12	0	3
<i>Trichophyton ajelloi</i> (Vanbr.) Ajello, anam.	249	99	57	59	34
<i>Microsporum cookei</i> Ajello, anam.	40	0	0	40	0
Chrysosporium					
<i>Chrysosporium asperatum</i> Carm., anam. (<i>Myceliophthora vellerea</i> (Sacc. et Speg.) van Oorschot), anam.	183	6	85	88	4
– <i>farinicola</i> (Burnside) Skou, anam.	27	15	0	2	10
– <i>keratinophilum</i> (Frey) Carmichael	4	1	0	2	1
– <i>kreislii</i> Dominik	18	5	0	0	13
– <i>pannicola</i> (Corda) van Oorschot et Stalpers	19	15	2	0	2
– <i>pannorum</i> (Link) Hughes	2	1	0	0	1
– <i>pruinatum</i> (Gilman et Abbott) Carmichael	13	4	0	5	4
– <i>tuberculatum</i> (Kuehn) Dominik, anam. (<i>Myceliophthora, Arthroderma tuberculatum</i> Kuehn), teleom.	51	0	0	4	47
– <i>serratum</i> (Eidam) Dominik (<i>Myceliophthora, Ctenomyces serratus</i> Eidam) teleom.	94	5	3	5	81
– <i>tropicum</i> Carmichael	2	0	0	0	2
<i>Chrysosporium</i> sp.	11	4	4	0	3
<i>Chrysosporium</i> sp., anam. (<i>Arthroderma curreyi</i> Berk., telom.)	3	2	0	0	1
<i>Ctenomyces serratus</i> Eidam.	60	5	2	39	14
Ogółem – Total	907	174	170	258	305

Rodzaj *Chrysosporium* w badanych glebach najliczniej był reprezentowany przez *Chrysosporium asperatum* oraz *Ctenomyces serratus* i jego formę konidialną (tab. 2, ryc. 2). *Chrysosporium asperatum* w najwyższym procencie występowało w glebie gliniastej i czarnoziemie (85-88 %) różniących się m.in. od pozostałych dwóch gleb wysokim poziomem frakcji ilastej (< 0,02 mm). W glebie piaszczystej i czarnej ziemi *Chrysosporium asperatum* spotykano rzadko (tab. 2, ryc. 2.).



Ryc. 2. Częstość występowania w glebie (w %) wybranych gatunków *Chrysosporium*

The frequency of occurrence of some *Chrysosporium* species in soil (%)

1 – *Chrysosporium asperatum*, 2 – *C. farinicola*, 3 – *C. kreselii*, 4 – *C. pannicola*, 5 – *C. tuberculatum*, 6 – *C. serratum* + teleom; a – gleba piaszczysta (sandy), b – gleba gliniasta (loamy), c – czarnoziem (chernozem), d – czarna ziemia (black soil)

Glebami sprzyjającymi rozwojowi *Ctenomyces serratus* okazały się czarnoziem i czarna ziemia (tab. 2, ryc. 2). Należy podkreślić, że były to gleby o odczynie zbliżonym do obojętnego. O ile jednak w czarnoziemie znajdowano głównie formę doskonałą (95 % wszystkich szczepów), to w czarnej ziemi przeważało stadium konidialne (tab. 2).

W niektórych spośród badanych gleb (czarna ziemia) populację *Chrysosporium* reprezentowała także wysoka liczba szczepów *Chrysosporium tuberculatum* (47 % częstość izolacji), (tab. 2, ryc. 2). Gatunek ten ponadto izolowano sporadycznie z czarnoziemiu.

Do najrzadziej występujących w badanych glebach przedstawicieli tego rodzaju należało *Chrysosporium keratinophilum* (1,0 %), *Chrysosporium tropicum* (0,5 %) i *Chrysosporium* sp. w stadium *Arthoderma curreyi* (tab. 2). Nieco częściej wyodrębniano *Chrysosporium pannicola* (5 %) i *Chrysosporium kreselii* (głównie z czarnej ziemi), *Chrysosporium pruinatum* (3 %) i *Chrysosporium farinicola* (7 %). Ostatni gatunek uważany jest za nie-keratynolityczny (O o r s c h o t, 1980).

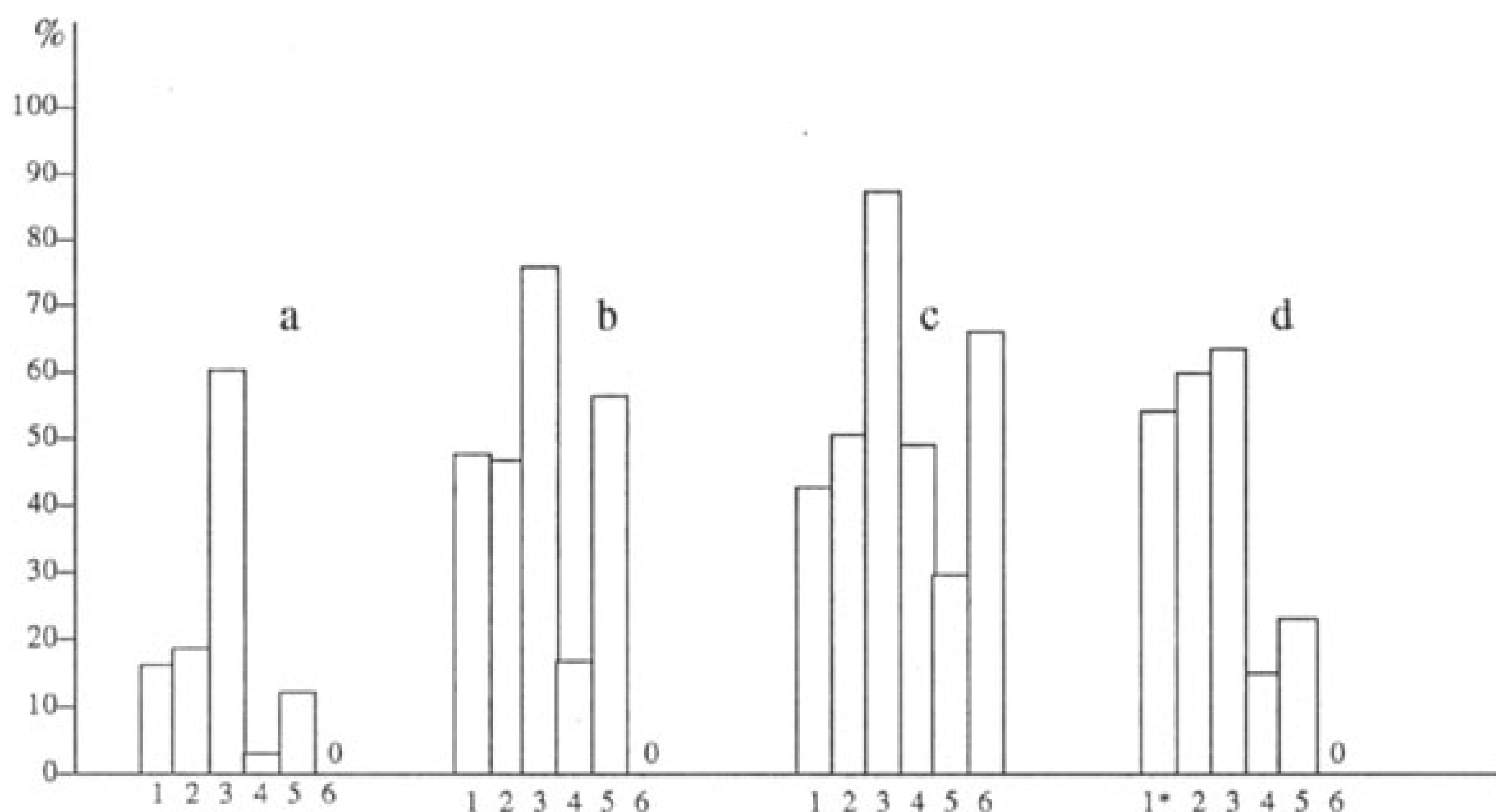
Populację grzybów nie-keratynofilnych (1171 izolatów) reprezentowało 30 gatunków z 21 rodzajów (tab. 3). Do gatunków dominujących w obrębie tych grzybów należały: *Cylindrocarpon didymum* i *C. olivum*, *Gliocladium roseum*, *Metarrhizium anisopliae*, *Paecilomyces lilacinus*, *P. marquandi*, *Verticillium chlamydosporium* i *V. lecani*. Najwyższą częstością izolacji (tab. 3, ryc. 3) we wszystkich zbadanych glebach odznaczał się *P. lilacinus* (57-86 % zasiedlenie gleby). Gatunek ten

powszechnie znajdowano na piórach w glebie, również w innych badaniach własnych (K o r n i ł ł o w i c z, 1991, 1992). W trzech glebach wysoki stopień zasiedlenia wykazywało ponadto *Gliocladium roseum* (45-57 %), także wielokrotnie notowane we wcześniejszych obserwacjach (K o r n i ł ł o w i c z, 1992, 1993).

Tabela 3 – Table 3

Grzyby nie-keratynofilne w badanych glebach
Species of non-keratinophilic fungi in the studied soils

Gatunek – Species	Liczba szczepów w glebie Number of strains in soil				
	ogółem total	piaszczystej sandy	gliniastej loamy	czarno- ziemie chernozem	czarnej ziemi black soil
<i>Absidia glauca</i> Hagem	4	0	1	3	0
<i>Acremonium strictum</i> Gams	3	2	0	0	1
<i>Botryotrichum piluliferum</i> Sacc. et March.	1	0	0	0	1
<i>Cephalosporium</i> sp.	41	1	39	1	0
<i>Chaetomium difformae</i> Gams.	7	0	0	0	7
<i>Chaetomium</i> sp.	16	0	16	0	0
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers) Link ex St. Gray	1	0	0	1	0
<i>Conidiobolus coronatus</i> (Cost.) Batko	18	0	1	17	0
<i>Cunninghamella elegans</i> Lendner	7	0	0	7	0
<i>Cylindrocarpon didymum</i> (Hartig) Wolenw.	102	15	46	41	0
– <i>olidum</i> (Wolenw.) Wolenw.	52	0	0	0	52
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht., Snyder et Hans.	9	0	2	7	0
– <i>redolens</i> Wolenw.	1	1	0	0	0
– <i>solani</i> (Mart.) Sacc.	43	19	8	3	13
<i>Fusarium</i> sp.	1	0	1	0	0
<i>Gliocladium catenulatum</i> Gilm. et Abbott	45	9	7	18	11
– <i>roseum</i> (Link) Bain.	167	17	45	48	57
<i>Gliomastix murorum</i> (Corda) Hughes	6	5	0	0	1
<i>Metarrhizium anisopliae</i> (Metsch.) Sorok.	23	0	0	23	0
<i>Paecilomyces carneus</i> (Duche et Heim) A. H. S. Brown et G. Sm.	2	0	0	2	0
– <i>liliacinus</i> (Thom) Samson	275	57	72	86	60
– <i>marquandii</i> (Masse) Hughes (= <i>Spicaria violacea</i> Abbott = <i>S. violacea</i> Petch)	81	3	16	47	15
<i>Penicillium purpurogenum</i> Stoll	2	0	0	2	0
<i>Penicillium</i> sp.	63	7	4	22	30
<i>Pullularia pullulans</i> (de Bary) Berkh. (= <i>Aureobasidium</i> <i>pullulans</i> (de Bary) Arnaud)	1	0	1	0	0
<i>Scopulariopsis communis</i> Bainier	1	0	0	1	0
<i>Sclerotium</i> sp.	1	0	0	1	0
<i>Sesquicillium candelabrum</i> (Bonard.) Gams	4	2	0	2	0
<i>Stachybotrys chartarum</i> (Ehrenb. et Link) Hughes	2	0	0	2	0
<i>Verticillium chlaydosporium</i> Goddard	115	11	54	28	22
– <i>lecanii</i> (Zimm.) Viegas	63	0	0	63	0
– <i>psalliotae</i> Terschow	6	0	3	2	1
niezarodnikujące – non-sporulating	8	0	8	0	0
Ogółem – Total	1171	149	324	427	271



Ryc. 3. Częstość występowania w glebie (%) wybranych gatunków grzybów nie-keratynofilnych

The frequency of occurrence of some species of non-keratinophilic fungi in soil (%)

- 1 – *Cylindrocarpon didymum*, 1* – *C. olidum*, 2 – *Gliocladium roseum*; 3 – *Paecilomyces lilacinus*,
 4 – *P. marquandii*, 5 – *Verticillium chlamydosporium*, 6 – *V. lecani*; a – gleba piaszczysta (sandy),
 b – gleba gliniasta (loamy), c – czarnoziem (chernoziem), d – czarna ziemia (black soil)

Biorąc pod uwagę fakt, że dotychczas nie ustalono ostatecznie właściwości keratynolitycznych tych grzybów a istniejące przesłanki (S a f r a n e k, G o o s, 1982) wskazują raczej na brak tej cechy, zgodnie z poprzednio wyrażonym poglądem (K o r n i ł ł o w i c z, 1991, 1992, 1993) sądzę, że drobnoustroje te reprezentują populację wtórnych kolonizatorów piór.

DYSKUSJA

Zgodnie z innymi autorami (D o m i n i k, M a j c h r o w i c z, 1964, 1965; C h m e l et al., 1972; C h m e l, V l a č i l i k o v á, 1975, 1977; M c L e e r, 1980) za główny czynnik warunkujący wielkość populacji grzybów keratynofilnych w glebie uznano zawartość materii organicznej. Znalazło to odzwierciedlenie w proporcjonalnym do zawartości humusu wzroście liczby gatunków w jednej próbce glebowej. Maksymalne wartości w/w wskaźnika otrzymano dla gleby najuboższej w próchnicę (3,61 %), najniższe dla gleby najuboższej w ten składnik (0,35 %). Więcej gatunków keratynofilnych w przeliczeniu na próbkę, w glebach o dużej zawartości próchnicy, niż w glebach mineralnych uzyskali również C h m e l, V l a č i l i k o v á (1977).

Stwierdzono także, że gleby o niskim poziomie koloidów mineralnych, takie jak gleba piaszczysta (6,5 % frakcji ilastej), charakteryzowały się większą różnorodnością

gatunków niż gleby, w których poziom ilu przekraczał 30 % (gleba gliniasta). Zwłaszcza wyraźnie uwidoczniło się to w przypadku *Chrysosporium* – odpowiednio 10 i 4 gatunki. Również we wcześniejszych badaniach własnych (Kornilowicz, 1989 a, b) stwierdzono, że bielicoziemy zasiedlane są przez bardziej zróżnicowane populacje micromycetes i keratinomycetes w porównaniu z glebami brunatnymi wytworzonymi z gliny ciężkiej. Jakkolwiek w dostępnym piśmiennictwie nie natrafiono na informacje jednoznacznie potwierdzające wpływ składu mechanicznego gleby na populację keratinomycetes, to z badań Hattoriego (1973), a wśród autorów krajowych Kaczmarek (1986) wiadomo, że rozwojowi mikrogrzybów bardziej sprzyjają gleby lekkie niż gleby ciężkie.

W niniejszej pracy odnotowano ponadto, że liczba gatunków keratynofilnych w glebach – lekko kwaśnej (pH 6,3) oraz słabo alkalicznej (pH 7,7) była wyraźnie wyższa niż w glebach – silnie kwaśnej (pH 3,5) i kwaśnej (pH 4,8). Preferowanie przez mikoflorę keratynofilną gleb o odczynie zbliżonym do obojętnego nie budzi zdziwienia, ponieważ optymalny odczyn dla aktywności keratynolitycznej tych drobnoustrojów utrzymuje się w granicach pH 7-8 (Böhme, Ziegler, 1969).

Analiza składu gatunkowego mikoflory keratynofilnej zasiedlającej badane gleby ujawniła, że najpowszechniejszym gatunkiem był *Trichophyton ajelloi*. Średnia częstotliwość występowania tego dermatofitu wynosiła 66 %. Do dominujących zaliczono również *Chrysosporium asperatum* (46 %), *Chrysosporium serratum* wraz z formą doskonałą *Ctenomyces serratus* (39 %) oraz *Trichophyton terrestre* ze stadium doskonałym *Arthroderma quadrifidum* (2 %). Do mniej licznych, aczkolwiek w niektórych glebach pospolitych, należały *Chrysosporium tuberculatum* (13 %) i *Microsporum cookei* (10 %). Pozostałe gatunki izolowano rzadko lub bardzo rzadko. Warto podkreślić, że w piśmiennictwie krajowym nie napotymano dotychczas na informacje świadczące o występowaniu w glebach Polski *Chrysosporium tuberculatum* oraz *C. farinicola*.

Przeprowadzone badania wykazały, że skład gatunkowy mikoflory keratynofilnej był wyraźnie zależny od właściwości badanych gleb, w szczególności od ich pH. Odczyn gleby wywierał działanie selekcyjne. Wyrażało się to dominacją *Trichophyton ajelloi* i *Chrysosporium asperatum* w glebach kwaśnych oraz przewagą *Ctenomyces serratus* i *Trichophyton terrestre* w glebie słabo alkalicznej.

Nagromadzenie *Trichophyton ajelloi* w glebach kwaśnych obserwowano wielu autorów (Marple, 1965; Böhme, Ziegler, 1969; Pugh, Evans, 1970; Chmel, Vlačiliková, 1977; Vollenková, 1984). Na zjawisko to zwrócono również uwagę we wcześniejszych badaniach własnych (Kornilowicz, 1989 b, 1991). W niniejszej pracy zauważono, że wraz ze wzrostem kwasowości gleby częstotliwość występowania tego dermatofitu uległa proporcjonalnemu zwiększeniu osiągając w glebie bardzo kwaśnej (pH 3,5) formę monokultury. Według Marple (1965) jest to gatunek wybitnie kwasolubny, słabo zasiedlający gleby o pH > 6.

Przeciwnie, niż *Trichophyton ajelloi*, szczepy *Chrysosporium asperatum* odznaczały się słabym rozprzestrzenieniem w glebie o pH 3,5, gdyż jak wiadomo (B ö h m e, Z i e g l e r, 1969) nadmierne zakwaszenie hamuje rozwój większości grzybów keratynofilnych. Natomiast gatunek ten stymulację wzrostu przejawiał w glebie o odczynie w zakresie pH 4,8; 6,3. Znaczną liczbę jego wyosobień z gleby słabo kwaśnej (pH 6,0) uzyskano także we wcześniejszych badaniach własnych (K o r n i ł ł o w i c z, 1991). Zastanawiający jest fakt, że wszystkie trzy ww. gleby odznaczały się również wysokim poziomem części splawialnych – jak podano wyżej nie wpływających korzystnie na liczebność micromycetes w glebie. Otrzymane wyniki nastroczą znaczne trudności interpretacyjne, zwłaszcza w świetle badań (C h m e l et al., 1972) donoszących o wysokiej częstotliwości *Chrysosporium asperatum* (> 60 %) w glebach węglanowych o pH 7,6-7,8. Natomiast w niniejszej pracy wykazano przeciwnie, że gleba o podobnych właściwościach tj. zasobna w CaCO₃ o pH 7,7, charakteryzowała się bardzo niską liczbą propaguli tego gatunku.

Badania własne wskazują, że gleby o wyższym odczynie (tj. w granicach pH 6,3-7,7) kolonizowane były przede wszystkim przez *Ctenomyces serratus* i jego formę konidialną oraz *Trichophyton terrestre* również w stadium doskonałym, *Arthroderma quadrifidum*. Na znaczne rozprzestrzenienie w/w gatunków w glebach słabo kwaśnych i lekko alkalicznych wskazują również badania C h m e l et al. (1972) oraz C h m e l, V l a č i l i k o v e j (1975, 1977).

Preferencja, odmiennych pod względem odczynu środowisk glebowych przez *Ctenomyces serratus* i *Trichophyton terrestre* z jednej oraz *T. ajelloi* i *Chrysosporium asperatum* z drugiej strony mogła być wywołana konkurencją pokarmową. Na zjawisko antagonizmu wewnątrz populacji keratinomycetes zwrócili wcześniej uwagę C h m e l i V l a č i l i k o v á (1977). Autorzy ci wykazali, że gleby o wysokiej częstotliwości występowania *Ctenomyces serratus* odznaczały się niską liczebnością *Trichophyton ajelloi* i na odwrót. Podobny efekt uzyskano w obserwacjach własnych. Wyrażał się on stopniowym zmniejszeniem liczby wyosobień *Trichophyton ajelloi* (99 %; 71 %; 59 %; 34 %) w miarę zwiększania gęstości populacji *Ctenomyces serratus* (10 %; 5 %; 44 %; 95 %) i odwrotnie. Zaś spadek liczebności *Chrysosporium asperatum* w glebie (4 %) był sprzężony z nagromadzeniem szczepów *Trichophyton terrestre*, także w stadium doskonałym – *Arthroderma quadrifidum* (85 %). Przeciwnie, zagęszczeniu populacji *C. asperatum*, rzędu 85-88 % towarzyszyło zaledwie 5-12 % rozprzestrzenienie w glebie *T. terrestre* i *A. quadrifidum*.

Nasuwa się więc przypuszczenie, że przewaga *Trichophyton terrestre* i *Ctenomyces serratus* w glebach o pH zbliżonym do neutralnego mogła być konsekwencją wysokiego powinowactwa tych grzybów wobec keratyny piór. Szczególnie, że w/w gatunki zasiedlają pióra wówczas gdy ich pH ≥ 7 (P u g h, 1966; P u g h, E v a n s, 1970). Podłożem tego powinowactwa mogła być wysoka aktywność keratynolityczna tych grzybów (nie opublikowane wyniki badań własnych).

Jest więc prawdopodobne, że gleby o odczynie sprzyjającym keratynolizie

grzybowej (pH 7-8) opanowywane są w pierwszym rzędzie przez grzyby o dużych właściwościach keratynolitycznych. Gatunki o słabszych takich uzdolnieniach, tj. *T. ajelloi* i *Ch. asperatum* (nie publ. dane własne), „zmuszone” są do zasiedlania gleb odznaczających się mniej korzystnymi warunkami dla przebiegu tego procesu, a więc zdecydowanie kwaśnych i zawierających wysoki poziom części splawialnych. Wśród poczynionych obserwacji własnych na podkreślenie zasługuje pojawienie się w niektórych glebach wysokiej liczby *Chrysosporium tuberculatum* (47 %) oraz *Microsporum cookei* (40 %). Dotychczasowe dane na temat ekologii tych grzybów w glebie mają fragmentaryczny charakter (F r e y, 1965; P r o c h a c k i, B i e ł u ń s k a, 1968; C h m e l, V l a č i l i k o v á, 1975; M c L e e r, 1980; V o l l e n k o v á, 1984). Nie dają one dostatecznego wyobrażenia o oddziaływaniu czynników ekologicznych na rozmieszczenie tych grzybów w glebie. Również wyniki badań własnych są niewystarczające dla oceny występowania w/w grzybów w tym środowisku. Pozwalają wszakże przypuszczać, że *Ch. tuberculatum* i *M. cookei* zasiedlają przede wszystkim gleby bogatsze w materię organiczną oraz cechujące się odczynem zbliżonym do obojętnego. Obserwowany brak tych keratynofilnych grzybów w pozostałych badanych glebach wskazywałby na ich nierównomierne rozmieszczenie w środowisku glebowym.

V a l l e n k o v á (1984) przykładowo wykazała znacznie wyższą liczebność *M. cookei* w norach polnych gryzoni aniżeli otaczającej ich glebie. Zgodnie z hipotezą „gniazdowego” występowania grzybów keratynofilnych zaproponowaną przez K u n e r t a (1965) sądzimy, że obecność w glebie, przynajmniej niektórych gatunków keratinomycetes, może być ograniczona tylko do miejsc zasobnych w materię keratynową.

Niewykluczone jest ponadto, że czynnikiem decydującym o rozmieszczeniu tych grzybów w glebie jest rodzaj materii keratynowej. De Vroey (G a r e t t a, P i o n t e l l i, 1975) wysunął hipotezę, że występowanie grzybów keratynofilnych w glebie ma związek z typem keratyny spotykanym w tym środowisku. Wiadomo np., że *Chrysosporium asperatum*, *C. tuberculatum* i *C. serratus* zasiedlają głównie, a *Trichophyton terrestre* bardzo często, pióra zarówno te zalegające w glebie, jak i wchodzące w skład upierzenia żywych ptaków (P u g h, 1966; P u g h, E v a n s, 1970; H u b a l e k, 1974; G a r e t t, P i o n t e l l i, 1978; D o m s c h et al., 1980; O o r s c h o t, 1980; M a r s e l l a et al., 1985; J a i n, S h u k l a, S r i v a s t a v a, 1985). Natomiast *M. cookei* częściej spotykany jest na włosach (V o l l e n k o v á, 1984; M a r s e l l a et al., 1985).

Ostatecznie wydaje się jednak, że występowanie i rozmieszczenie keratinomycetes w glebie jest zdeterminowane całym kompleksem czynników środowiskowych. Obok czynników abiotycznych niewątpliwie istotną rolę w kolonizacji gleb przez mikoflorę keratynofilną odgrywa konkurencja pokarmowa wewnątrz populacji keratinomycetes, jak również z nie-keratynofilnymi gatunkami. Uwzględniając teorię Mathinsona (B u r g e s, 1971) mówiącą o udziale grzybów keratynofilnych

w rozkładzie różnych – nie tylko keratynowych białek włóknistych w glebie, można przypuszczać, że współzawodnictwo z innymi grzybami odznaczającymi się zwłaszcza uzdolnieniami proteolitycznymi – jest istotnym czynnikiem warunkującym rozmieszczenie keratinomycetes w glebie. Do takich gatunków przykładowo należą cechujące się silnymi uzdolnieniami mikopasożytniczymi i mikofilnymi *Paecilomyces lilacinus* i *Gliocladium roseum* (D o m s c h, G a m s c h, A n d e r s o n, 1980; R u d a k o v, 1981; C o l e, K e n d r i c k, 1981; S u b r a m a n n i a n, 1983) – powszechnie kolonizujące surowe i przetworzone opady keratynowe w glebie (K o r n i ł ł o w i c z, 1992, 1993).

Obserwacje własne nie wykazały obecności w badanych glabach form pasożytniczych dla człowieka i zwierząt z grupy dermatofitów zoo- i antropofilnych, jak również *Microsporum gypseum* – najczęstszego sprawcy grzybic wywoływanych przez dermatofity geofilne (B a t t e l l i et al., 1978).

Natomiast w obrębie wyodrębnionej populacji grzybów (flora nie-keratynofilna) wysoką częstotliwością występowania charakteryzowały się formy potencjalnie mikopasożytnicze (m.in. w stosunku do grzybów fitopatogenicznych) np. *Gliocladium roseum* oraz owado- i nicieniobójcze tj. *Metarrhizium anisopliae*, *Verticillium lecani*, *V. chlamydosporium*, *Paecilomyces lilacinus* (D o m s c h, G a m s c h, A n d e r s o n, 1980; R u d a k o v, 1981; C o l e, K e n d r i c k, 1981; S u b r a m a n n i a n, 1983) – co z punktu widzenia biologicznej ochrony roślin jest zjawiskiem korzystnym.

Wydaje się więc, że potencjalne właściwości fitosanitarne naturalnych zespołów mikroflory glebowej zasiedlającej pióra oraz brak wśród nich gatunków chorobobójczych dla ludzi i zwierząt stwarzają możliwości wykorzystania tych droboustrojów dla celów praktycznej utylizacji tych dotychczas słabo lub niewłaściwie zagospodarowanych odpadów organicznych.

LITERATURA

- Battelli G., Bianchedi M., Frigo W., Amorati P., Mantovani A., Pagliani A., 1978. Survey of kretinophilic fungi in alpine marmot (*Marmota marmota*) burrow soli in adjoining soli. *Sabouraudia*. 16:83-86.
- Benedek T., 1961. Fragmenta Mycologia I. Some historical remarks on the development of "hairbaiting" of Thoma-Karling-Vanbreuseghem (The To-Ka-Va Hair-baiting Method. *Mycopathol. Mycol. Appl.* 35: 104
- Böhme H., Ziegler H., 1969. The distribution of geophilic dermatophytes and other kretinophilic fungi in relation to the pH of the soli. *Mycopathol. Mycol. Appl.* 38:247-255.
- Burges A., Raw F., 1971. *Biologia Gleby*. (Tlum.) PWRiL, Warszawa.
- Carmichael J. W., 1962. *Chrysosporium* and some other aleuriosporic *Hypomyces*. *Can. J. Bot.* 40: 1137-1173.
- Chmel L., Hasilikova A., Hrasko J., Vlačiliková A., 1972. The influence of some ecological factors on kretinophilic fung in the soil. *Sabouraudia*. 10:26-34.
- Chmel L., Vlačiliková A., 1975. The ecology kretinophilic fungi at different depths of soil. *Sabouraudia*. 13:185-191.

- Chmel L., Vlačiliková A., 1977. Keratinofilne huby v niektorých pochodných typoch a factory ovplyvnujúce ich zastupenie. *Biologia (Bratislava)* 32:53-59.
- Cole G. T., Kendrick B., 1981. *Biology of Conidial Fungi*. 1, 2. Acad. Press. New York.
- Dominik T., 1967. *Chrysosporium* Corda 1833. *Zesz. Nauk WSR Szczecin*. 24:37-66
- Dominik T., Majchrowicz I., 1964. A trial isolating keratinolytic and keratinophilic fungi from the soil of the cemeteries and forestes of Szczecin. *Ekol. Pol. ser. A*. 12: 79-105.
- Dominik T., Majchrowicz I., 1965. Second contribution to the knowledge of keratinolytic and keratinophilic soil fungi in the region of Szczecin. *Ekol. Pol. ser. A*. 13: 416-447.
- Domsch K. H., Gamsch W., Anderson T. H., 1980. *Compendium of Soil Fungi*. 1. Acad. Press. London.
- Dvořák J., Otčenášek M., 1969. *Mycological Diagnosis of Animal Dermatophytoses*. Academia. Prague.
- Garetta G., Piontelli E., 1975. Insolation of keratinophilic fungi from soil Pavia Italy. *Sabouradia*. 13:33-37.
- Hattori T., 1973. *Microbial Life in the Soil. an introduction*. Marcel Dekker. INC. New York.
- Hubalek Z., 1974. Fungi associated with free-living birds in Czechoslovakia and Yugoslavia. *Acta Sc. Nat. Brno* 8: 1-62.
- Jain M., Shukla P. R., Srivastava O. P., 1985. Keratinophilic fungi and dermatophytes in Lucknow soil with their global distribution. *Mycosen*. 28: 148-153.
- Kaczmarek W., 1986. Kształtowanie się biomasy bakterii i grzybów w różnych glebach przy dodatku resztek roślinnych i azotu mineralnego [In]: *Mat. Ogólnopolskiego Symp. na temat: Mikroorganizmy a produktywność biologiczna gleb*. Kraków-Rybro.
- Kornilłowicz T., 1989 a. Wpływ intensywnego nawożenia obornikiem oraz granulatem keratyno-koro-mocznikowym na wybrane zespoły mykoflory glebowej. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 370: 85-96.
- Kornilłowicz T., 1989 b. Występowanie grzybów keratynofilnych w niektórych glebach uprawnych nawożonych granulatem keratyno-koro-mocznikowym oraz obornikiem. *Ibid.* 370: 97-107.
- Kornilłowicz T., 1991. Występowanie mikoflory keratynofilnej oraz innych grzybów izolowanych metodą przynęty keratynowej w glebie nie nawożonej oraz nawożonej granulatem keratyno-koro-mocznikowym. *Ibid.* (w druku).
- Kornilłowicz T., 1992. Badania nad mikoflorą zasiedlającą surowe odpady keratynowe w glebie. *Acta Mycol.* XXVII (2): 231-245.
- Kornilłowicz T., 1993. Badania nad mikoflorą zasiedlającą przetworzone odpady keratynowe w glebie. *Acta Mycol.* XXVIII (1): 19-30.
- Kunert J., 1965. Plosne rozmístění dermatofytu na přirozenem stanovisti. *Cs. Epidem.* 14: 209-214.
- Marples M. J., 1965. The distribution of keratinophilic fungi on soil from New Zealand and from two polynesian islandes. *Mycopathologia* 25: 361-372.
- Marsella R., Mercantini R., Spinelli P., Volterra L., 1985. Occurrence of keratinophilic fungi in animals of the zoological park of Rome. *Mycosen* 28: 507-512.
- McLeer R., 1980. Investigation of keratinophilic fungi from soil in western Australia a preliminary survey. *Mycopathologia* 72: 155-165.
- Mercantini R., Marsella F., Gaprilli G., Dovgiallo., 1980. Isolation of dermatophytes and correlated species from the soil of public gardens and park in Roma. *Sabouradia* 18: 123-128.
- Messiaen C. M., Cassini R., 1968. Recherches sur les Fusarioses. IV – La systematique des *Fusarium*. *Ann. Epiphyties*. 19: 387-454.
- Nooruddin M., Singh B., 1987. Prevalance of dermatophytes and other keratinophilic fungi in soil and dried dung of the premises of buffalo sheds. *Mycosen*. 30: 589-593.
- Nowak A., 1970. Grzyby keratynolityczne i keratynotyfilne wyizolowane z gleby pod hodowlą psów, lisów i norek na terenie Szczecina. *Zesz. Nauk. WSR Szczecin*. 32: 217-221.
- Oorschot van C. A. N., 1980. A revision of *Chrysosporium* and allied genera. *Studies Mycol.* 20.
- Ostrowska K., 1971. Występowanie grzybów keratynolitycznych i keratynofilnych w glebach trzech sadów w województwie szczecińskim. *Zesz. Nauk. WSR Szczecin*, 37: 235-244.
- Otčenášek M., Dvořák J., 1975. Ecological classification of dermatophytes. *Mycosen*. 18: 425-434.
- Prochacki H., Bielutńska S., 1968. Keratinophilic fungi in the soil Szczecin. *Acta Mycol.* 2: 345-349.
- Pugh G. J. F., 1966. Associations between birds, nests, their pH and keratinophilic fungi. *Sabouraudia* 5: 49-53.

- P u g h G. J. F., E v a n s M. D., 1970. Keratinophilic fungi associated with birds. I. Fungi isolated from feathers, nests and soil. *Trans. Br. mycol. Soc.* 54: 233-240.
- R u d a k o v O. L., 1981. Mikofilnyje griby biologija i praktičeskoje značeniye. Acad. Nauk. Moskwa.
- S a f r a n e k W. W., G o o s R. D., 1982. Degradation of wool by saprotrophic fungi. *Can. J. Microbiol.* 28: 137-140.
- S k i r g i e l l o A., Z a d a r a M., 1979. Glonowce (*Phycomycetes*), pleśniakowe (*Mucorales*). [In]: Flora polska. Grzyby (*Mycota*) 10. Warszawa.
- S u b r a m a n n i a n C. V., 1983. *Hyphomycetes*. Taxonomy and Biology. Acad. Press. London - New York.
- V o l l e n k o v á A., 1984. *Microsporum persicolor* a ine keratynofilne huby v pode a v nore hladovcov. *Biologia (Bratislava)* 39: 899-904.

S u m m a r y

The present paper discusses the frequency of occurrence and distribution of keratinophilic fungi in the four following types of arable soils: podzolic soils developed from coarse sand, brown soil formed from heavy loam, and chernozem from loess and black soil chalk. The isolation of keratinomycetes was performed according to the To-Ka-Va method applying traps of feather instead of hair baiting. Pure cultures of fungi were obtained after grafting mycelium grown at soil plates on Sabouraud's agar with actidion and chloramphenicol.

The studies proved that keratinophilic fungi occurred more frequently in soils with higher humus content and slightly acid, weak alkaline reaction compared to strongly acid soils with poor organic matter content. Light soils with small clay fraction were more favourable to the differentiation of keratinomycetes species population than heavy rich humus soils. The most often isolated species were: *Trichophyton ajelloi* (66 %), *Chrysosporium asperatum* (46 %), *C. serratum* together with *Ctenomyces serratus* (39 %) and *T. terrestre*, *Arthroderma quadrifidum* (29 %). The distribution of species was conditioned by the stimulation of growth of *T. ajelloi*, *C. asperatum* in the acid soils and that of *C. serratus*, *T. terrestre* in soils where pH was approximately neutral. The inversely proportional frequency of occurrence of the above mentioned species, in acid and slightly alkaline soils points to the antagonism inside the keratinomycetes population. It was most probably induced by the nutritive competition of the fungi.