

## A sugárgombák kölcsönös antagonizmusa I. Az *Actinomyces* M 17-törzs vizsgálata

SZABÓ ISTVÁN\* és MARTON MÁRIA

Magyar Tudományos Akadémia Talajbiológiai Kutatólaboratóriuma, Sopron

A sugárgombák kölcsönös antagonizmusára vonatkozóan napjainkig csak kevés adat áll rendelkezésünkre, jóllehet ilyen hatásokkal — a természetes körülmények között — nagy gyakorisággal kell számolnunk ezen ökológiai igények szempontjából annyira közelálló mikroszervezetek csoportjában.

Az utóbbi években végzett vizsgálataink alkalmával [6] számos olyan *Actinomyces* törzs került elő, melyeknek mesterséges táptalajokon észlelt antibiotikus hatása elsősorban is más sugárgomba törzsekkel szemben nyilvánult meg. E sugárgombák egyikének, az általunk *Actinomyces* M 17 jelzéssel ellátott törzsnek vizsgálatáról számolunk be a következőkben.

### Az *Actinomyces* M 17 izolálása

Budapesti melegágyi talajból 8 aktinomiceta és 11 baktériumtörzset izoláltunk. Ezek kölcsönös antibiotikus hatásosságát bouillon-pepton-glukóz agaron állapítottuk meg vitális pontteszt módszer segítségével [6]. Az eredményeket az 1. táblázat mutatja be. Az első vízszintes sorban feltüntetett — különböző számozású — törzsek gátló hatását az alattuk levő függőleges oszlopokban olvashatjuk le az első függőleges sor különböző törzseire vonatkozóan. A kereszteződő vonalak középpontjába írt számok a gátlózónák rádiuszát mm-ben adják meg,  $g = 1$  mm körüli gátlást, míg 0 hatástalanságot jelent. A táblázat azon részét, mely a sugárgombák kölcsönhatásának adatait tartalmazza, vastagabb fekete vonallal különítettük el.\*

A táblázat adataiból látható, hogy a sugárgomba törzsek (M 3—19) aktivitása saját talajuk aktinomicetáival és baktériumaival (M 25—45) szemben igen különböző. Az M 5 aktinomiceta csak az M 8 sugárgombára volt hatásos. Az M 13 törzs baktériumokra és aktinomicetákra egyaránt igen aktív volt. Mint látható, valamennyi törzs gátló és érzékenységi spektruma más és más, és e kultúrák kiválogatásánál is ezen kettős spektrumbeli különbségek voltak számunkra a döntőek s nem annyira a rendszertani bélyegek.

Az *Actinomyces* M 17 jelzésű törzs saját talajának valamennyi sugárgomba törzsét tetemesen gátolta fejlődésében. A legaktívabbnak az M 15 törzsszel szemben mutatkozott, mely meghatározásunk szerint [2] az *A. griseus* Krainsky 1910-hez áll legközelebb. Ezenkívül gátolta az M 34 Gram pozitív, nem saválló, kezdetben elágazó pálcikákból, majd kokkuszkokra széteső tenyészetekből álló törzs fejlődését, mely a meghatározásunk szerint a *Mycobacterium mucosum* Kraszilnyikov 1941 fajnak bizonyult. Hogy az M 17 antibiotikus anyagaival szemben milyen érzékenységet tanúsítanak más tesztorganizmusok, azt az 1. és 2. ábrák mutatják be, a keresztesítés teszt módszer segítségével bouillon-pepton-glukóz agaron.

\* Aspiránsvezetőmnek, a nemrég elhunyt Fehér Dániel akadémikus emlékének ajánlom

1. táblázat

Melegágyi talaj baktérium és sugárgombaflórájának antibiotikus kölcsönhatása

	M3	M4	M5	M8	M13	M15	M17	M19	M25	M27	M30	M31	M32	M33	M34	M36	M41	M43	M45
M3	0	0	0	0	0	0	7	0	0	g	2	3	0	g	0	g	0	5	5
M4	0	0	0	0	5	0	6	0	0	4	g	g	0	g	0	4	0	0	3
M5	0	0	0	3	4	0	16	0	0	0	5	3	0	2	0	4	0	g	3
M8	0	2	4	0	7	0	15	0	0	3	6	5	6	5	0	3	0	0	3
M13	0	4	0	0	0	0	7	0	0	0	5	g	g	5	0	4	0	4	3
M15	2	0	0	0	12	0	20	0	0	2	g	g	0	3	0	5	0	0	g
M17	2	0	0	0	6	0	0	0	0	0	g	3	0	3	0	g	0	0	5
M19	2	0	0	0	2	0	8	0	0	0	g	3	0	4	0	4	0	g	g
M25	3	0	0	4	7	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	g	6	0	5
M27	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	4	3	0	4	0	4	2	0	8
M30	0	0	0	0	3	g	0	0	0	0	0	0	0	4	0	3	0	0	5
M31	2	0	0	0	9	0	0	0	0	0	2	0	0	5	0	10	0	0	3
M32	6	0	0	0	10	3	0	0	0	g	4	3	0	3	0	g	0	0	3
M33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M34	8	0	0	0	3	3	7	0	0	0	0	4	0	3	0	g	0	0	0
M36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M41	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	2	0	4	0	4	0	3	5
M43	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	3	g	0	g
M45	3	g	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	g	0	0	0

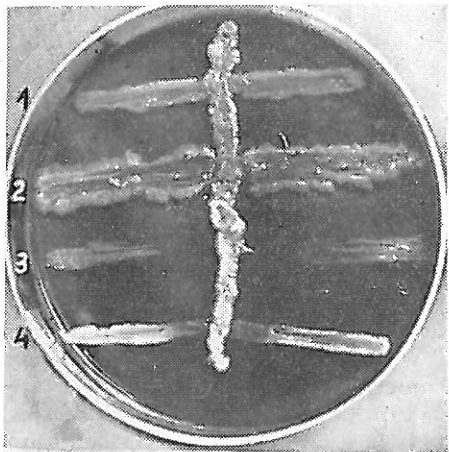
Az 1. ábrán számozott harántcsíkok a következő mikroszervezetek: 1. *E. coli*, 2. *B. subtilis*, 3. *Act. griseus* M 15, 4. *Saccharomyces cerevisiae*. A 2. ábrán az 1. *Sarcina lutea*, 2. *Mycobact. mucosum* M 34, 3. *Staph. aureus*, 4. *St. albus*, 5. *Serratia marcescens* tesztörzsek. A fényképekről világosan leolvasható, hogy az M 17-törzs gátló hatása csupán az *Actinomyces* és a *Mycobacterium* irányába terjedt ki. A *S. cerevisiae* gyenge fejlődése az M 17 közelében, mint azt későbbi vizsgálataink igazolták, nem antibiotikus hatásokra volt visszavezethető.

Célszerűnek látszott az *Act. M 17*-törzset alaposabb vizsgálatok alá vetni.

#### Az *Actinomyces M 17* morfológiája

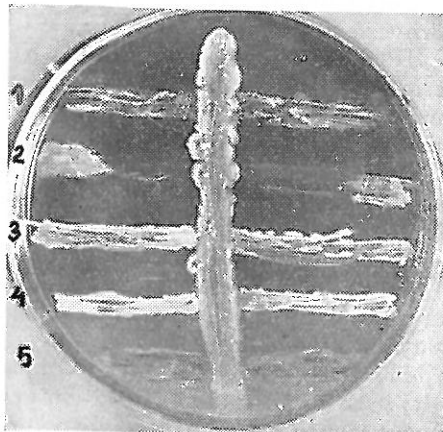
Az *Actinomyces M 17* glukóz-aszparagin-agaron (glukóz 10 g, aszparagin 0,5 g,  $K_2HPO_4$  0,5 g, agár 15 g, deszt. víz 1000 ml,  $pH$ : 6,2–6,4) fejlődésének már a 3–4. napján a levegő micéliumokon spirális spórahordozókat fejleszt. A kettő-

négy kanyarulatot leíró spirálisok (4. ábra) a levegő miceliumokon hosszabb-rövidebb távkozókben kacsszerűen helyezkednek el. A légmicelium fonalainak vastagsága 1–1,2 mikron, a spórák gömbölyűek, átmérőjük 1 mikron körül.



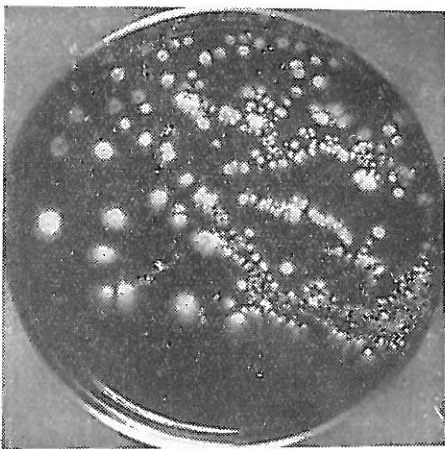
1. ábra

Az *Actinomyces* M 17 gátló spektruma bouillon-pepton-glukóz agaron. 1: *E. coli*, 2: *B. subtilis*, 3: *Act. griseus* M 15 és 4: *Saccharomyces cerevisiae* tesztorganizmekkel szemben.



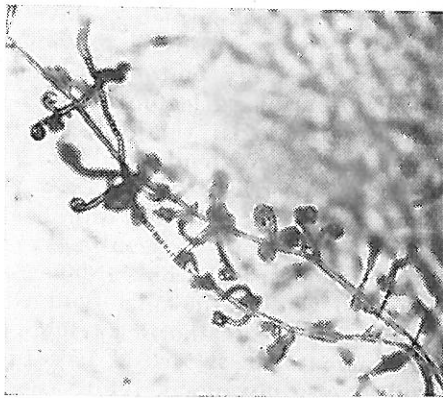
2. ábra

Az *Actinomyces* M. 17 gátló spektruma bouillon-pepton-glukóz agaron. 1: *Sarcina lutea* 2: *Mycobact. mucosum* M 34, 3: *Staph. aureus*. 4: *Staph. albus* és 5: *Serratia marcescens* tesztorganizmekkel szemben.



3. ábra

Az *Actinomyces* M 17 kolóniái a Jensen-féle kazein-glukóz agaron.



4. ábra

A spirális spórahordozók elhelyezkedése az *Actinomyces* M 17 levegő miceliumain.

A Jensen-féle kazein-glukóz táptalajon a telepek szürkésfehér kolóniák alakjában jelentkeznek, közepükön erőteljes, gombostűfű nagyságú kiemelkedéssel, a szélek felé haladva finom gyűrűzöttség (1–2 mm-ben) ismerhető fel, mely gyér

szétterjedő lisztszerű bevonatba megy át (3. ábra). K r a s z i l n y i k o v III. sz. szintetikus agar közegén [3] gyengén fejlődő, halvány, okkersárga kolóniák, helyenként fehér levegőmiceliummal borítva. K r a s z i l n y i k o v IV. sz. szintetikus agar táptalajon [3] jól fejlődő összefüggő, fehér levegőmiceliummal borított kolóniák. Az *Actinomyces M 17 e* szintetikus közegek egyikén sem ad le a környező táptalajba színytanyagot. Glicerín-nátriumnitrát agaron [4] (összetétele:  $K_2HPO_4$  0,1%,  $MgSO_4$  0,05%,  $KCl$  0,05%,  $FeSO_4$  0,001%,  $NaNO_3$  0,2%, glicerin 3,0%, agar 1,5%) jól fejlett telepek, fehér levegőmiceliummal gazdagon borítva, a kolóniák alulról sárgás színűek, színytanyagot nem adnak le. A már említett glukóz-aszparagin agaron dús, fehér, később megszőrkülő levegőmiceliummal fedett kolóniák, a táptalaj színeződését itt sem tapasztaltuk. Sárgarépa agaron (összetétele:  $KH_2PO_4$  1,0 g, glukóz 5,0 g, pepton 5,0 g, agar 20,0 g, sárgarépa-főzet 1000 ml) a kolóniák barnák, kezdetben helyenként fehér levegő miceliummal borítottak, melyek később megszőrkülnek, a telepek fonáka zuzmószerűen ripacsos, a táptalajba barna festékanyagot ad le. Ugyancsak barnás-sárga színű telepek figyelhetők meg burgonya-blokkon is, foltokban fehér levegő miceliummal. A burgonyába a telepből fekete festékanyag diffundál. Waksman táptalajon [2] gazdagon fejlődő tenyészet, fehér levegő miceliummal, amely később megszőrkül. A táptalaj barnára színeződik. Bouillon-pepton-glukóz táptalajon [6] jól fejlődő, szürke, ráncos ripacsos kolóniák, levegő micelium nem képződik. Itt is barna színanyag jelenik meg a tápközegben. Barna színanyag képződését észleltük tejben is. Rázatot, folyadék kultúrákban (Waksman; bouillon-pepton-glukóz, a továbbiakban bouillon X-ként szereplő tápközeg) a telepek gömbölyűek, halikra szerűek.

#### Az *Actinomyces M 17* fiziológiája

Mint ismeretes, az *Actinomyces* fajok, törzsek változékonysága sok esetben zavarja a szabatos morfológiai és fiziológiai leírásukra irányuló törekvéseinket. Így az anyagcseréjükben végbemenő folyamatok intenzitása és ezek iránya is tetemes változásoknak lehet alávetve. Vizsgálataink szerint az *Act. M.17* általunk izolált és tenyésztett törzsei *határozott stabilitásról* tesznek tanúbizonyságot. Ennek a ténynek igen nagy fontossága van a további vizsgálataink szempontjából. Így megállapíthatjuk, a legfontosabb faji bélyegek (antibiotikum termelés, spórázó-képesség, fiziológiai tulajdonságok) viszonylag stabil voltát vizsgálataink már több mint egy esztendeje alatt.

*C és N-források értékesítése*: Az *Act. M 17* bontja a cellulózt. Jól fejlődik a glikogéneken. A keményítőt hidrolizálja. Kitűnően értékesíti a raffinózt, maltózt, laktózt. A szaharózt invertálja. Az egyik legjobb C-forrásnak a cellobióz bizonyult. Kitűnő fejlődést észleltünk aldohexózokon (d-glukóz, d-mannóz, d-galaktóz), de hasonlóan jó szénforrásnak bizonyult a d-fruktóz is. Az aldopentóz csoportból kivizsgált d-arabinóz és d-xilóz közül az előbbi jó, az utóbbi már csökkent mértékben bizonyult felhasználhatónak az *Act. M 17* számára. A mannit és a vele sztereoiszomer szorbit közül az első ugyancsak jobb C-forrás volt. Az inoziton kielégítő növekedést tapasztaltunk. Hasonlóan a glicerín esetében is. A vizsgált organikus savak sói között a K-citrát jó C-forrásnak bizonyult. Érdekes itt ezt mindjárt összehasonlítani a K-oxaláttal, melyen már alig volt micelium képzés. Ez megegyezik W a k s m a n n a k [8] a sugárgombákkal kapcsolatban ezen szénforrások felhasználhatóságára vonatkozóan tett megállapításaival. Azonban S t a p p adatait [5] figyelembe véve fajunkat a potensebb aktinomiceszek közé kell sorolnunk. N a f o r m i a t o n (rázatott kultúrában) jól észlelhető, bár nagyon gyenge fejlődést tapasztaltunk.

Mindezen addig felsorolt C-forrásokot ásványi N-forrással —  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  — kombináltuk, mikor is a következő összetételű táptalajt alkalmaztuk:  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0,1%,  $\text{MgSO}_4$  0,05%,  $\text{NaCl}$  0,05%,  $\text{FeSO}_4$  0,001%,  $\text{CaCl}_2$  0,03%,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  0,1%, C-forrás 0,5%,  $\text{pH}$  6,8—7,0.

Ammoniumfoszfát mellett, nátriumnitrát, ammoniumnitrát, kalciumnitrát, ammoniumsulfát, mint ásványi N-források egyaránt jó növekedést biztosítottak. A micélium legerőteljesebb fejlődését pedig húskivonat, pepton, répakivonat, stb. jelenlétében tapasztaltuk. Ha a C- és N-forrás együttes szerepében albuminokat, Na-nukleátot, vagy karbamidot alkalmaztunk gyenge vagy semmi növekedés sem volt megállapítható. Ha a glukózt mint C-forrást aszparaginnal mint C- és N-forrással kombináltuk, úgy közepes, glukózt glikokollal kombinálva fokozott mérvű micélium képzést értünk el. Aminósavakat egyedül alkalmazva C- és N-forrás minőségében, az arginin esetében közepes, a glikokoll, alanin, leucin, methionin és hisztidin esetében pedig vagy gyenge vagy semmi fejlődést nem találtunk.

Az *Actinomyces* M 17 a zselatinba — barna színanyagképzés mellett — zsákszerűen belenő, s azt csak hosszabb idő után (5—6 hét) folyósítja. A Löffler-féle vérsavós táptalajon ráncos felületű jól fejlődő, gyengén barna színanyagot képező telepeket képez.

*A tenyészetben mutatkozó tulajdonságok:* Az *Act.* M 17 kedvező fejlődését tapasztaltuk 6—7 közötti  $\text{pH}$  értékeken, 25—30 C fok közötti hőmérsékleten, különböző organikus közegeken és szintetikus táptalajokon. Így bizonyos sterilizált, humuszban gazdag és szegény vályog talajokon, növények (tölgy, dió, nád, stb.) autoklavozott levelein, búzaszalmán, tehéntrágyán, stb. Természetes, nem sterilizált közegeken nem jutott megfigyelhető fejlődéshez. Ez a jelenség csak a mikrobiális konkurrencia viszonyokkal magyarázható. Tenyésztési viszonyai — tekintettel az antibiotikum termeltetésre is — kedvezően oldhatóak meg mind felületi kultúrákban, rázatott tenyészetekben, mind pedig kevert átlevégőztetett fermentor edényekben (10 l.). Rendkívül érzékeny a bakteriális fertőzések iránt, s ez a veszély annál tetemesebb, mivel antibiotikus anyagcsere terméke Gram pozitív és Gram negatív baktériumokkal szemben egyaránt hatástalan. Vizsgálataink szerint az optimális  $\text{pH}$  érték a fermentáció elindításánál 6,5—7,0 között van. Ezután a  $\text{pH}$  értékek fokozatos emelkedése tapasztalható, mely több általunk vizsgált folyékony táptalajon (Czapek, bouillon X, »Corn-steep«, stb.) a 8-14 nap között  $\text{pH}$  8,0-ra, maximum  $\text{pH}$  9,0-ra emelkedik. A kultúrfolyadékban képződő micélium mennyiségét nemcsak a C- és N-források és az egyes anorganikus sók befolyásolják tetemesen, hanem a kiindulási  $\text{p}_m$  érték is. Egy kísérleti sorozatban Czapek táptalajon, 25 C fokon rázatott tenyészeteknél, 200—200 ml kultúrfolyadék alkalmazásával a következőket tapasztaltuk. Ha a kiindulási  $\text{pH}$  érték 6,85 volt, úgy a 14. napon mért micélium szárazanyag 1,7118 g míg a  $\text{pH}$  7,83. Ha a kiindulási  $\text{pH}$  érték 6,18 volt, úgy az említett időpontban az össz. szárazanyag 0,8058 g, a  $\text{pH}$  7,64. Végül 5,26 kezdő  $\text{pH}$  érték után a 14. napon a micélium szárazanyag súlya 0,4844 g, a  $\text{pH}$  7,19-re emelkedett. A micélium súly ezen tetemes különbségei mellett a kultúrfolyadék antibiotikus aktivitása mindhárom esetben azonos volt. \*

#### Az antibiotikus metabolit jelentősége az *Actinomyces* M 17 anyagcseréjében

*A hatóspektrum:* Igen sok vizsgálat tanúskodik arról, hogy az antibiotikus hatóspektrum és aktivitás tetemesen függhet a felhasznált táptalaj mennyiségi és minőségi viszonyaitól. Sőt ismeretes az a vita, amely az antibiotikumok természetbeni szerepének értékelése körül alakult ki, s amelynek keretében sokan azt a

nézetet képviselik, hogy az antibiotikumok vagy a mesterséges táptalaj szokatlan körülményei folytán kiváltott abnormis anyagcsere termékek, vagy olyan normális, de intermedier anyagcsere termékek, melyek a táptalajok különleges viszonyainak hatására kerülnek leadásra. Azonban egyik esetben sem eredendően antibakteriális anyagok.

Fajunk esetében e kérdés vizsgálatát mindenek előtt a komplex Waksman táptalajon az antibiotikus hatóspektrum megállapításával kezdtük. Az érzékenykedett felületére kacs segítségével vittük fel az *Act. M 17* micelium darabkáját. A 30 órás inkubáció után észlelt eredményeket alant mutatjuk be: 0 = gátlás hiánya, + = 5, ++ = 10, +++ = 15, ++++ = 20 mm-ig terjedő gátlás, a gátló udvarok rádiuszára vonatkoztatva.

1. <i>Agrobacterium radiobacter</i> .....	0	<i>A. sp.</i> (Tanezrouft 5) .....	++
<i>Bac. subtilis</i> .....	0	<i>A. sp.</i> (Tanezrouft 8) .....	+++
<i>E. coli</i> .....	0	<i>A. sp.</i> (Tanezrouft 9) .....	++
<i>Serratia marcescens</i> .....	0	<i>Mycobact. sp.</i> .....	++
<i>Sarcina lutea</i> .....	0	<i>Myc. mucosum M 34</i> .....	++
<i>St. albus</i> .....	0	<i>Proactinomyces roseus</i> .....	++
<i>St. aureus</i> .....	0	<i>Pr. sp.</i> .....	++++
2. <i>Actinomyces aureofaciens</i> .....	++	3. <i>Candida sp.</i> .....	0
<i>A. fradii</i> .....	++	<i>Hansenula anomala</i> .....	0
<i>A. griseus M 15</i> .....	++++	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	0
<i>A. globisporus streptomycini</i> .....	++	<i>S. chevalieri</i> .....	0
<i>A. rimosus</i> .....	++	<i>S. italicus</i> .....	0
<i>A. sp.</i> (Boghari 2) .....	++	<i>Torulopsis utilis</i> .....	0
<i>A. sp.</i> (Halland—Väderö) .....	++	<i>Zygosacch. Marxianus</i> .....	0
<i>A. sp.</i> (In—Ecker 4) .....	++++	4. <i>Absidia ramosa</i> .....	0
<i>A. sp.</i> (Jáva 1) .....	++++	<i>Aspergillus sp.</i> .....	++
<i>A. sp.</i> (Jáva 2) .....	+++	<i>A. ruber</i> .....	+
<i>A. sp.</i> (Krakatau 1) .....	++	<i>A. versicolor</i> .....	0
<i>A. sp.</i> (Krakatau 3) .....	++	<i>Botrytis cinerea</i> .....	++
<i>A. sp.</i> (Krakatau 4) .....	++++	<i>Fusarium sp.</i> .....	+
<i>A. sp.</i> (Pemberton 1) .....	++++	<i>Penicillium citreo-viride</i> .....	+
<i>A. sp.</i> (Pemberton 4) .....	++++	<i>P. granulatum</i> .....	+
<i>A. sp.</i> (Sba 1) .....	++	<i>P. waksmani</i> .....	0
<i>A. sp.</i> (Sba 3) .....	++	<i>P. chrysogenum</i> .....	++
<i>A. sp.</i> (Tanezrouft 4) .....	+++		

Mint látható az *Act. M 17* antibiotikus anyagcsere-termékei teljesen hatástalanok a felhasznált Gram pozitív és Gram negatív baktériumokkal, továbbá a kókkuszokkal szemben. Hasonlóan egyetlen esetben sem tapasztaltunk gátlást élesztők irányába. E vizsgálatokba több *Actinomyces* törzset vontunk be, melyeket Fehér (a Föld legkülönbözőbb tájairól szerzett) talajmintáiból izoláltunk. A talajminta származási helyét és a törzs számát minden esetben zárójel között tüntettük fel. Valamennyi kivizsgált *Actinomyces* törzs és determinált faj érzékeny volt az *Act. M 17* antibiotikus anyagcsere termékeivel szemben. A sugárgombákkal rokon *Proactinomyces* és *Mycobacterium* fajok érzékenysége ugyancsak kimutatható volt. Jóllehet a gombák esetében már nem jutottunk egységes eredményre, de az összkép alapján meg kell állapítanunk, hogy a hatóanyag első sorban is a sugárgombákra fejt ki gátló hatást.

**Hatóspektrum és szénforrás:** Annak megállapítására, hogy az antibiotikus hatóspektrum a különböző szénforrások felhasználásánál hogyan alakul, a következő kísérletet végeztük. Különböző C-forrásokkal ellátott 8—8 ml folyékony táptalajt (összetételét lásd 241. old.) kémcsövekbe adagoltunk, sterilizáltuk, az *Act. M 17* spóráival oltottuk s a kémcsöveket a jobb átszellőzés végett, ezek befoga-

dására alkalmas forgó korongra helyeztük. 6 nap elteltével a kémcsövek tartalmát centrifugáltuk és a kultúr-folyadék aktivitását a lyukteszt-módszerrel vizsgáltuk az *E. coli*, *B. subtilis*, *St. aureus*, *S. lutea*, *Mycobact. mucosum* M 34, *Actinom. griseus* M 15, *Penicillium chrysogenum* és a *Sacch. cerevisiae* mikrobákkal szemben. Ennek a módszernek a megbízhatóságát is ismételtelen ellenőriztük, s megállapítottuk, hogy a kultúr-folyadékban esetlegesen visszamaradó micélium hatóanyagtermelésével a 16–25-órás vizsgálat alatt nem kell számolnunk. Azbeszt-szűrőkön végzett (pl. Filtrox Steril S 2408) szűrési kísérleteink nem vezettek eredményre, mivel a hatóanyag ezeken nem haladt keresztül. Időközben megállapítottuk, hogy a kérdéses antibiotikus anyagcsere termék nagymértékben termostabil, s a kultúr-folyadék 120 C fokon sterilizálható. A kultúr-folyadékok antibiotikus aktivitásának hatáscsökkenését hőkezelés után, az agárdiffúziós módszerrel mérve, csak az egyébként igen alacsony gátlóértékek mellett (2–6 mm) lehetett kifejezetten észlelni.

Ezek alapján a vizsgálatokat úgy módosítottuk, hogy valamennyi említett faj érzékenységet vizsgáltuk a hővel nem kezelt centrifugátummal szemben, továbbá a *B. subtilis* és az *Act. griseus* M 15 érzékenységet még a 120 C fokon sterilizált fermentlével szemben is. Az eredményeket a 2. táblázaton mutatjuk be.

2. táblázat

Az *Actinomyces* M 17 kultúr-folyadékainak antibiotikus hatóspektruma különböző szénforrások felhasználása esetén, nyolc teszt-szervezettel szemben

	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>St. aureus</i>	<i>Sarcina lut.</i>	<i>Mycobact. muc.</i>	<i>Act. griseus</i>	<i>Pen. chrysog.</i>	<i>Sacch. cer.</i>
Cellulóz .....	—	—	—	—	—	6	—	—
Glikogén .....	—	—	—	—	7	16	8	—
Amilum .....	—	—	—	—	10	16	8	—
Raffinóz .....	—	—	—	—	8	16	10	—
Laktóz .....	—	—	—	—	9	17	7	—
Szaharóz .....	—	—	—	—	9	15	10	—
Maltóz .....	—	—	—	—	6	14	4	—
Cellobióz .....	—	—	—	—	9	17	7	—
Glukóz .....	—	—	—	—	9	17	7	—
Galaktóz .....	—	—	—	—	2	10	—	—
Mannóz .....	—	—	—	—	7	15	9	—
Fruktóz .....	—	—	—	—	9	16	6	—
Mannit .....	—	—	—	—	9	15	9	—
Szorbit .....	—	—	—	—	—	9	—	—
Arabinóz .....	—	—	—	—	10	14	6	—
Xilóz .....	—	—	—	—	—	8	—	—
Glicerín .....	—	—	—	—	8	15	7	—
K-citrat .....	—	—	—	—	3	11	—	—
K-oxalat .....	—	—	—	—	—	4	—	—
Na-formiat .....	—	—	—	—	—	5	—	—
Karbamid .....	—	—	—	—	—	—	—	—

Mivel a kétféle eljárással kezelt kultúr-folyadék aktivitásában lényeges különbséget nem tapasztaltunk, a táblázaton külön-külön nem is tüntettük fel azokat. A 2. táblázat adataiból látható, hogy sem az *E. coli*-ra, sem a *B. subtilis*-re, *S. aureus*-ra, *Sarc. lutea*-ra, sem a *Sacch. cerevisiae*-re egyetlen esetben sem lehetett gátló hatást kimutatni. Ezzel szemben az antibiotikus aktivitás iránya valamennyi szénforrás

esetében azonos volt. A legérzékenyebb az *Act. griseus* M 15, míg a *Mycobact. mucosum* M 34 és a *Penicillium chrysogenum* gátlása, a hatóanyag termelésétől függően, hol jelentkezik, hol elmarad. A fent említett kísérleti körülmények között végzett folytatólagos vizsgálataink azt mutatták, hogy azokon a szénforrásokon, melyeken a micéliumképzés gyenge mértékű volt (cellulóz, szorbít, K-citrat a hatodik napon mért alacsony antibiotikus aktivitás lassan tovább fokozódott.

**Antibiotikum-termelés:** Mivel szándékunkban volt az antibiotikum termelés körülményeit a talajviszonyok között felderíteni, mindenekelőtt legalább durva vonásokban fogalmat kellett alkotnunk a termelés menetéről. Folyékony rázatott kultúrákban végzett vizsgálataink alkalmával már korábban meggyőződünk arról, hogy az előregedő tenyészetek egy második antibiotikus hatóanyagot vagy hatóanyag komplexumot adnak le a környező médiumba. Azonban nem minden táptalajon. Így e második frakció megjelenését szintetikus közegeken nem észleltük, míg a bouillon x, Waksman-táptalajokon rázatott kultúrákban hat-hét nap után jelentkeztek.

### 3. táblázat

Az *Actinomyces* M 17 anyageseretermékeinek antibiotikus hatóspektruma, különböző természeti közegeken és táptalajokon történt kilenc napos tenyésztés után

	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>St. aureus</i>	<i>Sarcina lut.</i>	<i>Mycobact. muc.</i>	<i>Act. griseus</i>	<i>Pen. chrysog.</i>	<i>Sacch. cer.</i>
Búzaszalma .....	—	1	1	—	7	15	2	—
Diófa-levél .....	—	2	1	—	—	10	—	—
Nádlevél .....	—	—	—	—	—	10	—	—
Tölgylevél.....	—	—	—	—	—	6	—	—
Waksman-táptalaj .	—	3	2	—	7	16	8	—
Kraszilnyikov III. .	—	—	—	—	7	16	7	—
Kraszilnyikov IV. .	—	—	—	—	4	12	4	—

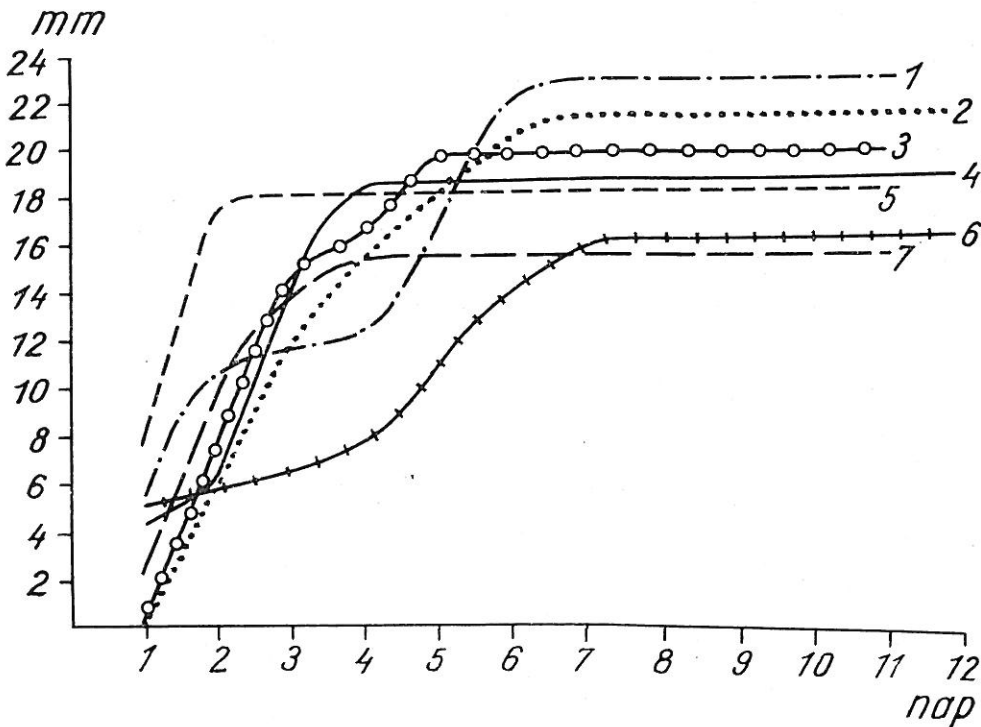
A 3. táblázaton Kraszilnyikov III. és IV. sz. szintetikus táptalaján és a Waksman táptalajon kilencnapos ráztatás után észlelt aktivitás eredményeket tüntettük fel. Látható a hatóspektrum kiszélesedése a Waksman táptalajon a *B. subtilis* és a *St. aureus* irányában. A 3. táblázat ezenkívül különböző növények leveleivel végzett kísérleteinkről is beszámol. 1000 ml-es Erlenmeyer lombikokba Fehér által [1] a cellulóz bontás vizsgálatához ajánlott  $\text{CaCO}_3$ -os táptalajból 125—125 ml-t mértünk be. Minden lombikba 5—5 gr száraz, apróra vágott búzaszalmát vagy dió, nád, ill. tölgylevelet tettünk. Sterileztük, beoltottuk és a folyadék antibiotikus aktivitását kilenc nap múlva a lyukteszt módszerrel vizsgáltuk. Amint a táblázatról látható, mind a búzaszalma, mind a diófa-levél alkalmas közegnek bizonyult a második antibiotikus frakció termeléséhez. Meg kell azonban jegyeznünk, hogy mind a szalmával, mind a levelekkel végzett kísérletek álló kultúrákban folytak.

A további vizsgálatok folyamán szükségesnek bizonyult a két frakciót egymástól elkülönítenünk. Az első, melynek hatása az *Actinomyces*, *Mycobacterium* és gomba-fajok ellen irányult, nem haladt át a Filtrox Steril S 2408 azbesztszűrőn és termotabilnak bizonyult. A második, a *B. subtilis*-re és a *Staphylococcus aureus*-ra hatékony frakció, a jelzett szűrőn áthaladt és termolabilisnak bizonyult. A megkülönböztetés kedvéért az elsőt, melynek hatása elsősorban az aktinomiceszek ellen irányult »*Anti-Actinomyces-faktor*«-nak, a másodikat »*A. M 17*«-nek neveztük el. E frakciók kémiai izolálását Oroszlán István, munkánkkal párhuzamosan végzi.



Ezekután kísérlet-sorozatot indítottuk be az »*Anti-Actinomyces-faktor*« termelés görbéjének megállapítására. Eredményeinket az 5. ábra szemlélteti.

Összesen hét táptalajjal dolgoztunk: 1, Bouillon x, 2, Waksman-tápközeg, 3. Czapek, 4. »Corn-steep« glukóz tápközeg, 5. Sárgarépa kivonat, glukóz-pepton tápközeg, 6. Tirozin-glukóz-ammoniumsulfát-tápközeg, 7. Glukóz-ammoniumsulfát tápközeg. A fermentációt rázatott kultúrákban 200—200 ml folyadékban 28 C fokon, 7,0 kiindulási  $p_H$  -értéken végeztük. A kultúrfolyadékok antibiotikus



5. ábra

Az *Actinomyces*-ellenes antibiotikum produkciójának időbeni lefutása különböző folyékony táptalajokon, rázatott tenyészetekben. 1: Bouillon x, 2: glukóz-ammoniumsulfát, 3: Czapek, 4: Waksman, 5: tirozin-glukóz-ammoniumsulfát, 6: »corn steep« és 7: sárgarépa-kivonat.

aktivitásának növekedését — a lyukteszt módszerrel megállapítva — az *Act. griseus* M 15-tel szemben, a gátlózónák rádiuszának mm-értékeiben kifejezve az 5. ábrán görbék szemléltetik.

Mint látható, a termelés különösen a tirozin tartalmú táptalajon elég gyorsan megindul s a 4—7. napok között eléri maximumát s ettől kezdve állandó szinten marad. A Czapek, »corn-steep«, bouillon x, tápközegek esetében a görbéknek a maximum előtti behorpadását tapasztaltuk, okát nem ismerjük. Ellenőrző vizsgálataink alkalmával ezt a jelenséget ilyen élesen nem észleltük. Az 5. ábra adatai arról tanúskodnak, hogy az egyes táptalajok esetében igen eltérő azon aktivitás szintje, melyen a termelés megállapodik. A legmagasabb aktivitást a bouillon x-tápközeg esetében tapasztaltuk, míg a legalacsonyabbat a sárgarépa-kivonatban.

*Antibiotikum-termelés talajban.* Ezek után hátra van még a kérdés, hogy vajon a talaj körülményei lehetőséget nyújtanak-e az antibiotikum termeléshez. Természetesen ez a vizsgálati talaj fizikokémiai viszonyaitól is függő. Sok hasonló irányú sikertelen kísérletet lehetne megokolni azzal, hogy a tenyésztéshez nem a legmegfelelőbb talajtípust választották. A 4. táblázaton azokról a kísérleteinkről számolunk be, melyek során két talajfélésegen megkíséreltük az antibiotikus anyagok produkcióját igazolni. Az első talaj tölgyes parkerdőből származik, 2,9% oldható humusztartalommal, a második melegágyi talaj, kertészföld volt 5,0% humusztartalommal. (Humuszmeghatározás NaOH-s extrakció oxidimetriás titrálásával).

A továbbiakban a következő módon jártunk el: 200—200 ml-es Erlenmeyer lombikokba 50—50 g talajt mértünk be, megnedvesítettük maximális vízkapacitásának 50%-ára és egyes sorozatokban még 2% búzaszalmát ill. keményítőt, glukózt, Ca-laktátot vagy szójalisztet adtunk hozzá. Ezután 120 C fokon sterilizáltuk s utána spóraszuspenzióval oltottuk. A tenyészeteket termosztátban 27 C fokon 32 napig inkubáltuk, miközben a sterilizett talajokon az *Actinomyces M 17* fejlődését szabad szemmel megállapíthattuk. A kísérletek egyhónapos ideje alatt rendszeresen gondoskodtunk az elpárolgott víz pótlásáról. A vizsgálat 32. napján minden lombikba 50—50 ml steril deszt. vizet mértünk be, a lombikokat gummidugóval zártuk és 30 percig rázógépen ráztuk. A leülepedés után a talaj felett összegyűlt folyadékot lepipettáztuk, centrifugáltuk és a lyuktesztelés módszerével aktivitását megvizsgáltuk az *E. coli*, a *B. subtilis* és az *Act. griseus M 15*-tel szemben. A 4. táblázat adatai a talajkivonatok gátló hatását tüntetik fel.

4. táblázat  
Az *Actinomyces M 17* antibiotikum termelése talajban

Talajtípus		Vizes talajkivonat gátló hatása mm-ben		
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Actinomyces griseus M 15</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Vályogtalaj	gazdagítatlan	—	7	—
	+ 2% búzaszalma	—	8	—
	+ 2% keményítő	—	9	—
	kontrol	—	—	—
Melegágyi talaj	gazdagítatlan	—	—	—
	+ 2% glukóz	—	10	—
	+ 2% szójaliszt	—	5	—
	kontrol	—	—	—

A vizsgálatokat 120 C fokon sterilizett talajkivonatokkal is elvégeztük, ezek spektruma teljesen azonos, hatásuk valamivel kisebb volt. A gazdagítatlan vályogtalaj 7 mm-es sugarú gátlózónát váltott ki az *Act. griseus M 15* fejlődésére és hatástalan volt az *E. coli*-ra, továbbá a *B. subtilis*-re. A termelés még

magasabb fokát észleltük a búzaszalmával, illetve keményítővel kiegészített talajokban. A melegágyi sterilizált talajban csak a glukóz és a szójaliszttel történt kiegészítés tette lehetővé a hatóanyag termelését. A sterilizált talajoknál a beoltatlan kontrolokból készült kivonatok hatástalanok voltak.

**Biotikus inaktiválás:** Mivel természetes, hővel nem sterilizált talajban antibiotikum termelést nem sikerült kimutatnunk, igyekeztünk ennek okát felderíteni. Lehetségesnek látszott, hogy ezekben a talajokban az *Actinomyces* M 17 gyengébb mértékben bár, de fejlődésnek indult, azonban a termelt hatóanyagot az eredeti mikroflóra lebontotta vagy hatástalanította. Meg kellett tehát állapítanunk az »*Anti-Actinomyces-faktor*« stabilitását a különböző mikroszervezetek jelenlétében. Az eljárás, melyet alkalmaztunk, lényegében a Wallhäuser [9] hasonló célokra szolgáló módszere volt. Így a következőképpen jártunk el: Az *Act.* M 17 spóraszuszpenziójával beoltottunk 200 ml folyékony Waksman táptalajt, ferde lombikban rázattuk hat napig. Ezután az aktív kultúrfolyadékot centrifugáltuk, majd kétszerére hígítottuk, frissen készített Waksman táptalajjal és 120 C fokon sterilizáltuk. 100 ml-es Erlenmeyerekbe 20–20 ml-enként adagoltuk és az 5. táblázaton olvasható mikroszervezetekkel beoltottuk.

5. táblázat

Különböző mikroszervezetek hatása az »*Anti-Actinomyces faktor*« biológiai aktivitására

	A vizsgálat időpontja			
	VI. 22.		VI. 29.	
	gátlózóna rádiusza mm-ben			
	<i>Act. griseus</i> -ra	<i>B. subtilis</i> -re	<i>Act. griseus</i> -ra	<i>B. subtilis</i> -re
Kontrol .....	14	—	12	—
<i>Act.</i> sp. M. 3 .....	14	5	12	3
<i>Act.</i> sp. M 5. ....	14	—	12	—
<i>Act.</i> sp. M 15 .....	14	4	12	3
<i>Act.</i> sp. M 13 .....	14	7	12	6
<i>Act.</i> sp. M 34 .....	14	—	12	—
<i>B. subtilis</i> .....	13	—	8	—
<i>E. coli</i> .....	14	—	12	—
<i>St. aureus</i> .....	14	—	12	—
<i>Sarcina lutea</i> .....	14	—	12	—

A beoltás VI. hó 15-én történt. 20-án valamennyi mikroba jó fejlődését tapasztalhattuk. 7 nap múlva a lombikok egy részének tartalmát centrifugáltuk, sterilizáltuk és a lyukteszt-módszerrel aktivitását vizsgáltuk az *Act. griseus* M 15 és a *B. subtilis*-szel szemben. A kísérleti anyag egy másik részét két hét múlva vizsgáltuk antibiotikus aktivitásra. Az első alkalommal (VI. 22.) a kontrol 14 mm-es akadályozási zónájával szemben csak egy esetben, mégpedig a *B. subtilis* részéről figyeltünk meg jelentéktelen hatástalanítást. Minden más esetben — a beoltott szervezetek kedvező fejlődése ellenére — a kultúrfolyadék magas *Actinomyces* ellenes hatása nem csökkent. Mit jelent ez? Tény, hogy ugyanazok a sugárgombák, melyek fejlődésük kezdeti szakaszában magas érzékenységet tanúsítanak a sztatikus hatású »*Anti-Actinomyces-faktor*«-ral szemben, később fejlődni képesek ezen gátlóanyag jelenlétében, anélkül, hogy azt magát hatástalanná tennék. Az M 3, M 15 és M 13 jelzésű *Actinomyces* törzsek — mint a táblázaton látható — maguk is termelnek termostabil, azonban már a *B. subtilis*-re hatékony antibiotikus

anyagokat. A második hét végén végzett vizsgálatok alkalmával megállapítottuk, hogy a kultúrfolyadékok antibiotikus aktivitása a kontrolléval egyetemben némileg csökkent, de biotikus inaktivációról még mindig csak a *B. subtilis* esetében lehet szó. Ez a folyamat a széna bacillussal beoltott lombikokban is csak igen lassan megy végbe.

Lehetséges, hogy az *Actinomyces* M 17 nem steril talajkörülmények között csak rendkívül csekélymértékű fejlődéshez jutott, de még fennforog a lehetősége annak is, hogy bizonyos általunk nem vizsgált mikroszervezetek az antibiotikum erélyes és gyors hatástalanítására képesek.

### Az eredmények megvitatása

A fenti eredményekkel kapcsolatban két problémát kell megbeszélünk. Az első az *Actinomyces* fajok kölcsönös gátlásának kérdése. Az itközölt adatok megerősítik Szabó [7] megállapításait, miszerint a sugárgombák legaktívabb antagonistáit ugyanezen mikrobacsoport körében kell keresnünk. Ez az ökológiai szempontok figyelembevételével érthető is. A természetben a sugárgombák között fokozott antagonizmusnak kell érvényesülnie, mivel ezek az ökológiai igényeik szempontjából egymáshoz legközelebb álló szervezetek, továbbá mind a populációs dinamizmusuk, mind a mineralizációban betöltött szerepük eltérő a baktériumokétól. Ilyen körülmények között nagy jelentősége van a természetes szelekciónak a sugárgomba ellenes hatású törzsek kiválogatódásánál.

A másik probléma az antibiotikum termelés kérdése a talaj körülmények között. Esetünkben nemsteril talajban antibiotikum termelést kimutatni nem tudtunk, bár a kérdéses hatóanyag a biotikus inaktivációval szemben meglehetősen ellenálló volt. Ezzel kapcsolatban tekintetbe kell vennünk, hogy a talaj rendkívül heterogén rendszer. A talajmikrobák a kis mikrobiális göcök egyikébe-másikába beilleszkedve folytatják tevékenységüket. Az, hogy egy mikroszervezet valamely talajban olymértékű egyeduralomra tegyen szert, hogy anyagcsere termékei, könnyen kimutatható mértékben felhalmozódjanak, ritkaságnak nevezhető. Ahhoz pedig, hogy a milliméterek tört részeinek nagyságrendjében mozgó mikrobiális göcök anyagcsere termékeit kimutathassuk, módszereink még kezdetlegesek.

### Összefoglalás

1. Vizsgálataink során kitenyészítettünk egy *Actinomyces* M 17 jelzésű sugárgomba törzset, mely különleges hatóspektrummal rendelkező antibiotikumot termel. Ez a hatóanyag («*Anti-Actinomyces-faktor*») a legfokozottabb aktivitást éppen a sugárgombákkal szemben fejt ki, míg a Grampozitív és -negatív baktériumok egész sorával szemben hatástalan.

2. Ezen termostabil, sztatikus hatású és a biotikus inaktivációval szemben igen ellentállóképes gátlóanyag — mely az *Actinomyces* M 17 esszenciális anyagcsere-termékét képezi — a legváltozatosabb szénforrásokon és minden olyan tápközegen — beleértve bizonyos természetes humuszszegény vályogtalajt is — melyen e sugárgomba egyáltalán fejlődni képes, leadásra kerül.

Érkezett: 1955. március 3.

## Irodalom

- [1] *Bellenegger, R.*: Talajvizsgálóti módszerkönyv, Mezőg. Kiadó, Budapest. 1953.  
 [2] *Kraszilnyikov, N. A.*: Opredelatelj bakterij i Aktinomycetov. Izd. A. N. SzSzR., Moszkva-Leningrád. 1949.  
 [3] *Kraszilnyikov, N. A.*: Actinomycetü-antagonisztü i antibioticseszkie vencesesztva. Izd. A. N. SzSzR. Moszkva. 1950.  
 [4] *Lindenbein, W.*: Arch. Mikrobiol. 17. 361. 1952.  
 [5] *Stapp, C.*: Zbl. Bakter., II. 107. 8/10. 129. 1953.  
 [6] *Szabó, I.*: Acta Microbiol. Hung. 2, 9, 1954.  
 [7] *Szabó, I.*: Kandidátusi disszertáció. Sopron. 1955.  
 [8] *Waksman, S. A.*: Ann. Crypt. Phytopath. 9. 1950.  
 [9] *Wallhäuser, K. H.*: Arch. Mikrobiol., 16. 201. 1951.

ВЗАИМНЫЙ АНТОГОНИЗМ ЛУЧИСТЫХ ГРИБОВ I.  
 ИЗУЧЕНИЕ ШТАММА *Actinomyces M 17*.

И. Сабо и М. Мартон

Лаборатория почвенной биологии Ак. Наук Венгрии, Шопрон, (Венгрия)

Резюме

Изучение взаимного антагонизма лучистых грибов должно представить важную цель почвенной микробиологии, потому что эти организмы играют первостепенную роль в жизни почв и образующиеся между ними тормозящие действия существенным образом влияют на ход биологических процессов почвы.

Наши исследования начали с изучения антибиотического взаимодействия микрофлоры парничной почвы. На таблице № 1. показывается взаимное торможение изолированных из той почвы 8 штаммов. (M 3—M19) лучистых грибов и 11 штаммов бактерий (M25—M45). Изучение велось на бульонпептон-глюкозе питательной среде, по витальному способу теста. Тормозящее влияние показанное в первом горизонтальном ряде таблицы — штаммов различного происхождения можно подсчитать в вертикальных рядах, располагающихся под ними по отношению различных штаммов первого вертикального ряда. Цифры показывают радиус тормозящей зоны в мм. g = слабое торможение около 1 мм, 0 = торможения нет. Видно, что лучистый гриб M — 17 особенно активен на другие штаммы, лучистых грибов, и не действует на все бактерии, кроме одной. Этот последний штамм (M 34) *Mycobacterium mucosum* Kraszilny.

Рисунок 1. показывает антибиотическое действие *Actinomyces M 17* против микроб, 1, *E. coli*, 2: *B. subtilis*, 3. *Act. griseus*, 4. *Sacch. cerevisiae*. Подобно рисунку 2. показывает против тесторганизмов 1. *Sarcina lutea*, 2. *Mycobacterium mucosum*, 3. *St. aureus*, 4. *St. Albus*, 5, *Serr. marcescens*.

В работе дальше дается описание Аст. M 17. Рисунок № 3. показывает картину сероватобелых колоний на казеин-глюкоза питательной среде по Йензену и на рис. № 4. видны спиральные носители спор. Аст. M 17 хорошо растущие на техисточниках угля, которые показаны на таблице № 2. На этой же таблице можно подсчитать антибиотическую активность ферментативных жидкостей культур, выросших на различных источниках угля, против ниже нумерованных 8-ми тесторганизмов. Определение велось по методу «дырочного теста», радиус зон торможения дан в мм. Во всех случаях наибольшая активность обнаруживалась против *Act. griseus*.

Такое вещество, действующее главным образом против актиномицетов, было названо нами «Анти-Актиномицес-фактор». Оно термостабильное статического действия, бездействительное против целого ряда кокков и грам позитивных и грамотригативных бактерий. Обнаружилось, что действует на все *Actinomyces* и что имеет низкую активность против некоторых плесневых грибов и *Mycobacterium*.

Антибиотическая продуктивность по времени показана на рис. № 5. Тормозящее влияние жидкостей культур в случае все питательных сред не изменяется после достижения максимума. Стареющие культуры вырабатывают и вторую термостабильную антибиотическую фракцию, которая действует на грам-позитивные организмы.

*Actinomyces M 17* в стерильной сульфидной почве — которая не была обогащена органическими веществами — тоже производит его антибиотическое вещество. Водные вы-

тяжки почвы были активны только на *Актиномицесты* и путем измерения метода «дырочного теста» у *Act. griseus* вызвали 7 мм торможение. Тормозящее вещество почвенных вытяжек было термостабильным.

«Анти-Актиномицес-фактор» очень противостоящий к биотической инактивизации. (Таблица № 5.) Этому веществу из изучаемых целого ряда микроорганизмов только *B. subtilis* принёс ущерб в небольшой степени и только через длительное время.

## Antagonism between Ray Fungi I A Study of the Actinomyces Strain M 17

I. SZABÓ and Miss M. MARTON

Research Laboratory for Soil Biology of the Hungarian Academy of Sciences, Sopron  
(Hungary)

### Summary

Since ray fungi play a significant role in soil life and the inhibitory effects they exert upon one another have a notable influence on biological soil processes, it is an important task of soil biology to study the antagonism between these microorganisms.

The present study began with investigations into the antibiotic interactions in the microflora of a hotbed. Isolating 8 strains of ray fungi (M 3—M 19) and 11 stains of bacteria (M 25—M 45), from the soil of a hotbed, their mutual inhibition was studied on bouillon-peptone-glucose nutrient medium, and the results, established by the vital test, are shown in table I. The first line of the table contains the label numbers of the different strains; their inhibitory effect upon the different strains enumerated in the first column is indicated in the subsequent columns. The numbers stand for the length in mm of the radii of inhibitory zones; the letter *g* denotes weak inhibition within a radius of about 1 mm, and the letter *0* means no inhibition. It will be seen that while it was highly inhibitive for other strains of ray fungi, *Actinomyces M 17* had no effect on bacteria with the exception of strain M 34: *Mycobacterium mucosum* Krassilny.

The special antibiotic action of the *Actinomyces* strain M 17 upon *E. coli* (1), *B. subtilis* (2), *Act. griseus* (3) and *Sacch. cerevisiae* (4) microbes is demonstrated in fig. 1, and that upon the test organisms *Sarcina lutea* (1), *Mycobacterium mucosum* (2), *St. aureus* (3), *St. albus* (4), and *Serr. marcescens* (5) in fig. 2.

There follows in the paper a description of *Act. M 17*. The appearance of the greyish white colonies on Jensen's casein-glucose nutrient medium is pictured in fig. 3, while the spiral sporangia can be seen in fig. 4. *Act. M 17* thrives on the carbon sources which are listed in table 2. This same table shows, as assayed by means of the cup test and with the radii of the inhibition zones given in mm, the antibiotic activity against 8 test organisms of the fermentation liquids of shaken cultures initiated on the various carbon sources. Activity was invariably found to be the greatest against *Act. griseus*. The substance which operates chiefly against species of the genus *Actinomycetes* and was termed by us «*Anti-Actinomyces factor*», was found to be thermostable, of static effect, ineffective against a great number of Gram positive and Gram negative bacteria and cocci, but active towards all the *Actinomycetes* examined, and showed a feeble effect also on some moulds and mycobacteria. Fig. 5 shows the times taken by the production process. Having reached its maximum, the inhibitory action of the liquid cultures was found to remain unchanged with all the nutrient media employed. Ageing cultures were observed to produce a second thermolabile antibiotic fraction effective against Gram positive organisms.

*Actinomyces M 17* was found to produce the antibiotic also in sterile clays not enriched with organic substances. Aqueous soil extracts were only active against *Actinomyces*; the cup test showed a 7 mm inhibition zone against *Act. griseus*. The inhibitory substance of the soil extracts proved to be thermostable.

The «*Anti-Actinomyces Factor*» is highly resistant to biotic inactivation (table 5). Out of a great number of microorganisms it was only *B. subtilis* that was observed to harm this agent, but the harmful effect was slight and took a long time to manifest itself.