

PREŽIVLJAVANJE AKTINOMICETA NA VIŠIM KONCENTRACIJAMA FENOLA

With Summary in English

ZLATKO PAVLETIĆ, IGNAC MUNJKO, BOŽIDAR STILINOVIĆ
i ARISTOTEL DŽINGOV

(Institut za botaniku Sveučilišta u Zagrebu)

Primljeno 21. 1. 1972.

Uvod

Fenol i njegovi spojevi toksične su organske tvari, koje su glavni sastojci mnogih industrijskih voda. Defenolizacija otpadnih voda postaje danas u vrijeme intenzivne industrijalizacije sve veći problem, jer zagađivanje fenolom rijeka, jezera i mora šteti ne samo ribljem fondu već i ostalim organizmima koji nastavaju spomenute biotope.

Pročišćavanje otpadnih voda od fenolnih spojeva obavlja se kemijskim, fizičko-kemijskim i biološkim metodama. Posljednja metoda je najefikasnija, a temelji se na sposobnosti nekih mikroorganizama da s pomoću enzima razgrađuju fenol. Biološka defenolizacija otpadnih voda provodi se danas najčešće u aeriziranim rezervoarima s aktivnim muljem koji sadržava »zoogloea« bakterije, a ustanovljeno je da ti mikroorganizmi razgrađuju fenol i u koncentraciji do 2.000 mg/l. U industrijskim otpadnim vodama često se nalaze i više koncentracije fenola od 2.000 mg/l, pa se takve vode moraju prije biološke obrade razrijediti vodom, kako bi se fenol mogao razgraditi u zadovoljavajućem postotku. Problemom biološke oksidacije fenola s pomoću raznih vrsta mikroorganizama bave se danas mnogi autori kao Hartmann i Singrum (1968), Munjko (1969), Munjko, Pavletić i Stilinović (1970) i drugi. Vrlo oskudne podatke susrećemo u literaturi o razgradnji fenola s pomoću aktinomiceta (Putulina 1959).

U ovom radu ispitivali smo sposobnost rasta različitih sojeva aktinomiceta na hranjivim podlogama, koje su sadržavale fenol u koncentracijama od 200 do 1500 mg/l. Prilikom pokusa nastojali smo utvrditi promjene pigmentacije vegetativnog i zračnog micelija onih sojeva aktinomiceta koji su preživjeli na visokim koncentracijama fenola.

Materijal i metode

Sojevi aktinomiceta koji su upotrijebljeni u ovim istraživanjima izolirani su s različitih tala i geografskih širina (okolica Zagreba, Poreča, planinska tla Buševе i Pelistera, te područja Abiska i Narvika).

Izdvajanje aktinomiceta izvršena je razmazivanjem 0,1 ml razrijeđene suspenzije uzorka zemlje po površini modificiranog Czapekova agara u Petrijevim zdjelicama, a inkubacija je trajala 8 — 10 dana pri temperaturi od 28 °C. Upotrijebljena hranjiva podloga ovog je sastava:

NaNO ₃	2	g
K ₂ HPO ₄	1	g
KCl	0,5	g
MgSO ₄ 7 H ₂ O	0,5	g
FeSO ₄	0,01	g
Amylum solubile	20	g
Agar	15	g
Dest. voda	1000	ml
pH 7,2 — 7,4		

Izrasli sojevi aktinomiceta presađivani su u čiste kulture na kosi agar istog sastava, gdje su pokazali dobru sporulaciju, a u našim pokusima upotrebljavani su nakon sedmodnevne inkubacije kod 28 °C.

Sveukupno je sa spomenutih područja izolirano 160 sojeva aktinomiceta, a njihova determinacija je izvršena prema sistemu G a u z e a (1958). Izolirani sojevi svrstani su u 15 serija, i to: *Lavendulae* — *Roseus* (12), *Fradiae* (9), *Fuscus* (4), *Roseoviolaceus* (4), *Ruber* (1), *Helvolus* (4), *Albus* (20), *Albosporeus* (2), *Coerulescens* (9), *Griseus* (27), *Nigrescens* (2), *Chrysomallus* (4), *Aureus* (29), *Chromogenes* (11), *Violaceus* (22).

Odabrane sojeve aktinomiceta presađivali smo s kosog agara u Petrijeve ploče s prije navedenom podlogom, kojoj je dodan fenol u koncentraciji od 200 mg/1. Nakon sedmodnevne inkubacije pri 28 °C presađivali smo sojeve koji su tvorili zračni micelij na istu podlogu s većom koncentracijom fenola. Presađivanje na još veće koncentracije fenola u podlozi trajalo je sve dok je pojedini soj bio sposoban rasti u obliku zračnog micelija. U pokusima smo na svaku ploču nacjepljivali po 6 sojeva (slika 1). U toku pokusa praćena je promjena boje zračnog i vegetativnog micelija na različitim koncentracijama fenola u podlozi, a nakon izvršenih ispitivanja testirani sojevi aktinomiceta koji su preživjeli na koncentracijama fenola od 1000 i 1500 mg/1 ponovno su uzgojeni na podlozi bez fenola, te je određena boja vegetativnog i zračnog micelija.

Rezultati i tumačenja

Aktinomiceti su uzgajani na modificiranoj Czapekovoј podlozi (sa škrobom) u kojoj se nalazio fenol u koncentracijama od 200, 500, 750, 1000 i 1500 mg/1.

U tabeli 1. prikazan je rast 160 sojeva aktinomiceta izdvojenih iz različitih vrsta tala pri raznim koncentracijama fenola u podlozi, njihova pripadnost serijama prema sistemu G a u z e a i promjena boje vegetativnog i zračnog micelija kod pojedinih koncentracija.

Tabela 1 — Rast i promjena boje vegetativnog i zračnog micelija sojeva aktinomiceta na podlogama sa raznim koncentracijama fenola

Table 1 — Growth and change of colour of vegetative and areal mycelium of the actinomycetes strains on the media with different phenol concentrations

Serija	Broj sojeva	Konzentracija fenola u mg/l								Promjena boje i veg. zračnog micelija Change of colour of veg. and. aerial mycelium				
		200	500	750	1000	1500	200	500	750		1000	1500		
Series	Number of strains	Broj živih sojeva Number of living strains												
LAVENDULAE-ROSEUS	12	12	12	9	1	1				+	+	+	+	+0
FRADIAE	9	9	0	5	1	1					+	+	+	+0
FUSCUS	4	4	4	1	1	1					+	+	+	0
ROSEOVIOFACEUS	4	4	4	3	2	1					+	+	+	+0
RUBER	1	1	1	1	1	1					+	+	+	+0
HELVOLUS	4	4	4	4	2	0					+	+	+	0
ALBUS	20	20	20	18	4	1					+	+	+	+0
ALBOSPOREUS	2	2	2	2	1	0					+	+	+	0
COERULESCENS	9	9	9	5	1	0					+	+	+	0
GRISEUS	27	27	25	14	9	1					+	+	+	+0
NIGRESCENS	2	2	2	2	0	0					+	+	+	0
CHRYSOMALLUS	4	4	4	4	2	2					+	+	+	0
AUREUS	29	29	28	24	10	2					+	+	+	+0
CHROMOGENES	11	11	11	7	4	1					+	+	+	+0
VIOLACEUS	22	22	15	5	5	2					+	+	+	+0

Legend a:

- nema promjene boje — no change of colour
 + promjena boje veg. i zračnog micelija — change of colour of veg. and aerial mycelium
 ++ vegetativni i zračni miceliji bezbojni — veg. and aerial mycelium colourless
 +0 vegetativni miceliji bezbojni, zračni nerazvijeni — veg. mycelium colourless, aerial absent
 0 nema rasta —no growth

Iz tabele se vidi da ispitani aktinomiceti dobro podnose koncentracije fenola od 750 mg/l, ali porastom koncentracije fenola broj izraslih sojeva naglo opada, tako da je kod 1500 mg/l izraslo u našim ispitivanjima samo 14 sojeva, a niti jedan od njih nije tvorio zračni micelij. Iz dobivenih rezultata ne može se zaključivati o sposobnostima preživljavanja sojeva aktinomiceta na višim koncentracijama fenola s obzirom na pripadnost pojedinim serijama, jer nije ispitani jednak broj sojeva u svakoj seriji. Ipak se može zapaziti da najveći broj preživjelih sojeva aktinomiceta kod koncentracije fenola od 1500 mg/l pripada seriji *Fradae*, dok predstavnici serija *Fuscus*, *Ruber*, *Helvolus*, *Albosporeus*, *Coerulescens* i *Chrysomallus* nisu pokazali rast na istoj koncentraciji, ali to se može tumačiti premaleni brojem testiranih sojeva, pa bi ova ispitivanja trebalo svakako proširiti. To isto vrijedi i za serije *Nigrescens* i *Roseoviolaceus*, gdje je također ispitani mali broj sojeva, ali je u prosjeku broj pokazao preživljavanje na najvišim koncentracijama fenola u ovim ispitivanjima.

U našim ispitivanjima utvrdili smo i promjenu pigmentacije kolonija aktinomiceta s porastom koncentracije fenola u podlozi, a također i odsustvo zračnog micelija kod najviših upotrijebljenih koncentracija. Promjena boje pigmenta vegetativnog i zračnog micelija očituje se pri koncentraciji fenola od 750 mg/l, a kod predstavnika serija: *Lavendulae* — *Roseus*, *Fradae*, *Helvolus*, *Albus*, *Albosporeus*, *Coerulescens* i *Chrysomallus* zabilježena je pri koncentraciji fenola od 1000 mg/l depigmentacija vegetativnog i zračnog micelija. Svi sojevi aktinomiceta preživjeli na 1500 mg/l fenola nisu tvorili zračni micelij, a vegetativni micelij je bio bezbojan. Jedan soj iz serije *Nigrescens* nije tvorio zračni micelij već kod 1000 mg/l fenola u podlozi.

Z a k l j u č a k

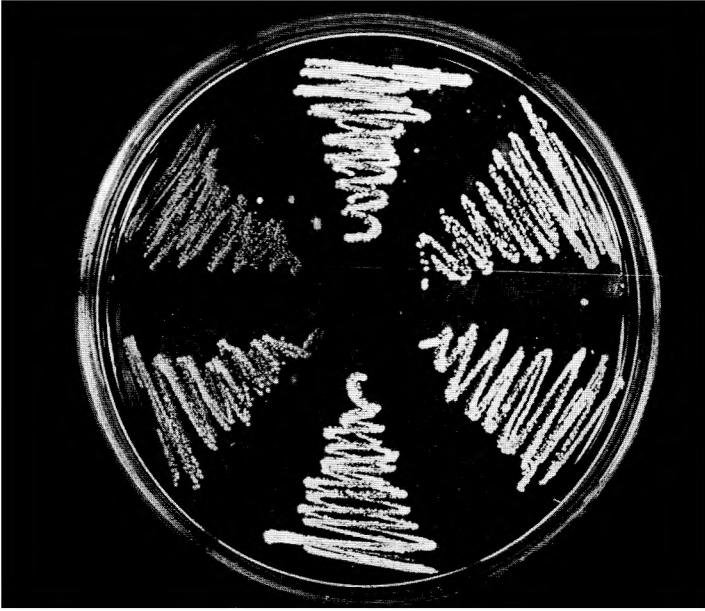
U radu je ispitano preživljavanje sojeva aktinomiceta iz raznih serija na višim koncentracijama fenola u podlozi. U ispitivanjima su upotrijebljene koncentracije fenola od 200, 500, 750, 1000 i 1500 mg/l.

Osim preživljavanja sojeva, promatrana je i promjena pigmentacije vegetativnog i zračnog micelija kod povišenja koncentracija fenola u podlozi.

Utvrđeno je da većina sojeva preživljava kod 750 mg/l fenola, ali povišenjem koncentracije, njihov broj naglo opada. Tako je od 160 testiranih sojeva aktinomiceta izraslo kod 1500 mg/ fenola u podlozi samo 14 sojeva.

Najbolje preživljavanje utvrđeno je u radu kod predstavnika serije *Fradae*, ali rezultati se ne mogu usporediti s ostalim serijama zbog nedovoljnog broja ispitanih sojeva u pojedinim serijama.

U ovim ispitivanjima utvrđena je promjena boje vegetativnog i zračnog micelija pri koncentraciji fenola od 750 mg/l, depigmentacija oba micelija predstavnika 7 serija kod 1000 mg/l fenola, te depigmentacija vegetativnog i odsutnost zračnog micelija kod svih 14 sojeva preživjelih na 1500 mg/l fenola u podlozi.



Sl. 1. Rast aktinomiceta na modificiranom Czapek-agaru sa 500 mg/l fenola.
Fig. 1. Growth of actinomycetes strains on the medium Czapek's modificate agar with phenol concentration of 500 mg/l.

Literatura — References

- Hartmann, L. and M. E. Singrum, 1968: Bacterial adaptation. Water Sewage, 116, 289—296.
- Munjko, I. 1969: Laboratorijska ispitivanja aktivnog mulja za defenolizaciju otpadnih voda u bazenu za aeraciju OKI Zagreb. I kongres o vodama Jugoslavije, II. IV/1 B. 14, 98—102., Beograd.
- Munjko, I., Pavletić, Z. i B. Stilić, 1970: Biološka oksidacija fenola kultura nekkih eubakterija. Mikrobiologija 7, 2, 155—161.
- Putulina, N. T., 1959: O biologičeskikh metodah očistki fenolnih stočnih vod. Gigiena i sanitarija, 1, 74.

SUMMARY

THE SURVIVAL OF ACTINOMYCETES AT HIGHER PHENOL CONCENTRATIONS

Zlatko Pavletić, Ignac Munjko, Božidar Stilić and Aristotel Džingov

(Institute of Botany University of Zagreb)

In this work the survival of actinomycetes strains of various series in media with higher concentrations of phenol was investigated. Phenol concentrations of 200, 500, 750, 1000 and 1500 mg/l were used.

Besides the survival of the strains, the change of the pigmentation of the vegetative and aerial mycelium at increasing concentrations of phenol in media was investigated.

It has been established that most of the strains survived at 750 mg/l phenol, but with the increase of the phenol concentration their number decreased rapidly. Thus, from 160 tested strains of actinomycetes only 14 strains showed the growth at 1500 mg/l of phenol in media.

The highest survival was found for the members of the series *Fradia*, but the other series, because of the small number of investigated strains in the latter series.

The investigations have established the change of colour of the vegetative and aerial mycelium at phenol concentration of 750 mg/l, the depigmentation of both of mycelia in the members of 7 series when the concentration was 1000 mg/l, the depigmentation of the vegetative and the absence of the aerial mycelium have been observed in all survived strains at 1500 mg/ of phenol in media.

Prof. dr Zlatko Pavletić i dr Božidar Stilić
Institut za botaniku Sveučilišta u Zagrebu
Marulićev trg 20
41000 Zagreb (Jugoslavija)

Ignac Munjko, mr. bioi.
Laboratorij za vode kombinata OKI
Žitnjak bb
41000 Zagreb (Jugoslavija)

Aristotel Džingov, mr. bioi.
Sumarski institut SR Makedonije
Fridricha Engelsa 2
91000 Skopje (Jugoslavija)