

KATARZYNA JANDA-ULFIG¹, KRZYSZTOF ULFIG², GRAŻYNA PŁAZA³

BADANIA WZROSTU I AKTYWNOŚCI ENZYMATYCZNEJ SZCZEPÓW
MICROSPORUM GYPSEUM I *TRICHOPHYTON AJELLOI* WYIZOLOWANYCH
Z OSADÓW ŚCIEKOWYCH

A STUDY OF THE GROWTH AND ENZYMATIC ACTIVITY OF *MICROSPORUM GYPSEUM* AND *TRICHOPHYTON AJELLOI* ISOLATES FROM SEWAGE SLUDGE

¹ Department of Microbiology and Environmental Biotechnology,
Agriculture University of Szczecin, Słowackiego St. 17, 71-434 Szczecin

Head: prof. dr hab. *A. Nowak*

² Polymer Institute, Technical University of Szczecin

Pułaskiego St. 10, 70-322 Szczecin

Head: prof. dr hab. inż. *T. Spychaj*

³ Department of Environmental Biotechnologies

Institute for Ecology of Industrial Areas, Kossutha St. 6, 40-832 Katowice

Head: dr hab. inż. *J. Skowronek*

*W pracy porównano wzrost i aktywność enzymatyczną szczepów dermatofitów geofilnych *Microsporium gypseum* i *Trichophyton ajelloi* wyizolowanych z osadów ściekowych. Określono aktywność amylazy, proteazy, celulazy, katalazy, ureazy, DNA-zy, pektynazy i poligalakturonazy oraz aktywność 19 enzymów hydrolitycznych przy użyciu testu API ZYM®. Badano również wzrost i aktywność enzymatyczną szczepów na tributyrynie, oleju rzepakowym, oleju Biodiesel i na oleju napędowym.*

Słowa kluczowe: *Microsporium gypseum*, *Trichophyton ajelloi*, wzrost, aktywność enzymatyczna

Key words: *Microsporium gypseum*, *Trichophyton ajelloi*, growth, enzymatic activity

WSTĘP

Microsporium gypseum i *Trichophyton ajelloi* zalicza się do dermatofitów geofilnych (glebowych), potencjalnie chorobotwórczych dla ludzi i zwierząt, przy czym znacząco większe znaczenie epidemiologiczne ma pierwszy z wymienionych gatunków [6, 15]. Szczególny nacisk w badaniach powinien być położony na profile enzymatyczne dermatofitów. Enzymy produkowane przez grzyby mogą bowiem odgrywać istotną rolę w rozprzestrzenianiu się powyższych organizmów w środowisku oraz w rozwoju infekcji skórnych u ludzi i zwierząt, zwłaszcza u osobników z obniżoną odpornością [10]. Ponadto, dermatofity i/lub niektóre ich enzymy mogą być wykorzystane do celów biotechnologicznych [9, 11]. W porównaniu z der-

matofitami zoo- i antropofilnymi, dermatofitom geofilnym poświęcono znacznie mniej uwagi [12].

Osady ściekowe coraz częściej wykorzystywane są do użyźniania i rekultywacji gleb. Stanowią one jednak źródło licznych patogenów, w tym grzybów oportunistycznych. Wśród tych grzybów *Microsporium gypseum* i *Trichophyton ajelloi* są gatunkami izolowanymi z osadów ściekowych z dużą częstością [16]. Celem niniejszej pracy było porównanie wzrostu i aktywności enzymatycznej szczepów powyższych dermatofitów wyizolowanych z osadów ściekowych.

MATERIAŁ I METODY

W badaniach wykorzystano po pięć szczepów *Microsporium gypseum* i *Trichophyton ajelloi*, wyizolowanych z osadów ściekowych pochodzących z komunalnej oczyszczalni ścieków Bytom-Śródmieście (województwo śląskie). Były to osady nadmierne czynne po przedłużonym napowietrzaniu (bez osadnika wstępnego), po usunięciu azotu i węgla ze ścieków, odwodnione na wirówkach, pryzmowane z resztkami roślinnymi przez 1-2 lata. Szczepy do badań wyizolowano z kilku różnych pryzm.

Wzrost i aktywność hydrolityczną szczepów na skrobi, żelatynie, mleku (kazeinie), celulozie i tributyrynie oznaczano odpowiednio na pożywkach wg *Żakowskiej* i wsp. [18], *Rodiny* [14], *Neves* i wsp. [13], *Bravery* [2] oraz *Harrigan* i *McCance* [5]. W badaniach wzrostu i aktywności hydrolitycznej grzybów na oleju rzepakowym i na oleju Biodiesel wykorzystano pożywkę o składzie: 10 g peptonu, 5 g NaCl, 100 cm³ 1,5% roztworu alkoholu poliwinylowego (stabilizator emulsji), 0,004 g błękitu Nilu (wskaźnik zmiany odczynu), 15 g agaru, 15 g substratu tłuszczowego i 900 cm³ wody destylowanej. Odczyn (pH) pożywki mieścił się w przedziale od 7,1 do 7,4. W badaniach wzrostu dermatofitów na oleju napędowym wykorzystano tę samą pożywkę. Jako kontrole w badaniach wzrostu i aktywności grzybów na trójbutyrynie, oleju rzepakowym, oleju Biodiesel i na oleju napędowym wykorzystano pożywki bez dodatku powyższych substratów. Do oznaczania aktywności pektynazy, poligalakturonazy, deoksyrybonukleazy i ureazy wykorzystano pożywki wg *Hankin* i *Anagnostakis* [4]. Aktywność katalazy określono zgodnie z metodyką wg *Border* i *Winter* [1].

Posiewy wykonano w trzech powtórzeniach, przy pomocy jałowej igły mikrobiologicznej, przenosząc niewielką ilość grzybni i zarodników z 10-dniowych hodowli grzybów na MEA (Malt Extract Agar; Merck) na odpowiednie pożywki. Średnice kolonii i stref hydrolizy na pożywkach ze skrobią, żelatyną, mlekiem i z celulozą oraz na pożywkach z tributyriną, olejem rzepakowym i olejem Biodiesel mierzono przy pomocy linijki (z dokładnością do 1 mm) po pięciu dniach hodowli w ciemności w 25°C. Strefy hydrolizy na pożywkach z mlekiem, celulożą i tributyriną widoczne były jako wyraźne przejaśnienia. Aby wywołać i zmierzyć strefy hydrolizy na pożywkach ze skrobią i żelatyną zastosowano odpowiednio płyn Lugola i 10% roztwór kwasu octowego. Na pożywkach z olejami strefa hydrolizy była niebieska, wskutek obniżenia odczynu przez uwalniające się kwasy tłuszczowe. Średnice kolonii mierzono również na pożywce z olejem napędowym. Dla badanych szczepów obliczono wskaźniki aktywności hydrolitycznej (=średnica strefy hydrolizy/średnica kolonii) [7]. Na pożywkach z substratami tłuszczowymi obliczono również wskaźniki hamowania/stymulacji wzrostu grzybów (=średnica kolonii na pożywce z substratem tłuszczowym/średnica kolonii na pożywce kontrolnej). Wartość wskaźnika >1 wskazywała na stymulację wzrostu, wartość <1 – na hamowanie wzrostu, natomiast wartość =1 świadczyła o braku wpływu substratu tłuszczowego na wzrost kolonii. W oznaczaniu aktywności pektynazy, poligalakturonazy, deoksyrybonukleazy (DNA-zy) i ureazy odczyt miał charakter jakościowy (± - aktywność bardzo słaba; + - aktywność słaba; ++ - aktywność średnia; +++ - aktywność silna). Rozkład pektyn widoczny był jako przejaśnienie pożywki, po jej zalaniu 1-% wodnym roztworem bromku heksadecyltrimetyloamonowego. Depolimeryzacja DNA również widoczna była jak przejaśnienie pożywki, po jej zalaniu 1M HCl. Efektem hydrolizy mocznika była alkalizacja pożywki (wywołana uwalnianiem amoniaku) i zmiana jej barwy z żółtej na różową.

W celu określenia aktywności enzymatycznej grzybów wykorzystano również test API-ZYM® (bio-Mérieux, Lyon, France), określający ilościowo aktywność 19 enzymów hydrolitycznych. Aktywność hydrolityczną określano w nanomolach hydrolizowanego substratu wg skali barwnej (0-5) dostarczonej przez producenta.

W analizie statystycznej danych wykorzystano program Statistica 5.1 w środowisku Windows. Ocenę istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi analizowanych parametrów dla obu gatunków dermatofitów przeprowadzono stosując test prosta ANOVA ($p < 0,05$).

WYNIKI

Na pożywkach ze skrobią, żelatyną i z mlekiem wzrost *M. gypseum* był lepszy od wzrostu *T. ajelloi* (Tab. I). Na pożywce z celulozą stwierdzono lepszy wzrost *T. ajelloi*. Różnice pomiędzy badanymi dermatofitami w średnich wartościach średnicy kolonii na pożywkach z żelatyną, z mlekiem i z celulozą były statystycznie istotne. Stref hydrolizy nie obserwowano na pożywkach zawierających mleko i celulozę. Na pożywce ze skrobią większe strefy hydrolizy zaobserwowano u *M. gypseum*, natomiast na pożywce z żelatyną aktywniejsze były szczepy *T. ajelloi*. Znalazło to odbicie w średnich wartościach wskaźników aktywności hydrolitycznej, a stwierdzone różnice były statystycznie istotne.

Na pożywkach zawierających tributyrinę, olej rzepakowy i olej Biodiesel (Tab. II) wzrost szczepów *M. gypseum* był również lepszy od wzrostu szczepów *T. ajelloi*. Różnice w średnich wartościach średnicy kolonii na tych substratach były statystycznie istotne. Wyraźną aktywność hydrolityczną badanych grzybów (strefy hydrolizy) stwierdzono na wszystkich wyżej wymienionych pożywkach. Na pożywkach z trójbutyriną, olejem rzepakowym i z olejem Biodiesel aktywność hydrolityczna *M. gypseum* była wyższa od aktywności *T. ajelloi*; jednakże tylko różnice w aktywności hydrolitycznej na pożywkach z tributyriną i z olejem Biodiesel były statystycznie istotne. Średnie wartości wskaźnika aktywności hydrolitycznej

Tabela I. Charakterystyka wzrostu i aktywności hydrolitycznej szczepów *M. gypseum* i *T. ajelloi* na pożywkach ze skrobią, żelatyną, mlekiem i celulozą (średnia \pm odchylenie standardowe)
The characteristics of growth and hydrolytic activity of *M. gypseum* and *T. ajelloi* isolates on starch, gelatin, milk and cellulose agars (mean \pm standard deviation)

Substrat Substrate	Gatunek Species	Średnica strefy hydrolizy (mm) Hydrolysis zone diameter (mm)	Średnica kolonii (mm) Colony diameter (mm)	Wskaźnik aktywności hydrolitycznej Hydrolytic activity index
Skrobia Starch	<i>M. gypseum</i>	12,5* \pm 3,3	17,6 \pm 5,5	0,8
	<i>T. ajelloi</i>	8,4 \pm 1,5	16,4 \pm 2,0	0,5
Żelatyna Gelatin	<i>M. gypseum</i>	5,6* \pm 9,0	24,3* \pm 6,4	0,3
	<i>T. ajelloi</i>	15,7 \pm 1,5	8,2 \pm 0,9	1,9
Mleko Milk	<i>M. gypseum</i>	0,0	28,4* \pm 9,1	-
	<i>T. ajelloi</i>	0,0	17,2 \pm 2,4	-
Celuloza Cellulose	<i>M. gypseum</i>	0,0	7,2* \pm 7,3	-
	<i>T. ajelloi</i>	0,0	12,4 \pm 2,0	-

* - różnice istotne statystycznie

Tabela II. Charakterystyka wzrostu i aktywności hydrolitycznej szczepów *M. gypseum* i *T. ajelloi* na pożywkach z tributyriną, olejem rzepakowym i olejem Biodiesel (średnia \pm odchylenie standardowe)

The characteristics of growth and hydrolytic activity of *M. gypseum* and *T. ajelloi* isolates on tributyrin, rapeseed oil and Biodiesel oil agars (mean \pm standard deviation)

Substrat Substrate	Gatunek Species	Średnica strefy hydrolizy (mm) Hydrolysis zone diameter (mm)	Średnica kolo- nii (mm) Colony diame- ter (mm)	Wskaźnik aktywności hydrolitycz- nej Hydrolytic activity index	Wskaźnik hamowania /stymulacji wzrostu Inhibition/ stimulation growth index
Tributyryna	<i>M. gypseum</i>	7,6* \pm 1,3	6,9* \pm 1,0	1,1	0,3
Tributyryn	<i>T. ajelloi</i>	3,7 \pm 2,6	4,4 \pm 0,5	0,9	0,3
Olej rzepakowy	<i>M. gypseum</i>	4,0 \pm 4,3	10,5* \pm 2,7	0,3	1,7
Rapeseed oil	<i>T. ajelloi</i>	3,0 \pm 2,2	3,5 \pm 0,7	0,8	1,3
Biodiesel	<i>M. gypseum</i>	11,6* \pm 3,0	10,1* \pm 2,2	1,1	1,8
Biodiesel oil	<i>T. ajelloi</i>	4,5 \pm 0,8	4,3 \pm 0,8	1,1	1,5

* - różnice istotne statystycznie

>1 (średnica strefy hydrolizy większa od średnicy kolonii) stwierdzono dla *M. gypseum* na pożywce z tributyriną oraz dla obu dermatofitów na pożywce z olejem Biodiesel. Pozostałe wartości tego wskaźnika były <1 (średnica strefy hydrolizy mniejsza od średnicy kolonii).

Na pożywce z olejem napędowym średnie wartości średnicy kolonii *M. gypseum* i *T. ajelloi* wynosiły odpowiednio 5,2 \pm 1,4 i 2,8 \pm 0,4 mm; była to różnica istotna statystycznie. Na powyższej pożywce niewielką strefę przebarwienia zaobserwowano u jednego szczepu *T. ajelloi*.

Hamowanie wzrostu wszystkich szczepów zaobserwowano na pożywce z tributyriną (wskaźnik hamowania/stymulacji wzrostu <1). Olej rzepakowy i olej Biodiesel stymulowały wzrost grzybów (wskaźnik hamowania/stymulacji wzrostu >1), natomiast olej napędowym nie miał wpływu na ich wzrost (wskaźnik hamowania/stymulacji wzrostu =1).

Oba dermatofity wykazywały słabą lub średnią aktywność katalazy; większość szczepów *M. gypseum* cechowała się średnią aktywnością tego enzymu. U wszystkich szczepów stwierdzono słabą aktywność ureazy. Jeden szczep *M. gypseum* oraz trzy szczepy *T. ajelloi* charakteryzowały się bardzo słabą aktywnością DNA-zy; pozostałe szczepy nie wykazały aktywności tego enzymu. U badanych szczepów nie stwierdzono aktywności pektynazy i poligalakturonazy.

U żadnego szczepu nie stwierdzono aktywności trypsyny, chymotrypsyny, α - i β -galaktozydazy, β -glukoronidazy, α -glukozydazy oraz α -fukozydazy (Tab. III). Najwyższe aktywności stwierdzono w przypadku β -glukozydazy, fosfatazy alkalicznej, N-acetylo- β -glukozaminidazy oraz α -mannozydazy. Aktywność tych enzymów u szczepów *M. gypseum* była wyższa od aktywności szczepów *T. ajelloi*. Pomiedzy obydwojma dermatofitami nie stwierdzono zróżnicowania aktywności esterazy i esterazy lipazy. Słabe zróżnicowanie aktywności zaobserwowano w przypadku fosfatazy kwaśnej. Aktywność arylamidazy leucynowej i naftol-AS-BI-fosfohydrolazy była wyższa u *M. gypseum* niż u *T. ajelloi*. Słabą aktywność

Tabela III. Produkcja 19 hydrolaz przez szczepy *M. gypseum* i *T. ajelloi* w systemie API - ZYM® (bio-Mérieux)
Production of 19 hydrolases by *M. gypseum* and *T. ajelloi* isolates in the API - ZYM® system (bioMérieux)

Enzymy / Enzymes	<i>M. gypseum</i>	<i>T. ajelloi</i>
Fosfataza alkaliczna / Phosphatase alkaline	2,8 (2-3)*	2,4 (2-3)
Esteraza (C4) / Esterase (C4)	2	2
Esteraza Lipaza (C8) / Esterase lipase (C8)	2	2
Lipaza (C14) / Lipase (C14)	0,6 (0-1)	0,2 (0-1)
Arylamidaza leucynowa / Leucine arylamidase	2,4	1,2 (1-2)
Arylamidaza walinowa / Valine arylamidase	0,8 (0-2)	0
Arylamidaza cystynowa / Cystine arylamidase	0,2 (0-1)	0
Trypsyna / Trypsin	0	0
Chymotrypsyna / Chymotrypsin	0	0
Fosfataza kwaśna / Phosphatase acid	1,8 (1-2)	2 (1-3)
Naftol-AS-BI-fosfohydrolaza / Naphtol-AS-BI-phosphohydrolase	2,4 (2-3)	1,2 (1-2)
α -galaktozydaza / α -galactosidase	0	0
β -galaktozydaza / β -galactosidase	0	0
β -glukoronidaza / β -glucuronidase	0	0
α -glukozydaza / α -glucosidase	0	0
β -glukozydaza / β -glucosidase	3 (1-4)	2,4 (2-3)
N-acetylo- β -glukozaaminidaza / N-acetyl- β -glucosaminidase	3 (1-4)	1,4 (1-3)
α -mannozydaza / α -mannosidase	2,6 (1-4)	1,8 (1-2)
α -fukozydaza / α -fucosidase	0	0

* - średnia i zakres

lipazy zaobserwowano u trzech szczepów *M. gypseum* i u jednego szczepu *T. ajelloi*, a słabą aktywność arylamidazy cystynowej i walinowej - u niektórych szczepów *M. gypseum*.

DYSKUSJA

Wyniki potwierdziły obserwacje *Przystaś* i wsp. [12], dotyczące zdolności *M. gypseum* i *T. ajelloi* do produkcji żelatynazy, katalazy i ureazy oraz braku zdolności do produkcji celulazy, pektynazy i poligalakturonazy. W cytowanych badaniach wyżej wymienione dermatofity nie miały zdolności do rozkładu skrobi i DNA; w niniejszej pracy słabą aktywność amylazy i deoksyrybonukleazy stwierdzono u części szczepów. Żaden badany szczep nie miał zdolności do hydrolizy kazeiny. W przeciwieństwie do wyników literaturowych, w naszych badaniach z wykorzystaniem testu API-ZYM®, *T. ajelloi* wykazywał aktywność arylamidazy walinowej i arylamidazy cystynowej.

Wzrost i aktywność hydrolityczna dermatofitów na substratach tłuszczowych wymagają odrębnego omówienia. *Przystaś* i wsp. [12] stwierdzili wysoką i średnią aktywność hydrolityczną *M. gypseum* i *T. ajelloi* na Tween 80. W niniejszych badaniach oba dermatofity miały zdolność do hydrolizy trójbutyryny, oleju rzepakowego i oleju Biodiesel (estry metylowe wyższych kwasów tłuszczowych), jak również wykazywały wzrost na pożywce z dodatkiem

oleju napędowego. Na tej ostatniej pożywce niewielką strefę przebarwienia zaobserwowano u jednego szczepu *T. ajelloi*. Na podstawie wartości wskaźnika hamowania/stymulacji wzrostu =1 można sądzić, że badane szczepy dermatofitów nie miały zdolności do wykorzystania węglowodorów oleju napędowego jako źródła węgla. Z kolei przebarwienie pożywki może świadczyć o jej zakwaszeniu, prawdopodobnie przez kwasy organiczne wydzielane do podłoża przez jeden ze szczepów *T. ajelloi*.

W badaniach zaobserwowano zróżnicowany wpływ substratów tłuszczowych na dermatofity. Na pożywce z tributyriną oraz na pożywkach z olejem rzepakowym i olejem Biodiesel stwierdzono odpowiednio hamowanie i stymulację wzrostu dermatofitów. Z kolei olej napędowy nie miał wpływu na wzrost tych grzybów. Wiadomo, że produktami hydrolizy tributyriny są gliceryna i kwas masłowy, który wykazuje toksyczne właściwości wobec grzybów, zwłaszcza wobec grzybów strzępkowych [17]. Wydaje się, że to właśnie kwas masłowy mógł przyczynić się do zahamowania wzrostu dermatofitów na pożywce z trójbutyriną. Z kolei produktami hydrolizy oleju rzepakowego i oleju Biodiesel są m.in. wyższe kwasy tłuszczowe. Z badań *Garga i Müllera* [3] wynika, że kwasy te hamują wzrost dermatofitów, czego nie potwierdzono jednak w niniejszej pracy.

W badaniach stwierdzono na ogół lepszy wzrost i wyższą aktywność enzymatyczną *M. gypseum* od wzrostu i aktywności *T. ajelloi*. Na podstawie uzyskanych danych można postawić hipotezę, że niektóre substraty mogą sprzyjać wzrostowi badanych dermatofitów geofilnych, a więc przyczyniać się do rozprzestrzeniania się tych grzybów w środowisku, np. w glebie czy w odpadach organicznych. Dotyczy to zwłaszcza substratów tłuszczowych. Mimo niższej aktywności enzymatycznej, *T. ajelloi* ma szerszy zasięg występowania od *M. gypseum*. Niższa aktywność enzymatyczna nie wiąże się zatem z ograniczeniem zasięgu występowania tego dermatofita. Teza ta wymaga jednak potwierdzenia w badaniach ilościowych dermatofitów w różnych środowiskach. Wiadomo również, że pewne enzymy, np. fosfataza alkaliczna, N-acetylo- β -glukozoaminidaza czy α -mannozydaza, zakłócają funkcjonowanie systemu immunologicznego ustroju, co sprzyja infekcjom wywoływanym przez dermatofity. Inne enzymy, np. lipazy, odgrywają istotną rolę w rozwoju tych infekcji [10]. Oznaczenie profili enzymatycznych dermatofitów ma więc znaczenie epidemiologiczne. Z biotechnologicznego punktu widzenia, tego rodzaju badania przyczynić się mogą głównie do wykorzystania tych grzybów i/lub ich enzymów do produkcji preparatów oraz pasz na bazie odpadów keratynowych [9, 11].

K. Janda-Ulfig, K. Ulfig, G. Płaza

BADANIA WZROSTU I AKTYWNOŚCI ENZYMATYCZNEJ SZCZEPÓW *MICROSPORUM GYPSEUM* I *TRICHOPHYTON AJELLOI* WYIZOLOWANYCH Z OSADÓW ŚCIEKOWYCH

Streszczenie

Celem pracy było porównanie wzrostu i aktywności wybranych enzymów szczepów dermatofitów geofilnych, *Microsporium gypseum* i *Trichophyton ajelloi*, wyizolowanych z osadów ściekowych. W pracy wykorzystano podłoża stałe oraz test API-ZYM®. Dermatofity miały zdolność do produkcji żelatynazy, katalazy i ureazy, nie wytwarzały celulazy, pektynazy i poligalakturonazy. Słabą aktywność amylazy i deoksyrybonukleazy stwierdzono u części badanych szczepów. Żaden szczep nie miał zdol-

ności do hydrolizy kazeiny mleka. Dermatofity miały zdolność do hydrolizy tributyriny, oleju rzepakowego i oleju Biodiesel, jak również wykazywały wzrost na pożywce z dodatkiem oleju napędowego. Na pożywce z tributyriną oraz na pożywkach z olejem rzepakowym i olejem Biodiesel stwierdzono odpowiednio hamowanie i stymulację wzrostu dermatofitów; olej napędowy nie miał wpływu na wzrost tych grzybów. Wzrost i aktywność enzymatyczna *M. gypseum* były wyższe od wzrostu i aktywności *T. ajelloi*. Wyższa aktywność enzymatyczna może wiązać się z patogennością *M. gypseum*.

K. Janda-Ulfig, K. Ulfig, G. Płaza

A STUDY OF THE GROWTH AND ENZYMATIC ACTIVITY OF *MICROSPORIUM GYPSEUM* AND *TRICHOPHYTON AJELLOI* ISOLATES FROM SEWAGE SLUDGE

Summary

The study was to compare growth and enzymatic activity of *Microsporium gypseum* and *Trichophyton ajelloi* isolates from sewage sludge. Agar media and the API-ZYM® test were used. The isolates showed weak gelatinase, catalase and urease activities and did not produce cellulase, pectate lyase and polygalacturonase. In some strains poor amylase and DNA-se activities were observed. No strain was able to hydrolyze casein. The strains were found to hydrolyze tributyrin, rapeseed oil and Biodiesel oil and to grow on Diesel oil medium. On the medium containing tributyrin and on the media with rapeseed oil and Biodiesel oil additions, inhibition and stimulation of fungal growth was observed, respectively. Diesel oil did not affect the growth of these fungi. The growth and enzymatic activity of *M. gypseum* was found to be better than the growth and activity of *T. ajelloi*. Higher enzymatic activity can be associated with the pathogenicity of *M. gypseum*.

PIŚMIENNICTWO

1. Bordner R., Winter J.: Microbiological methods for monitoring the environment. Water & Wastes. EPA-600/8-78-017, Ohio, 1978.
2. Bravery A.F.: Microbiological breakdown of cellulose in the presence of alternative carbon sources. J. Sci. Fd Agric., 1968, 19, 133-135.
3. Garg A.P., Müller J.: Fungitoxicity of fatty acids against dermatophytes. Mycoses 1993, 36, 51-63.
4. Hankin L., Anagnostakis S.L.: The use of solid media for detection of enzymes production by fungi. Mycologia 1975, 67, 597-607.
5. Harrigan W.F., McCance M.E.: Laboratory methods in food and dairy microbiology. Academic Press, London 1976.
6. Hoog de G.S., Guarro J., Gené J., Figueras M.J.: Atlas of Clinical Fungi. 2nd Edition, Centraal bureau voor Schimmelcultures, Baarn & Universitat Rovira i Virgili, Reus 2000.
7. Ilnicka-Olejniczak O., Hornecka D., Solak G.: Selekcja i izolacja wysokowydajnych szczepów wytwarzających enzymy. Cz. I. Szybka metoda selekcji wysokowydajnych szczepów wytwarzających glukooamylazę. Prace Instytutów i Lab. Bad. Przem. Spoż. 1983, 37, 47-59.
8. Janda K., Stolarska A.: A study of the *Thermomyces lanuginosus* lipolytic activity on tributyrin. Rocz. PZH 2005, 56, 267-273.
9. Kornilłowicz-Kowska T.: Studies on the decomposition of keratin waste by saprotrophic microfungi. III. Activity and properties of keratinolytic enzymes. Acta Mycol., 1999, 34, 65-78.
10. Nowicki R., Korting H.C.: Różnice w aktywności hydrolitycznej dermatofitów. Mikol. Lek. 1995, 2, 209-213.

11. *Onifade A.A., Al-Sane N.A., Al-Musallam A.A., Al-Zarban S.*: A review: potentials for biotechnological applications of keratin-degrading microorganisms and their enzymes for nutritional improvement of feathers and other keratins as livestock feed resources. *Bioresource Technology*, 1998, 66, 1-11.
12. *Przystaś W., Ulfig K., Miksch K., Kunert J.*: Extracellular enzyme profiles of geophilic dermatophytes and related fungi from waste and waste-contaminated habitats. *Mikol. Lek.* 2003, 10, 9-14.
13. *Neves R.P., Correia Magalhaes O.M., da Silva M.L., de Souza-Motta C.M., de Queiroz L.M.*: Identification and pathogenicity of *Malassezia* species isolated from human healthy skin and with macules. *Brazilian Journal of Microbiology* 2005, 36, 114-117.
14. *Rodina A.*: Mikrobiologiczne metody badania wód. PWRiL, Warszawa 1968
15. *Śpiewak R.*: Grzyby pochodzenia zwierzęcego i glebowego jako przyczyna chorób skóry u rolników. W: Dutkiewicz J. (red.): *Zagrożenia Biologiczne w Rolnictwie*. Instytut Medycyny Wsi, Lublin 1998, 124-132.
16. *Ulfig K.*: Czynniki wpływające na występowanie grzybów keratynolitycznych i keratynofilnych w osadach ściekowych. *Zeszyty Naukowe Politechniki Łódzkiej*, nr 932, Łódź 2003.
17. *Woolford M.K.*: The antimicrobial spectra of organic compounds with respect to their potential as hay preservatives. *Grass and Forage Science* 1984, 39, 75-79.
18. *Żakowska Z., Stobińska H., Piątkiewicz A.*: Poszukiwanie szczepów do biodegradacji PE modyfikowanego skrobią. II Konferencja Naukowa: Rozkład i korozja materiałów technicznych”, Politechnika Łódzka, 2001, 298-302.