Badania nad wartością pH grzybni niektórych grzybów niszczących drewno

Investigations on pH values of mycelia of some wood-destroying fungi

J. WĄŻNY

WSTĘP

W literaturze naukowej spotyka się dużą ilość prac poświęconych badaniom wpływu koncentracji jonów wodorowych na grzyby. Obejmują one zwykle takie zagadnienia, jak określenie wartości granicznych pH podłoża, na którym rozwijają się grzyby, zmiany pH podłoża w procesie wzrostu grzybów, wpływ odczynu pożywki na procesy życiowe grzybów. W pracach tych można znaleźć tylko nieliczne dane dotyczące koncentracji jonów wodorowych w substancji komórkowej grzybni.

Po raz pierwszy pH substancji komórkowej oznaczył w 1924 roku Robbins, który stwierdził u *Rhizopus nigricans* Ehrenb. $\text{pH} = 5,0$, a u *Fusarium lycopersici* Sacc. $\text{pH} = 5,5$ (Foster 1951).

Amstrong określił pH soku wyciśniętego z owocników grzybów kapeluszowych na $5,9 - 6,2$ (Lilly i Barnett 1951).

Mahdihassan (1930) stwierdził, że wartość pH substancji komórkowej *Fusarium* sp. wynosi $6,1$.

Bünning (1936) posługując się indykatorami ustalił, że pH substancji komórkowej u *Aspergillus niger* v. Tiegh. waha się w granicach $4,2 - 5,0$ i zależna jest od kwasowości środowiska, w którym grzyb rozwija się.

W dostępnej literaturze brak jest jakichkolwiek wyników dotyczących wartości pH substancji komórkowej grzybów niszczących drewno. Stan powyższy był zachętą do podjęcia własnych badań w tej dziedzinie. Celem ich było ustalenie koncentracji jonów wodorowych substancji komórkowej grzybni niektórych grzybów niszczących drewno. Obok stwierdzenia wartości pH grzybni w jednakowych warunkach wzrostu, rozpatrzono jej zmienność w zależności od różnych czynników, jak szczep grzyba, okres wzrostu, temperatura, rodzaj i pH pożywki, gatunek drewna i inne. Wy-

jaśnienie tych zagadnień powinno przyczynić się do lepszego poznania procesów fizjologicznych zachodzących u grzybów, a w szczególności dać podstawę do mikrochemicznej metody ich diagnostyki.

METODYKA BADAŃ

Dla określenia wartości pH substancji chemicznych, a więc i substancji komórkowej stosuje się metody elektrometryczne i kolorymetryczne.

Pierwsza z nich oparta jest na pomiarze różnicy potencjałów pomiędzy badaną substancją a źródłem o znanej sile elektromotorycznej. Do pomiarów stosuje się pH-metry o elektrodach różnych typów: wodorowe, chinhydronowe, szklane itp. Zakres stosowania metody elektrometrycznej w cytologii jest bardzo ograniczony. Zwykle pH-metry wymagają bowiem stosunkowo dużej ilości oznaczanej substancji, czym w przypadku komórki roślinnej rzadko kiedy dysponujemy. Badanie wyciągów substancji komórkowej daje natomiast wyniki obciążone poważnymi błędami, których źródłem jest zmiana wartości pH przy kontakcie z powietrzem. Uniknięcie tych błędów jest możliwe przy zastosowaniu mikroelektrod, które wprowadzone do wnętrza komórki dają właściwy wynik wartości pH substancji komórkowej.

Przy badaniach cytologicznych szerokie zastosowanie znalazła metoda kolorymetryczna. Związana jest ona ze stosowaniem indykatorów — związków chemicznych posiadających zdolność zmieniania swojego koloru przy określonej koncentracji jonów wodorowych. Zmiana koloru w ogólnym zarysie polega na tym, że w zależności od pH środowiska molekuly indykatora znajdują się w stanie zdysocjonowania lub niezdisocjonowania. W związku z tym posiadają one różną zdolność do absorbowania promieni świetlnych, a tym samym powodują różne zabarwienie substancji. Stosuje się zwykle dwa sposoby wprowadzania indykatorów do komórki: przy pomocy barwienia przyżyciowego lub drogą mikroiniekcji. W pierwszym przypadku badaną komórkę lub części organów umieszcza się w roztworze indykatora, a następnie przy pomocy mikroskopu określa zmianę zabarwienia substancji komórkowej. Większość barwników kwaśnych nie wnika jednak do komórek lub daje słabe, mało wyraźne zabarwienie. Z tego względu do metody witalnego barwienia stosuje się barwniki zasadowe, co znacznie ogranicza jej zakres. Barwienie przyżyciowe jako metoda określania pH substancji komórkowej posiada jeszcze i inne wady, jak np. trudność uzyskania jednakowej koncentracji barwnika wewnątrz różnych komórek, co w dużym stopniu obniża dokładność oznaczeń.

Wspomnianych wyżej wad pozbawiona jest metoda mikroiniekcji. Indykator w tym przypadku wprowadza się do komórki przy pomocy mikro-

manipulatora: w postaci roztworu mikropipetką lub mikroigłą w postaci drobniotki proszku.

Po wprowadzeniu indykatora do komórki ustala się charakter zmian jego zabarwienia i na tej podstawie oznacza się wartość pH substancji komórkowej.

Francuski cytofizjolog F. Wlè (M a k a r o w 1953) zaproponował nieco inną metodę określania pH substancji komórkowej. Badany obiekt rozdrabniał on na miazgę i zalewał indykatorem. Dla uniknięcia zmian pH pod wpływem powietrza i ulatniającego się z komórek CO₂ materiał był rozdrabniany po uprzednim zamrożeniu, a wszystkie oznaczenia wykonywano w temperaturze 0°C.

W niniejszej pracy do oznaczania pH substancji komórkowej grzybni zastosowano metodę kolorymetryczną zbliżoną w zasadzie do francuskiej metody Wlè. Niewielkie kawałeczki grzybni zalewano na szkiełku zegar-

Tabela I
Wykaz stosowanych indykatorów

Lp.	Nazwa	Nazwa chemiczna	Zakres pH
1	Błękit tymolowy	tymolo-sulfono-ftaleina	1,2—2,8
2	Tropeolina 00	sól sodowa kwasu 4'anilino-azobenzenu-p-sulfonowego	1,3—3,2
3	Żółcień dwumetylowy	dwumetylo-amino-azobenzen	2,9—4,0
4	Oranż metylowy	dwumetylo-amino-azobenzenu-p-sulfonian	3,1—4,4
5	Błękit bromofenolowy	tetrabromo-fenolo-sulfono-ftaleina	3,0—4,6
6	Czerwień Kongo	dwufenilo-4-4'-bisazo-2-naftylo-amino-1'-sulfonian sodu	3,0—5,2
7	Zieleń bromokresolowa	tetrabromo-m-kresolo-sulfono-ftaleina	4,0—5,6
8	Czerwień metylowa	kwas dwumetylo-amino-azobenzenu-karbonowy	4,4—6,2
9	Błękit bromotymolowy	dwubromo-tymolo-sulfono-ftaleina	6,0—7,6
10	Czerwień obojętna	amino-dwumetylo-amino-metylo-fenochlorek cynku	6,8—8,0
11	Czerwień fenolowa	fenolo-sulfono-ftaleina	6,8—8,4
12	Fenoltaleina	dwu-p-dwuoksyfenylo-ftaleid	8,2—10,0

kowym roztworem indykatora i miazdżono przy pomocy pałeczki szklanej. Uniknięto w ten sposób dość kłopotliwego zamrażania obiektu, a jednocześnie znacznie zmniejszono niebezpieczeństwo zmian pH substancji komórkowej spowodowanych działaniem powietrza. Oznaczanie wartości pH przeprowadzono przez porównanie zabarwionej grzybni z zabarwieniem

roztworów buforowych, do których wprowadzano tę samą ilość indykatora. Roztwory buforowe były przygotowane wg Mc. Ilvaine'a (Homolka 1958) przy zastosowaniu kompozycji roztworów 0,2 M Na_2HPO_4 i 0,1 M kwasu cytrynowego, w odstopniowaniu co pH 0,2. Wykaz używanych indykatorów i ich zakresy podaje tabela 1. Wartość pH grzybni oznaczano w 4 powtórzeniach, równolegle przy pomocy 2—3 indykatorów o zbliżonym zakresie działania, co znacznie zwiększyło dokładność wyników. W przypadku rozbieżności wyników, uzyskanych przy zastosowaniu różnych indykatorów, w tabelach podawano wartości skrajne.

WYNIKI BADAŃ

Wartość pH grzybni gatunków grzybów
niszczących drewno

Badaniom poddano grzybnię 20 gatunków grzybów niszczących drewno pochodzących z kolekcji czystych kultur Zakładu Patologii i Konserwacji Drewna SGGW, a mianowicie: *Merulius lacrymans* (Wulf.) Fr. f. *domesticus* Falck i f. *silvester* Falck, *Merulius pinastri* (Fr.)

Tabela 2
Wartość pH grzybni 15-dniowej

Lp.	Gatunek grzyba	pH grzybni
1	<i>Merulius lacrymans</i> (Wulf.) Fr.	3,8—4,0
2	<i>Merulius pinastri</i> (Fr.) Burt.	3,4—3,6
3	<i>Coniophora cerebella</i> Pers.	3,4—3,6
4	<i>Poria vaporaria</i> Pers.	4,0
5	<i>Poria Vaillantii</i> DC.	3,8
6	<i>Poria medulla-panis</i> Bres.	4,0
7	<i>Paxillus acheruntius</i> Fr.	4,0—4,2
8	<i>Lenzites sepiaria</i> Fr.	4,0—4,2
9	<i>Lenzites betulina</i> Fr.	5,0
10	<i>Lentinus lepideus</i> Fr.	4,2—4,4
11	<i>Daedalea quercina</i> (L.) Fr.	5,0—5,2
12	<i>Polystictus versicolor</i> Fr.	5,0
13	<i>Schizophyllum commune</i> Fr.	5,2—5,4
14	<i>Peniophora gigantea</i> (Fr.) Mass.	5,0—5,2
15	<i>Trametes serialis</i> Fr.	3,4—3,6
16	<i>Trametes pini</i> Fr.	3,8—4,0
17	<i>Fomes igniarius</i> Fr.	4,8
18	<i>Fomes fomentarius</i> Fr.	4,8—5,0
19	<i>Fomes roseus</i> Fr.	5,0
20	<i>Armillaria mellea</i> (Vahl) Quel.	5,0

Burt., *Coniophora cerebella* Pers., *Poria vaporaria* Pers., *Poria Vaillantii* DC., *Paxillus acheruntius* Fr., *Lenzites sepiaria* Fr., *Lenzites betulina* Fr., *Lenzinus lepideus* Fr., *Daedalea quercina* (L.) Fr., *Polystictus versicolor* Fr., *Schizophyllum commune* Fr., *Peniophora gigantea* (Fr.) Mass., *Trametes serialis* Fr., *Trametes pini* Fr., *Armillaria mellea* (Vahl.) Quel., *Fomes igniarius* Fr., *Fomes fomentarius* Fr., *Fomes roseus* Fr. i *Poria medulla-panis* Bres.

Grzybnia wymienionych grzybów hodowana była w szalkach Petriego lub probówkach, na pożywce agarowo-brzeczkowej o składzie: agaru 7 g, brzezki piwnej 10°Be 159 g, wody destylowanej 350 g, w temperaturze 22°C i wilgotności względnej powietrza 75%. Pomiary pH przeprowadzono po 14 dniach od chwili zaszczepienia. Grzybnia była pobierana z krawędzi kolonii, a więc była to grzybnia najmłodsza. Uzyskane wyniki dla poszczególnych gatunków grzybów przedstawione są w tabeli 2. Na ich podstawie można stwierdzić, że grzybnia badanych gatunków grzybów rozkładających drewno hodowana w jednakowych warunkach posiadała różną wartość pH substancji komórkowej, która wahała się w granicach od 3,4 do 5,4. Najwyższą wartość uzyskala grzybnia *Schizophyllum commune* (pH 5,2—5,4) oraz *Daedalea quercina* i *Peniophora gigantea* (pH 5,0—5,2), najniższą grzybnia *Trametes serialis*, *Coniophora cerebella* i *Merulius pinastri* (pH 3,4—3,6).

Wartość pH grzybni różnych szczepów

Celem niniejszego doświadczenia było zbadanie, czy wartość pH grzybni rozwijającej się w tych samych warunkach jest stałą dla gatunku grzyba, czy też zmienia się w zależności od szczepu. Oznaczono więc pH grzybni następujących 5 szczepów *Merulius lacrymans*: trzy f. *domesticus*: stan-

Tabela 3
Wartość pH grzybni różnych szczepów

Lp.	Gatunek grzyba	Szczep	pH grzybni
1	<i>Merulius lacrymans</i> (Wulf.) Fr	standard	3,8—4,0
		Warszawa I	4,4—4,8
		„ II	4,6—4,8
		„ III	3,4—3,6
		„ IV	3,0—3,2
2	<i>Coniophora cerebella</i> Pers.	standard	3,6—3,8
		Moskwa	4,4—4,8
		Warszawa I	3,6—3,8
		„ II	3,8
		„ IV	3,8

dard (Eberswalde), Warszawa I, II i dwa f. *silvester*: Warszawa III, IV oraz 5 szczepów *Coniophora cerebella*: standard (Eberwalde), Warszawa I, II, IV i Moskwa. Kultury tych szczepów hodowano na pożywce agarowo-brzeczkowej o składzie podanym wyżej, w temperaturze 22°C i wilgotności względnej powietrza 75%. Do pomiarów pobierano grzybnę z krawędzi kolonii, po 15 dniach od chwili zaszczepienia. Uzyskane wyniki (tab. 3) wskazują na wyraźne różnice istniejące pomiędzy wartościami pH grzybni różnych szczepów jednego gatunku grzyba. Wartości te zarówno u *Merulius lacrymans* i *Coniophora cerebella* wahały się w dość szerokich granicach, nieznacznie tylko węższych od zakresu, jaki uzyskano dla różnych grzybów rozkładających drewno.

Wartość pH grzybni w różnych okresach wzrostu

Grzyby rozkładające drewno w czasie swojego rozwoju wydzielają do otoczenia szereg produktów przemiany materii, a wśród nich różne kwasy organiczne jak szczawiowy, cytrynowy i in. Birkinshaw Findlay i Webb (1940) stwierdzili, że *Merulius lacrymans* i *Coniophora cerebella* dzięki wydzielanym przez siebie kwasom mogą sprowadzić kwasowość roztworu słodowego o początkowym pH 6,8 do wartości równej 2. Autorzy nie podają jednak, jak kształtowała się w tym czasie wartość pH grzybni.

Dla zbadania tego zagadnienia przeprowadzono w niniejszej pracy do-

Tabela 4

Wartość pH pożywki i grzybni w różnych okresach wzrostu

Lp.	Okres wzrostu w dniach	<i>Merulius lacrymans</i>		<i>Coniophora cerebella</i>		<i>Poria vaporaria</i>		<i>Paxillus acheruntius</i>	
		pH pożywki	pH grzyb.	pH pożywki	pH grzyb.	pH pożywki	pH grzyb.	pH pożywki	pH grzyb.
1	0	5,8	—	5,8	—	3,8	—	5,8	—
2	5	5,0	4,2	3,8	4,0	3,6	4,0—3,8	4,0	4,2
3	10	3,6—3,4	4,2—4,0	3,6	3,8—3,6	3,2	3,8—3,6	3,6—3,4	3,8
4	15	3,4—3,2	3,8	3,2—3,0	3,6	3,0—2,8	3,6—3,4	3,2—3,0	3,6
5	20	3,2—3,0	3,8	3,0	3,6	2,6	3,4	3,0	3,6
6	25	3,0	3,8	3,0—2,8	3,6	2,4	3,2	2,8	3,4
7	30	2,8	3,8	2,8	3,4	2,2	3,0	2,8	3,4—3,2
8	35	2,8	3,6	2,8	3,4	2,2	3,0	2,8	3,2
9	40	2,6	3,6	2,6	3,4	2,2	3,0	2,6	3,2
10	45	2,6	3,6	2,6	3,2	2,0	3,0	2,6	3,0
11	50	2,4	3,4	2,4	3,2	2,0	3,0	2,4	3,0
12	55	2,4	3,4	2,4	3,2	2,0	3,0	2,2	3,0
13	60	2,2	3,4	2,4	3,2	2,0	3,0	2,2	3,0

świadczenie z czterema grzybami niszczącymi drewno: *Merulius lacrymans*, *Coniophora cerebella*, *Poria vaporaria* i *Paxillus acheruntius*. Kultury ich zaszczipiono na pożywce agarowo-brzeczkowej i przechowywano w temperaturze 22°C i wilgotności względnej powietrza 75%. W odstępach 5-dniowych przeprowadzano oznaczenia wartości pH grzybni oraz pożywki. Zarówno grzybnie, jak i pożywkę pobierano stale z jednakowej odległości od inokulum. Uzyskane wyniki zebrano w tabeli 4 i na rys. 1. Stwierdzono, że w miarę wzrostu grzybni nastąpiło obniżanie się jej pH pH pożywki. Wartość pH substancji komórkowej grzybni zmniejszała się na ogół jednostajnie w czasie, osiągając najniższą wartość pH 3,0—3,4,

Rys. 1. Wartość pH grzybni w zależności od czasu wzrostu.
a — *Merulius lacrymans*; b — *Coniophora cerebella*; c —
Poria vaporaria; d — *Paxillus acheruntius*

przy początkowym pH 4,0—4,2. Najmniejszą wartość osiągnęła grzybnia *Poria vaporaria* (pH 3,0), największą *Merulius lacrymans* (3,4).

Wartość pH pożywki w tym samym czasie kształtowała się mniej jednostajnie. W pierwszych dwóch okresach 5-dniowych stwierdzono znaczne obniżenie pH od wartości początkowej 5,8 do 3,2—3,6, później tempo spadku było wolniejsze. Największe obniżenie po 60 dniach spowodował grzyb *Poria vaporaria* (do pH 2), najmniejsze *Paxillus acheruntius* (do pH 2,4). We wszystkich przypadkach wartość pH grzybni była wyższa niż pH pożywki, z wyjątkiem początkowego okresu (5 dni) u *Merulius lacrymans*.

Wartość pH grzybni w okresie kształtowania owocników

Podany wyżej przebieg zmian wartości pH substancji komórkowej i pożywki miał miejsce przy normalnym wzroście wegetatywnym grzybni. W okresie wykształcania owocników substancja komórkowa podwyższała

swą wartość pH. Zjawisko to stwierdzono na podstawie przeprowadzonych obserwacji. Naczynia z czystymi kulturami różnych grzybów niszczących drewno trzymane przez pewien czas w miejscu oświetlonym rozproszonym światłem dziennym. Po okresie od 1 1/2 do 6 miesięcy w naczyniach zaczęły się tworzyć owocniki, nie zawsze zresztą w normalnej swojej postaci. Przeprowadzono oznaczenia wartości pH tkanki strzępkowej tych owocników oraz, dla celów porównawczych, grzybni z tych samych naczyń. Wyniki wykazały (tab. 5), że pH substancji komórkowej w miarę

Tabela 5
Wartość pH owocników

Lp.	Gatunek grzyba	Wiek	Wartość pH	
			grzybni	owocnika
1	<i>Merulius lacrymans</i>	6 m	3,0	4,2
2	<i>Coniophora cerebella</i>	1 m	3,4	4,2—4,4
3	<i>Poria vaporaria</i>	2 m	3,2	4,8—5,0
4	<i>Lenzites sepiaria</i>	1,5 m	3,8	5,0
5	<i>Lenzites betulina</i>	2 m	3,6—3,8	4,2
6	<i>Lentinus lepideus</i>	2 m	3,6	5,0—5,2
7	<i>Schizophyllum commune</i>	3 m	3,6—3,8	5,0
8	<i>Poria medulla-panis</i>	3 m	3,4	4,0
9	<i>Daedalea quercina</i>	2 m	3,0—3,2	5,4

kształtowania się owocników podwyższała się. Jest to niewątpliwie związane z procesami biochemicznymi zachodzącymi w tym czasie w strzępkach grzybni. W końcowym okresie odczyn owocników był na ogół o 1—2 pH wyższy niż grzybni w tym samym naczyniu. Szczególnie duże różnice zaobserwowano u *Daedalea quercina*, gdzie owocnik wykazał pH 5,4, podczas gdy grzybnia pH 3,0—3,2.

Wartość pH grzybni na różnych pożywkach

Skład chemiczny grzybni hodowanej na różnych pożywkach niekiedy znacznie się różni. Kulturowanie grzybów na pożywkach o dużej zawartości soli mineralnych, związków azotowych lub węglowodanów prowadzi zwykle do zwiększenia ilości tych związków w grzybni (Foster 1949). Z drugiej strony, grzyby niezależnie od składu pożywki mogą z dużą łatwością i stałością syntezować niezliczoną ilość związków wchodzących w skład komórki. W różnych warunkach odżywiania tworzą się komórki zawierające zawsze te same podstawowe składniki. W związku z tym nasuwa się pytanie, w jakim stopniu rodzaj i skład pożywki wpływa na wartość pH grzybni. Dla wyjaśnienia tego zagadnienia zaszczerpiono 4 ga-

tunki grzybów: *Merulius lacrymans*, *Coniophora cerebella*, *Poria vaporaria* i *Paxillus acheruntius* na 4 rodzaje pożywek stosowanych w praktyce laboratoryjnej. Rodzaj i skład pożywek był następujący:

1) pożywka agarowo-brzeczkowa: agaru 7 g, brzezki piwnej 150 g, wody destylowanej 350 g,

2) pożywka agarowo-sacharozowa: agaru 3 g, sacharozy 3 g, wody destylowanej 150 g,

3) pożywka trocinowo-brzeczkowa: trocin sosnowych 10 g, brzezki piwnej 5 g,

4) pożywka syntetyczna Tubeufa: NH_4NO_3 1 g, K_2HPO_4 0,5 g, MgSO_4 0,1 g, kwasu mlekowego 0,2 g, wody destylowanej 100 g, bibuła filtracyjna.

Po 15 dniach wzrostu oznaczano wartość pH grzybni. Rezultaty doświadczenia zebrane w tab. 6 wskazują na duży wpływ rodzaju i składu pożywki na kwasowość substancji komórkowej grzybni. Na każdej z ba-

Tabela 6
Wartość pH grzybni na różnych pożywkach

Lp.	Gatunek grzyba	Wartość pH grzybni na pożywce			
		agarowo-brzeczkowej	sacharozowej	trocinowej	syntetycznej
1	<i>Merulius lacrymans</i>	3,8	3,8—4,0	4,2	4,4—4,6
2	<i>Coniophora cerebella</i>	3,6	4,4	4,2	4,0
3	<i>Poria vaporaria</i>	3,8	3,4	3,8—4,0	4,0
4	<i>Paxillus acheruntius</i>	4,2	3,4	3,6	4,6

danych pożywek grzybnia miała inny odczyn pH. Różnice pomiędzy wartościami pH wynosiły niekiedy ponad 1 pH. Największe pH stwierdzono u wszystkich gatunków grzybów na pożywce syntetycznej. Grzybnia *Merulius lacrymans* i *Coniophora cerebella* miała najmniejsze pH na pożywce agarowo-brzeczkowej, a *Poria vaporaria* i *Paxillus acheruntius* na agarowo-sacharozowej.

Wartość pH grzybni w zależności od zawartości cukru w pożywce

Dla zbadania wpływu koncentracji cukru w pożywce na wartość pH grzybni przeprowadzono następujące doświadczenie. Przygotowano pożywki agarowe o serii stężeń glikozy od 0,5 do 10% oraz, dla celów porównawczych, pożywkę bez cukru. Pożywki zaszczerpiono grzybnią *Merulius lacrymans*, *Coniophora cerebella*, *Poria vaporaria* i *Paxillus acheruntius*.

runtius, a po 15 dniach oznaczono pH substancji komórkowej grzybni (tab. 7). Zależnie od gatunku grzyba wartość pH kształtowała się rozmaicie. U *Merulius lacrymans* i *Paxillus acheruntius* stwierdzono w granicach koncentracji cukru 0—1,0% obniżanie kwasowości, a powyżej

Rys. 2. Wartość pH grzybni w zależności od zawartości glikozy w pożywce. a — *Merulius lacrymans*; b — *Coniophora cerebella*; c — *Poria vaporaria*; d — *Paxillus acheruntius*

1,0% do ok. 5% przy pierwszym grzybie i ok. 8% przy drugim jej wzrost. Grzybnia *Merulius lacrymans* powyżej 5% zawartości cukru utrzymywała pH na jednym poziomie. Inaczej zmieniała się kwasowość grzybni *Poria vaporaria*. W miarę wzrostu zawartości cukru stwierdzono tu słaby wzrost pH do stężenia 8%, powyżej którego odczyn nie ulegał zmianie. Natomiast

Tabela 7

Wartość pH grzybni w zależności od zawartości cukru w pożywce

Lp.	Zawartość glikozy w %	Wartość pH grzybni			
		<i>Merulius lacrymans</i>	<i>Coniophora cerebella</i>	<i>Poria vaporaria</i>	<i>Paxillus acheruntius</i>
1	0	3,8	3,8	4,0	4,2
2	0,5	3,6	4,2	4,4	3,4
3	1,0	3,6	4,2	4,6	3,4
4	3,0	4,0	4,0	4,8	3,6
5	5,0	4,2	4,0	5,0	3,6
6	8,0	4,2	3,8	5,2	3,8
7	10,0	4,2	3,8	5,2	3,8

wartość pH grzybni *Coniophora cerebella* po początkowym wzroście w granicach koncentracji cukru 0 — 1,0% rozpoczęła stopniowe zmniejszanie się. Na podstawie przeprowadzonych obserwacji można więc stwierdzić, że wartość pH grzybni różnych gatunków grzybów kształtuje się w zależności od zawartości cukru w pożywce bardzo indywidualnie.

Wartość pH grzybni w zależności od pH pożywki

Obserwacje w zakresie wpływu pH pożywki na pH substancji komórkowej grzybni poczyniono na kulturach grzybów *Merulius lacrymans*, *Coniophora cerebella*, *Poria vaporaria* i *Paxillus acheruntius*. Grzybnie tych gatunków zaszczerpiono na pożywcę agarowo-brzeczkowej o następujących kwasowościach: pH 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10. Odczyn pożywek regulowano przy pomocy kwasu mlekowego i NaOH. Po 15 dniach wzrostu oznaczano pH grzybni powietrznej, nie mającej bezpośredniego kontaktu

Tabela 8

Wartość pH grzybni w zależności od pH pożywki

Lp.	pH pożywki	Wartość pH grzybni			
		<i>Merulius lacrymans</i>	<i>Coniophora cerebella</i>	<i>Poria vaporaria</i>	<i>Paxillus acheruntius</i>
1	2	—	—	—	—
2	3	3,4	3,6	3,6	3,6
3	4	3,6	3,6	3,6	3,6
4	5	3,8	3,8	3,8	3,8
5	6	4,0	3,8	4,0	4,0
6	7	4,0	4,0	4,2	4,0
7	8	4,0	4,0	4,2	4,0
8	9	—	4,0	—	—
9	10	—	—	—	—

z podłożem. Wyniki wykazały (tab. 8), że w miarę wzrostu pH pożywki zwiększa się również pH substancji komórkowej. Wzrost ten zachodził jednak niewspółmiernie wolniej i osiągnął maksymalny poziom pH 4 — 4,2 przy pH pożywki 6 lub 7. Dalszy wzrost pH pożywki nie zmieniał pH grzybni, ale powyżej pH 8 lub 9 umożliwiał jej wzrost.

Wartość pH grzybni na różnych gatunkach drewna

Szereg grzybów niszczących drewno może rozwijać się na różnych jego gatunkach, często zarówno liściastych jak i iglastych. Aczkolwiek zasadniczy skład chemiczny drewna jest zbliżony u wszystkich gatunków, występują pewne różnice mogące mieć wpływ na rozwój grzybów. Niektóre gatunki drewna zawierają substancje toksyczne utrudniające rozwój grzybów. Na przykład duża odporność drewna dębowego (twardziel) spowodowana jest zawartością taniny i garbników. O odporności sosny decydują substancje fenolowe, jak pinosilwin i eter pinosilwinowy, o odporności tui kwas dehydroperilliczny (Cartwright i Findlay

1951). Również kwasowość różnych gatunków drewna nie jest jednakowa. Według Scheilego i Trendelenburga (Krzysik 1953) drewno bielaste jodły posiada odczyn pH 5,48, daglezi 5,83, modrzewia 5,42. Wszystkie te czynniki mogą wywierać wpływ na kwasowość grzybni rozwijającej się w różnych gatunkach drewna.

Dla stwierdzenia wielkości pH grzybni w różnych gatunkach drewna przeprowadzono następujące doświadczenia. Próbkę czterech gatunków drewna, tj. sosny, świerka, buka i dębu poddano działaniu grzybów *Merulius lacrymans*, *Coniophora cerebella*, *Poria vaporaria* i *Paxillus ache-runtius* w oddzielnych kolbach Erlenmayera. Po trzech tygodniach próbki

Tabela 9
Wartość pH grzybni na różnych gatunkach drewna

Lp.	Gatunek drewna	Wartość pH grzybni			
		<i>Merulius lacrymans</i>	<i>Coniophora cerebella</i>	<i>Poria vaporaria</i>	<i>Paxillus acheruntius</i>
1	sosna	4,0	4,8	3,4	4,0
2	świerk	4,2—4,0	4,4	3,6	4,2
3	buk	3,8	3,6	3,4	3,6
4	dąb	3,4	3,4	3,2	3,2

wyjęto, oczyszczono z grzybni i umieszczono w wilgotnych kamerach. Na powierzchni próbek rozwinęła się bujnie grzybnia powierzchniowa, której wartość pH oznaczono po 15 dniach. Uzyskane wyniki zebrano w tabeli 9.

Stwierdzono, że pH substancji komórkowej grzybni była różna przy wzroście na różnych gatunkach drewna. Grzyb *Coniophora cerebella* osiągnął największą wartość pH na drewnie sosny, pozostałe gatunki na świerku. Najmniejszą wartość wszystkie grzyby osiągnęły na drewnie dębowym.

Wartość pH grzybni w obecności fungicydu

W warunkach praktyki mają miejsce przypadki rozwoju grzybów na drewnie nasyconym słabymi roztworami środków grzybobójczych. Również w pracy laboratoryjnej, przy badaniach toksyczności, wzrost grzybni na drewnie lub innym podłożu o pewnej zawartości fungicydu jest zjawiskiem powszechnym. Mechanizm działania fungicydów jest dotychczas słabo opracowany. Przypuszczać należy, że działanie toksyczne jonów różnych pierwiastków będzie ściśle związane z koncentracją jonów wodnorodowych w substancji komórkowej.

W niniejszej pracy przeprowadzono doświadczenie mające na celu zbadanie wartości pH grzybni rozwijającej się przy różnej koncentracji

fungicydu w pożywce. W tym celu przygotowano w pożywce agarowo-brzeczkowej serię stężeń klasycznego już środka grzybobójczego — fluorku sodu (NaF). Seria obejmowała następujące stężenia: 0,02 — 0,04 — 0,06 — 0,08 — 0,10 — 0,12 — 0,14 oraz stężenie kontrolne 0. Pożywkę szczepiono grzybnia *Merulius lacrymans*, *Coniophora cerebella*, *Poria vapo-*

Rys. 3. Wartość pH grzybni w zależności od zawartości fluorku sodu w pożywce, a — *Merulius lacrymans*; b — *Coniophora cerebella*; c — *Poria vaporaria*; d — *Paxillus aceruntius*

aria i *Paxillus aceruntius*. Po 15 dniach wzrostu oznaczano wartość pH. Wyniki zebrane w tab. 10 wskazują na wpływ fluorku sodu na wartość pH grzybni. W miarę wzrostu koncentracji fungicydu wzrasta pH grzybni wszystkich badanych grzybów, osiągając maksimum przy stężeniu poprzedzającym stężenie toksyczne, tj. uniemożliwiającym wzrost. Należy

Tabela 10

Wartość pH grzybni w zależności od stężenia fungicydu (fluorku sodu)

Lp.	Stężenie fluorku sodu	Wartość pH grzybni			
		<i>Merulius lacrymans</i>	<i>Coniophora cerebella</i>	<i>Poria vaporaria</i>	<i>Paxillus aceruntius</i>
1	0	3,8	3,6	4,0	3,8
2	0,02	3,8	3,8	4,2	4,0
3	0,04	4,0	3,8	4,4	4,2
4	0,06	4,2	4,0	—	4,4
5	0,08	4,4	4,2	—	4,4
6	0,10	—	4,4	—	4,6
7	0,12	—	—	—	4,6
8	0,14	—	—	—	—

podkreślić, że dla większości grzybów maksymalne pH substancji komórkowej wyniosło 4,4 lub 4,6, przy czym wartość tę osiągnęły poszczególne grzyby przy różnej koncentracji fluorku sodu.

Wartość pH grzybni w różnych temperaturach

Temperatura wywiera wpływ na wszystkie zjawiska życiowe grzybów, a więc i na przebieg przemiany materii. Szybkość i jakość procesów biochemicznych zachodzących w komórkach grzybni uzależnione są w głównej mierze od działania enzymów, a te z kolei wykazują dużą wrażliwość na temperaturę. W literaturze można znaleźć dane wskazujące, że przy

Rys. 4. Wartość pH grzybni w zależności od temperatury.

a — *Merulius lacrymans*; b — *Coniophora cerebella*; c — *Poria vaporaria*; d — *Paxillus acheruntius*

podwyższeniu temperatury o 10°C szybkość wielu biochemicznych reakcji zwiększa się dwukrotnie, naturalnie w ściśle ograniczonych przedziałach temperatury (Foster 1949). Temperatura będzie zatem wpływać również i na wydzielanie różnych produktów przemiany materii, a tym samym na skład chemiczny i prawdopodobnie wartość pH komórek.

Tabela 11
Wartość pH grzybni w zależności od temperatury

Lp.	Gatunek grzyba	Wartość pH grzybni w temperaturze		
		5°C	20°C	30°C
1	<i>Merulius lacrymans</i>	5,0—5,2	4,8	3,8
2	<i>Coniophora cerebella</i>	4,6	3,6	3,4
3	<i>Poria vaporaria</i>	5,2	4,6	3,6—3,8
4	<i>Paxillus acheruntius</i>	3,8—4,0	3,6	3,4

Dla wyjaśnienia tego ostatniego zagadnienia poddano oznaczeniu wartości pH grzybnię *Merulius lacrymans*, *Coniophora cerebella*, *Poria vaporaria* i *Paxillus acheruntius* hodowaną w różnych temperaturach. W tym celu grzybnię zaszczipiono na pożywce agarowo-brzeczkowej. Po 3 dniach wzrostu w temperaturze 20°C naczynia podzielono na 3 części, jedną pozostawiając w tych samych warunkach, drugą przenosząc do temperatury 5°C, trzecią do 30°C. Po 15 dniach wzrostu oznaczano wartość pH grzybni. Wyniki zebrane w tab. 11 wykazują, że temperatura wzrostu wywiera wpływ na wartość pH grzybni. W miarę wzrostu temperatury wartość pH grzybni obniżała się u wszystkich badanych gatunków.

WYNIKI I WNIOSKI

Przeprowadzono metodą kolorymetryczną oznaczenia koncentracji jonów wodorowych (pH) grzybni 20 grzybów niszczących drewno. Stwierdzono, że różne gatunki grzybów przy wzroście w tych samych warunkach wykazują różne wartości pH grzybni. Wartości te nie były stałe, ale zmieniały się w pewnych granicach, w zależności od szczepu grzyba, okresu i temperatury wzrostu, gatunku drewna, rodzaju pożywki, zawartości cukru, pH pożywki oraz stężenia fungicydu. W miarę wpływu czasu wzrostu wartość pH grzybni i pożywki obniżała się, przy czym pH grzybni było na ogół zawsze wyższe od pH pożywki. Procesowi wykształcania się owocników towarzyszył wzrost pH. Wartość pH owocników we wszystkich przypadkach była dużo wyższa niż pH grzybni. Wartość pH grzybni zmniejszała się ze wzrostem temperatury, a zwiększała w miarę wzrostu zawartości glikozy w pożywce oraz pH pożywki. Stwierdzono również wzrost wartości pH grzybni w miarę podwyższania koncentracji fluorku sodu w pożywce.

Zakład Patologii i Konserwacji Drewna
Szkół Główniej Gospodarstwa Wiejskiego

(Wpłynęło dn. 25.10.1959 r.)

SUMMARY

The determinations of pH values, using colorimetric method, were carried out on 20 species of wood-destroying fungi. It was stated that different species of fungi when cultivated in the same conditions show different pH values of their mycelia. These values were not constant and varied to some extent depending on the strain of the fungus, time and temperature of the growing period, kind of nutrient solution, sugar content, pH of the medium and on the concentration of fungicides. With increasing age of the culture the pH values of the medium and mycelium decrease, however, pH of mycelium is usually higher than that of the

medium. The process of the fruiting bodies formation was accompanied by rise of the pH value. In all instances pH value of the fruiting bodies was much higher than that of the mycelium. The pH of the mycelium decreases with increasing temperature and increases with the increasing glucose concentration in the medium and with its increasing pH value. An increase of pH value of the mycelium was also stated when the concentration of sodium fluoride in the medium increased.

LITERATURA

- Birkinshaw J. H., Findlay W. P. K., Webb R. A., 1940, *Biochem. J.* 34: 906—916.
- Bünning E., 1936, *Flora* 131: 81—112.
- Cartwright K. St. G., Findlay W. P. K., 1951, *Rozkład i konserwacja drewna*, Warszawa, PWRL.
- Foster J. W., 1949, *Chemical activities of fungi*, New York. Tłum. ros., Moskwa 1950.
- Homolka J., 1956, *Chemická diagnostika*, Praha, tłum. pol., Warszawa 1958.
- Krzsik Fr., 1957, *Nauka o drewnie*, PWRL, Warszawa.
- Lilly V., Barnett H., 1951, *Physiology of the fungi*, tłum. ros., Moskwa 1953.
- Mahdihassan S., 1930, *Biochem. Z.* 226: 203—208.
- Makarow P. W., 1953, *Osnovy cytologii*, Moskwa.