

Z Katedry Systematyki i Geografii Roślin Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi UMCS  
Kierownik: prof. dr Józef Motyka

Jacek MALICKI

**Wpływ kwasów porostowych na mikroorganizmy glebowe. Część II.  
Wpływ wyciągów wodnych z gatunków *Cladonia* na bakterie glebowe**

The Influence of Lichen Acids on Soil Microbes. Part. II. The Influence  
of Aqueous Extracts from *Cladonia* Species on Soil Bacteria

Literatura zawiera liczne dane o silnie hamującym wpływie substancji porostowych na bakterie (1, 3, 4, 5, 6). Dotychczas badano głównie wpływ na bakterie chorobotwórcze, brak jest natomiast prac mających na celu prześledzenie, czy nie zachodzi hamowanie przez substancje porostowe bakterii glebowych. Dlatego w pracy zwrócono szczególną uwagę na bakterie saprofityczne, biorące udział w mineralizacji szczątków roślinnych.

MATERIAŁ

Do badań użyto:

a) 9 gatunków porostów naziemnych z rodzaju *Cladonia*, z przewagą gatunków rosnących dużymi i zwartymi kępkami: 1) *Cladonia sylvatica* (L.) Rabenh., zawierająca kwasy d-usninowy i fumaroprotocetrariowy, 2) *Cladonia alpestris* (L.) Rabenh. z kwasami l-usninowym i perlatowym, 3) *Cladonia furcata* (Huds.) Schrad. z kwasem fumaroprotocetrariowym, 4) *Cladonia uncialis* (L.) Web. z kwasami l-usninowym i skwamatowym, 5) *Cladonia rangiferina* (L.) Web. z kwasem fumaroprotocetrariowym i atranoryną, 6) *Cladonia mitis* Sandst. z kwasem d-usninowym, 7) *Cladonia tenuis* (Floerke) Harm. z kwasami d-usninowym i fumaroprotocetrariowym, 8) *Cladonia deformis* (L.) Hoffm. z kwasem l-usninowym i zeoryną, 9) *Cladonia degenerans* (Floerke) Spreng. z kwasami fumaroprotocetrariowym i degeneratowym;

b) wodny wyciąg ze szpilek *Pinus silvestris* L.;

c) krystaliczny kwas usninowy;

d) szczepy bakterii rozkładających celulozę, amonifikujących i wiążących azot atmosferyczny, wyizolowane z gleb leśnych, z gleby kompostowej oraz pochodzące z kolekcji Muzeum Szczepów PZH w Warszawie.

## METODY

Celem uzyskania wodnych wyciągów z plech porostowych rozdrabniano 150 mg wysuszonego w powietrzu porostu i zalewano 2 ml wody destylowanej. Do tej zawiesiny zanurzano na 30 min. w temperaturze pokojowej krążki bibuły o średnicy 1 cm (odczyn wyciągów mieścił się w granicach  $pH$  5,2—5,6). Po usunięciu z krążków bibuły nadmiaru wody kładziono je na powierzchni pożywek z wysianymi zawiesinami bakterii, a płytki umieszczano w temp. 30°.

Krystaliczny kwas usninowy otrzymano metodą Sawicza (6). Kryształki tego kwasu kładziono na powierzchni pożywek z wysianymi bakteriami.

Wodny wyciąg ze szpilek *Pinus silvestris* uzyskiwano przez rozdrobnienie szpilek w młynku i zalanie ich pięciokrotnie większą wagowo ilością wody destylowanej. Zawiesinę trzymano przez 24 godz. w temperaturze pokojowej, po czym odwirowywano przez 20 min. z szybkością 8 000 obrotów na minutę. Odczyn wyciągu ze szpilek posiadał  $pH=5,4$ . Jego wpływ na bakterie badano metodą jamkową.

Do izolacji i hodowli bakterii użyto pożywek selektywnych na stałym podłożu z żelu krzemowego wg Winogradskiego (8) i pożywek agarowych wg Fiodorowa (2) oraz suchego bulionu zwykłego Wytwórni Surowic i Szczepionek w Warszawie w ilości 30 g/l wody destylowanej plus 2% agaru.

## WYNIKI

1. Po 24 godz. hodowli stwierdzono wyraźne strefy hamowania wzrostu bakterii amonifikujących przez wyciągi z porostów zawierających kwas usninowy i przez krystaliczny kwas usninowy. Hamowanie wzrostu stwierdzono w kulturach szczepów uzyskanych z gleb leśnych, z gleby kompostowej, a także wzrostu *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides* i *Pseudomonas fluorescens* (tab. 1).

2. Po 48 godz. stwierdzono wzrost dwóch szczepów *Azotobacter chroococcum* pochodzących z lasu jodłowego i grabowego. Szczepy *A. chroococcum*, *A. vinelandii* i *A. macrocytogenes* z kolekcji PZH rosły wolniej, zarówno w hodowli kontrolnej, jak i na płytkach testowych. Wzrost ich uzyskano dopiero po 96 godz. Wyciągi wodne z badanych roślin oraz krystaliczny kwas usninowy nie wywierały dostrzegalnego wpływu na ich wzrost.

3. Doświadczenia z bakteriami rozkładającymi celulozę wykazały po 96 godz. hodowli, że namnażanie się bakterii z rodzaju *Cytophaga* było hamowane bardzo silnie przez wodne wyciągi z porostów zawierających kwas usninowy i przez krystaliczny kwas usninowy. Natomiast bakterie z rodzaju *Cellvibrio* rozwijały się bez zakłóceń, tak jak kontrolne. Wzrost wszystkich szczepów bakterii rozkładających celulozę był hamowany przez wyciągi wodne ze szpilek sosny. Krążki bibuły, nasycone wyciągami wodnymi z porostów nie zawierających kwasu usninowego nie były rozkładane przez bakterie z rodzaju *Cytophaga* nawet po 21 dniach, podczas gdy kontrolne czyste krążki ulegały rozkładowi równolegle z podłożem, to znaczy w ciągu 15 dni.

Tab. 1. Wpływ wodnych wyciągów z porostów i szpilek sosnowych oraz krystalicznego kwasu usninowego na bakterie glebowe  
The influence of aqueous extracts from lichens and pine needles and that of crystalline usnic acid on soil bacteria

| Badane rośliny<br>Plants examined            | Badanie szczepów bakterii<br>Bacterial strains examined |                      |                    |                     |                        |                  |                   |                     |                       |                         |  |
|--|---|----------------------|--------------------|---------------------|------------------------|------------------|-------------------|---------------------|-----------------------|-------------------------|--|
|  | <i>Cl. sylvatica</i>                                    | <i>Cl. alpestris</i> | <i>Cl. furcata</i> | <i>Cl. uncialis</i> | <i>Cl. rangiferina</i> | <i>Cl. mitis</i> | <i>Cl. tenuis</i> | <i>Cl. deformis</i> | <i>Cl. degenerans</i> | <i>Pinus silvestris</i> | Krystaliczny kwas usninowy<br>Crystalline usnic acid |
| <i>Azotobacter chroococcum</i> PZH           | —   | —                    | —                  | —                   | —                      | —                | —                 | —                   | —                     | —                       | —  |
| <i>A. vinelandii</i> PZH                     | —   | —                    | —                  | —                   | —                      | —                | —                 | —                   | —                     | —                       | —  |
| <i>A. macrocytogenes</i> PZH                 | —   | —                    | —                  | —                   | —                      | —                | —                 | —                   | —                     | —                       | —  |
| <i>A. chroococcum</i> z lasu jodłowego       | —   | —                    | —                  | —                   | —                      | —                | —                 | —                   | —                     | —                       | —  |
| <i>A. chroococcum</i> z lasu grabowego       | —   | —                    | —                  | —                   | —                      | —                | —                 | —                   | —                     | —                       | —  |
| <i>Bacillus subtilis</i> PZH                 | 3   | 2                    | —                  | 1,5                 | —                      | 3                | 2                 | 2                   | —                     | —                       | 3,5  |
| <i>Bacillus mycoides</i> PZH                 | 3   | 2,5                  | —                  | 2                   | —                      | 3                | 1,5               | 3                   | —                     | —                       | 3  |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i> PZH           | 2,5   | 3                    | —                  | 3                   | —                      | 2,5              | 2                 | 3                   | —                     | —                       | 2,5  |
| Szczep amonifikujący z lasu sosnowego        | 2,5   | 3                    | —                  | 2                   | —                      | 1,5              | 2                 | 2,5                 | —                     | —                       | 4  |
| Szczep amonif. z lasu sosnowego              | 3   | 1,5                  | —                  | 3                   | —                      | 3                | 3                 | 1,5                 | —                     | —                       | 3,5  |
| Szczep amonif. z lasu dębowego               | 2   | 2,5                  | —                  | 2                   | —                      | 2,5              | 3                 | 2,5                 | —                     | —                       | 4  |
| Szczep amonif. z lasu dębowego               | 3   | 3                    | —                  | 2,5                 | —                      | 3                | 3                 | 1,5                 | —                     | —                       | 4  |
| Szczep amonif. z lasu bukowego               | 2,5   | 3                    | —                  | 1,5                 | —                      | 2                | 3                 | 3                   | —                     | —                       | 3,5  |
| Szczep amonif. z lasu bukowego               | 3   | 3                    | —                  | 3                   | —                      | 2,5              | 3                 | 2,5                 | —                     | —                       | 3,5  |
| Szczep amonif. z lasu olchowego              | 2,5   | 3                    | —                  | 3                   | —                      | 1,5              | 1,5               | 3                   | —                     | —                       | 5  |
| Szczep amonif. z lasu olchowego              | 3,5   | 2,5                  | —                  | 2                   | —                      | 3                | 2,5               | 1,5                 | —                     | —                       | 4  |
| Szczep amonif. z lasu jodłowego              | 2,5   | 3                    | —                  | 2                   | —                      | 1,5              | 2                 | 2,5                 | —                     | —                       | 3  |
| Szczep amonif. z lasu jodłowego              | 3   | 3                    | —                  | 2,5                 | —                      | 1,5              | 3                 | 2,5                 | —                     | —                       | 3,5  |
| Szczep amonif. z lasu grabowego              | 3   | 3                    | —                  | 1,5                 | —                      | 2                | 2,5               | 3                   | —                     | —                       | 4  |
| Szczep amonif. z lasu grabowego              | 3   | 2,5                  | —                  | 2                   | —                      | 3                | 1,5               | 2                   | —                     | —                       | 3,5  |
| Szczep <i>Cytophaga</i> z gleby kompostowej  | 30  | 33                   | —                  | 40                  | —                      | 25               | 30                | 32                  | —                     | 3,5                     | 30   |
| Szczep <i>Cytophaga</i> z gleby kompostowej  | 32  | 35                   | —                  | 40                  | —                      | 30               | 31                | 30                  | —                     | 4                       | 35   |
| Szczep <i>Cellvibrio</i> z gleby kompostowej | —   | —                    | —                  | —                   | —                      | —                | —                 | —                   | —                     | 4                       | —  |
| Szczep <i>Cellvibrio</i> z gleby kompostowej | —   | —                    | —                  | —                   | —                      | —                | —                 | —                   | —                     | 5                       | —  |

Strefa hamowania wzrostu bakterii podana w mm  
Inhibitory zone of bacteria growth in mm.



## DYSKUSJA I WNIOSKI

W przeprowadzonych badaniach nad wpływem wyciągów wodnych z gatunków rodzaju *Cladonia* na bakterie glebowe stwierdzono następujące zależności:

1. Wyciągi wodne z kilku badanych gatunków *Cladonia* w hodowlach doświadczalnych wpływają hamująco na wzrost bakterii amonifikujących i rozkładających celulozę.

2. Wyciągi wodne z gatunków *Cladonia* nie hamują wzrostu bakterii z rodzaju *Azotobacter*.

3. Najsilniej działają gatunki posiadające kwas usninowy.

4. Krystaliczny kwas usninowy hamuje wzrost bakterii podobnie jak wyciągi wodne z porostów.

5. Działanie bakterii z rodzaju *Cytophaga* (rozkładających celulozę całkowicie) było hamowane nawet przez wyciągi z porostów nie zawierających kwasu usninowego. Krążki impregnowane tymi wyciągami nie ulegały rozkładowi pomimo braku strefy hamowania wzrostu.

6. Wodne wyciągi ze szpilek *Pinus silvestris* nie działały hamująco na wzrost bakterii amonifikujących i wiążących azot atmosferyczny, natomiast hamowały wzrost bakterii rozkładających celulozę.

7. Wpływ wyciągów nie zależy od ich odczynu, ponieważ zarówno wyciągi hamujące, jak i nie hamujące miały podobne *pH*, które wahało się w granicach od 5,2 do 5,6.

Przeprowadzone badania wykazały silnie hamujący wpływ wyciągów wodnych z porostów zawierających kwas usninowy na bakterie znajdujące się w warunkach hodowli laboratoryjnej. Jeśli w naturalnych środowiskach wpływ ten byłby tak samo silny, utrudniałoby to mineralizację podłoża. Pozostaje więc otwarte zagadnienie, czy podobne oddziaływanie uda się prześledzić w podłożu naturalnych zbiorowisk roślinnych z gatunkami *Cladonia*, gdzie gleba zawiera kwas usninowy (5). Zagadnienie to będzie opracowane w następnej serii doświadczeń.

Prof. Drowi J. Motyce serdecznie dziękuję za pomoc w pracy, a Prof. Drowi Z. Lorkiewiczowi wyrażam wdzięczność za przejście niniejszego tekstu.

## PIŚMIENNICTWO

1. Borkowski B. i współprac.: Działanie bakteriostatyczne niektórych związków porostowych z plech *Cetraria islandica* (L.) Ach. i kwasu usninowego. *Dissertationes Pharmaceut.*, 16, 2, 1964.
2. Fiodorow M.: Ćwiczenia praktyczne z mikrobiologii. PWRiL, Warszawa 1952.
3. Follman G., Villagran V.: Lichens as Virus Inhibitors. *Naturwiss.* vol. 51, nr 543, 1964.

4. Korzybski T., Kuryłowicz W.: *Antybiotyki*. PWN, Warszawa 1959.
5. Malicki J.: Wpływ kwasów porostowych na mikroorganizmy glebowe. Część I. Wypłukiwanie kwasów do gleby. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio C*, vol. XX (1965), 16, Lublin, 1966.
6. Sawicz W. P. i współprac.: O nowom antibiotikie iz liszajnikow — natrijewoj soli usninowej kisloty. *Sporowyje rastienija*. Izdat. Akad. Nauk SSSR, Moskwa—Leningrad 1956.
7. Winogradski S.: *Mikrobiologia gleby*. PWRiL, Warszawa 1953.

## Влияние лишайниковых кислот на почвенные микроорганизмы.

### Часть II. Влияние водных вытяжек из видов *Cladonia* на почвенные бактерии

#### Резюме

В работе представлены результаты исследований влияния водных вытяжек из лишайников на почвенные бактерии.

Для исследований были использованы следующие материалы: водные вытяжки из 9 видов лишайников рода *Cladonia*, кристаллическая усниновая кислота, водная вытяжка из игол *Pinus silvestris* и штаммы амонифицирующих бактерий, разлагающих целлюлозу и связывающих атмосферный азот.

В результате исследований установлено, что вытяжки из лишайников, содержащих усниновую кислоту, и кристаллическая усниновая кислота, тормозят рост амонифицирующих и разлагающих целлюлозу бактерий (из рода *Cytophaga*), в то же время не влияя на рост азотобактера.

### The Influence of Lichen Acids on Soil Microbes. Part. II. The Influence of Aqueous Extracts from *Cladonia* Species on Soil Bacteria

#### Summary

This paper presents the results of investigations on the influence of aqueous extracts from lichens on soil bacteria.

For the investigations the following material was used: aqueous extracts from 9 lichen species of the *Cladonia* genus, crystalline usnic acid, aqueous extract from needles of *Pinus silvestris*, and ammonification bacteria which decompose cellulose and bind atmospheric nitrogen.

The results of the investigations carried out allowed the author to conclude that the extracts from lichens containing usnic acid and crystalline usnic acid inhibited the growth of ammonification bacteria and those decomposing cellulose (from the *Cytophaga* genus), but they had no effect on the growth of *Azotobacter*.

