

A talajmikróbák gócszerű településének okairól

SZABÓ ISTVÁN, OROSZLÁN ISTVÁN és MARTON MÁRIA

Magyar Tudományos Akadémia Talajbiológiai Kutatólaboratóriuma, Sopron

A talajmikrobiológia ma még csaknem legnagyobb nehézségekkel küzdő vizsgálati területe azoknak a finom kölcsönhatásoknak a tanulmányozása, melyek sokszor a milliméter tört részeinek nagyságrendjébe tartozó talajkörletekben a mikroszervezetek között lejátszódnak. A megfelelő módszerek hiányának tulajdonítható, hogy mindmáig csupán a mikróbák térbeli elhelyezkedésének morfológiai képéről van bizonyos fogalmunk, míg a mikroba csoportosulások között lezajló folyamatokra a mesterséges táptalajokon észlelt jelenségek alapján tudunk csak visszakövetkeztetni. Már a mikroszervezeteknek a talajban észlelhető csoportosulása és elhelyezkedése sem egyszerűen értelmezhető folyamat, mivel itt szaporodásdinamikai, mechanikai, védelmi, heteropopulációs stb. jelenségek bonyolult összhatásával kell számolnunk.

Kraszilnyikov [3] 1936-ban kimutatta, hogy a mikróbák a talajban nem egyenletesen eloszolva, hanem góckba tömörülve fordulnak elő. Ez a megállapítás később sokoldalú megerősítést nyert. Meg kell azonban jegyezni, hogy a góc, vagyis a tömörült népesség fogalmkörébe nem csupán a szférikus kiterjedésű baktérium populációk, hanem a talajrészecskéket összekötő „élő hidak” (Sekerá [9]) vagy a gyökerekre tapadt kolóniák és más mikroba csoportosulások is bevonhatók. Kraszilnyikov szerint [4] e góckban ugyanazon vagy különböző fajú, egymással szemben nem antagonisták, de metabiotikus kapcsolatokban álló mikróbák élnek.

Egyes feltevések szerint [4, 7] ez a gócszerű elhelyezkedés a résztvevő szervezetek számára a védekezés hathatós formájának fogható fel, különösen az antibiotikus behatásokkal szemben. Sajnos azonban a „talajantibiotikumok” hatására bekövetkező gócszerű elrendeződésre vonatkozó bizonyító erejű kísérletes adatokra az irodalomban nem sikerült rátalálnunk. Ez a tény készített bennünket azoknak a kölcsönhatásoknak tüzetesebb tanulmányozására, melyek az általunk korábban leírt [8] *Actinomyces M-17* antibiotikus hatású sugárgomba és ennek hatóanyagával szemben érzékeny mikroszervezetek között a talajban lejátszódnak.

Nehézségeket okozott, hogy az *Actinomyces M-17* antibiotikus anyagszere terméke („Anti-*Actinomyces*-faktor”) — különösen olyan koncentrációkban, melyek produkciójára e törzs bizonyos talajokban képesnek mutatkozik — első sorban is más sugárgombákkal szemben hatékony. Márpedig a talajban együtt élő mikroszervezetek megfigyelését lehetővé tevő Cholodny-lemezes vizsgálatokkal a különböző aktinomyceták elkülönítése komoly akadályokba ütközik.

Kísérleti rész

Kísérleteink során [5] — a különböző talajtípusok széles skálájával próbálkozva — sikerült egy olyan talajhoz jutnunk, amelyen minden tápanyag adagolás nélkül a nevezett sugárgomba gátlóanyag produkciója elérte azt a fokot, mellyel szemben e talajban ugyancsak jól fejlődő *Mycobacterium mucosum* Kr. érzékenysége

is kimutatható. A továbbiakban az *Act. M-17* és a *Mycobact. mucosum* ill. az *Act. violaceus HTÖ-13* jelzésű sugárgombatörzs kölcsönhatását tanulmányoztuk az említett talajban. Közömbös, kötött barna erdő-talaj, égeres alól: humusz% (krómsavas égetéssel nyert CO₂ mérésének alapján): 3,22; pH/H₂O (elektrometriás úton mérve): 7,1; CaCO₃ a Scheibler-féle kalciméterrel: 0,0; kötöttség (Arany módszerével): 54.

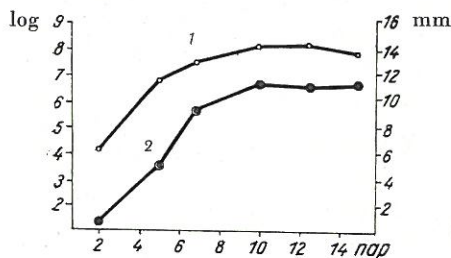
Vizsgáltuk e törzsek együttes és magános tenyészetének növekedését petricsészékben 60 g-ként elhelyezett, 30% nedvességet tartalmazó, előzetesen másfél atm. nyomás mellett 10 percig sterilizált, majd spóra, ill. sejtszuszpenziókkal egyidejűleg beoltott talajokban Cholodny lemezek segítségével. A lemezeket a finoman morzsás talajok felületére enyhe nyomással helyeztük fel és esetenként 2, 5, 7 ill. 10 nap eltelté után távolítottuk el. A petricsésze-tenyészeteket termosztátban 28 C°-on inkubáltuk. A Cholodny-lemezeket láng felett fixáltuk, majd a rátapadt nagyobb talajrészecskéket óvatos ütögetéssel választottuk le. Az így előkészített preparátumokat a Löffler-féle lúgos metilénkékkel festettük meg.

A tenyésztésbe vont mikroorganizmusok fejlődését — a Cholodny-lemezes vizsgálatokon kívül — lemezöntéssel is ellenőriztük. Így a két sugárgombatörzs növekedését glukóz-aszparagin-agaron (glukóz: 10,0 g, aszparagin: 0,5 g, K₂HPO₄: 0,5 g, agar: 15,0 g, deszt. víz: 1000 ml, pH 6,8) állapítottuk meg. Midőn a meghatározásokat nevezett sugárgombák egyes tenyészetivel végeztük, úgy nagy hígításokkal dolgoztunk és a lemezeket két hétig inkubáltuk. Ez alatt a telepek jól kifejlődtek és a talajtenyészet alkotó komponensei felismerhetőkké váltak.

Ezzel párhuzamosan kísérlet sorozatot indítottunk a talajok mindenkori antibiotikus hatásosságának megállapítására. 500-500 ml-es Erlenmeyer lombikokba 80-80 g talajt mértünk be, sterilizáltuk és a törzsek magános vagy együttesen vett vizes szuszpenziójával oltottuk, figyelembe véve, hogy a talaj víz tartalma a már megadott értéket képviselje, majd a lombikokat költőszekrényben 28 C°-ra állítottuk. A talajokból időközönként vizes kivonatot készítettünk. Így 80-80 ml steril deszt. vizet mértünk be az egyes lombikokba, majd steril gumidugóval zártuk és másfél órán át rázógépen ráztuk. A leülepedés után a talaj felett összegyűlt folyadékot vagy közvetlenül vagy 110 C°-on 10 percig történő sterilizés után vizsgáltuk antibiotikus aktivitásra. E vizsgálatokat az ú. n. lyukteszt módszer segítségével hajtottuk végre, továbbá alumíniumgyűrűkben a cylinderlemez módszerrel a bouillon-pepton-glukóz agarban (bouillon: 250 ml, deszt. víz: 250 ml, K₂HPO₄: 1,0 g, MgSO₄: 0,2 g, NaCl: 0,1 g, FeSO₄: nyomokban, glukóz: 5,0 g, pepton: 5,0 g, (NH₄)₂HPO₄: 2,5 g agar: 10,0 g) terített standard érzékenységgű *Actinomyces griseus M-15*, továbbá a *Mycobacterium mucosum M-34* — jelzésű tesztorganizmokkal szemben. Ezenkívül a mikobakteriumokkal oltott talajok sterilen szűrt kivonatainak hatását vizsgáltuk a fenti tápközegben szuszpendált és terített *Actinomyces M-17*-el szemben is. Az eredmények szerint az *Actinomyces M-17* antibiotikum termelésének maximumát — a talajokat 28 C°-on inkubálva — a tizedik napig általában már eléri. Ezt mutatja be az 1. ábra, melyen e sugárgomba törzs monokultúrájának növekedését és antibiotikum termelésének lefutását tüntetjük fel. A csíraszámot a lemezöntéses módszerrel mértük és az 1. ábrán a kapott értékek logaritmusában adtuk meg. Az antibiotikum termelést a talajkivonatoknak az *Act. griseus M-15*-el szemben mért gátló hatásának mm-jében adtuk meg. Látható, hogy a növekedés és az antibiotikum termelés között határozott párhuzam van.

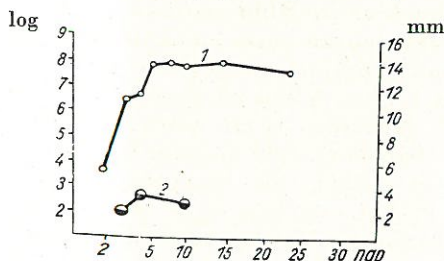
Az 1-3. ábra tanúsága szerint az antagonista *Actinomyces M-17* törzs nemcsak mesterséges táptalajokon, hanem a vizsgált sterilizált erdőtalajban is

erőteljes antibiotikus hatást tud kifejteni. A 2. ábrán az *Actinomyces violaceus* HTÖ-13 törzs növekedését feltüntető 1. görbe e szervezet nagy növekedési aktivitását igazolja monokultúrában. Megjegyzésre érdemes, hogy a tenyésztés 10-ik napjáig a talajkivonatoknak itt is tapasztaltuk gyenge gátló hatását az *Act. griseus*-*M-15*-el szemben (2. görbe). Amíg azonban az *M-17* monokultúráinak vizes kivonata gátolta az *Act. violaceus* növekedését bouillon-pepton-glukóz-agarban,



1. ábra

Az *Actinomyces M-17* növekedése (1) és antibiotikum termelése (2) közömbös kémhatású, kötött, steril barna-erdőtalajban.



2. ábra

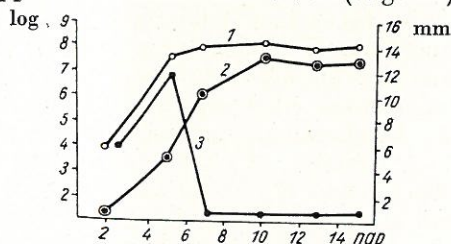
Az *Actinomyces violaceus* HTÖ-13 növekedése (1) és gátlóanyagtermelése (2) monokultúrában steril erdőtalajban.

A baloldali függőleges tengelyen a sugárgombaszám logaritmus van feltüntetve 1 g talajra számítva, a jobboldali tengelyen pedig talajkivonat gátló hatása mm-ben

addig ennek fordítottja nem volt kimutatható. A 3. ábra a két törzs együttes növekedését szemlélteti az oltáshoz felhasznált kb. azonos spóratartalmú szuszpenziókkal történt beoltás után. Az 1. görbén az *Act. M-17* törzsnek a szokottnál valamivel gyorsabb ütemű fejlődése észlelhető. Az *Act. violaceus* az ötödik napig ugyancsak fokozottan növekedett, de ekkor a fejlődés görbéje megtört és a kísérlet további folyamán a vizsgált talajmintákból éppen csak kimutatható volt (3. görbe).

Érdekes, hogy e vegyes tenyészetekben is az *Act. M-17* hatóanyagtermelésének maximumát a 10-ik napon észleltük.

Mivel a Cholodny lemezekben a sugárgombák megkülönböztetése lehetetlen volt, a továbbiakban figyelmünket a *Mycobacterium mucosum* és az *Actinomyces M-17* kölcsönhatására fordítottuk.



3. ábra

Az *Actinomyces M-17* (1) és az *Actinomyces violaceus* (2) sugárgombatörzsek növekedése vegyes kultúrában és az „Anti-*Actinomyces*-faktor” (3) termelése steril erdőtalajban.

Tíz nap eltelte után mind a sugárgomba magános, mind a *Mycobacterium*-mal közös talajtenyészetekből nyert vizes kivonatok egyaránt — a sok kísérleti párhuzam átlagát számítva — 11-12 mm-es gátlást (a gátlózóna rádiuszában számítva és a lyukteszt módszerrel mérve) idéztek elő az igen érzékeny *Act. griseus M-15* növekedésében. Lényeges különbség a hővel kezelt és kezeletlen talajkivonatok gátló hatásában nem volt, ami a korábban ismertetett termostabil „Anti-*Actinomyces*-faktor” jelenlétére enged következtetni. A *Mycobacterium mucosum* mono-kultúráiból nyert talajkivonatok gátló hatását egyetlen esetben sem észleltük.

Kísérleteinknek ezen a pontján egy igen fontos kérdést kellett tisztázni.

Vajon a kétféle tenyésztéshöz nyert gátló anyagok, az azonos mértékű antibiotikus hatás ellenére is azonos anyagi természetűek-e? Vagyis felderítésre várt, hogy az *Actinomyces M-17* a kevert tenyésztésben is az általunk korábban kimutatott [8] „Anti-Actinomyces-faktort”, vagy ennek csupán egyik vagy másik komponensét („A” és „B”) termeli-e [5], vagy valamilyen más természetű gátlóanyaggal kell itt számolnunk. Ez a kérdés feltevés jogosnak mutatkozott, mivel igen tekintélyes azoknak az irodalmi adatoknak a száma, melyek szerint a kevert tenyésztésekben szerepet játszó gátló anyagok lényegesen eltérőek lehetnek a felhasznált törzsek monokultúráinál észlelteknél. Megjegyzendő, hogy ezek az irodalmi adatok csaknem kivétel nélkül mesterséges táptalajokra vonatkoznak.

E kérdés tisztázására papírkromatográfiás vizsgálatokhoz folyamodtunk. Az *Actinomyces M-17* magános és a *Mycobacterium mucosum*-mal kevert talajtenyészteteiből a fent leírt módon vizes, továbbá alkoholos kivonatokat készítettünk. Ez utóbbi esetében 80 g talajt 100 ml 96%-os alkohollal szobahőmérsékleten, időközönkénti felrázással 96 óráig extraháltuk. A centrifugálással és dekantálással nyert tiszta oldatot vákuumban bepárooltuk és a maradékot 40 ml vízben oldottuk. Az így nyert kivonatokat Macherey-Nagel 214-es papíron, egymással párhuzamosan kromatografáltuk. A jelzett papírt Goodall és Levi [2] eljárásához hasonlóan 1/15 molos foszfát-pufferrel (pH : 7,0) kezeltük. A talajkivonatokat azonos mennyiségeit platinkaccsal vittük fel a papírra, közbenső szárítással. A kromatogramok kifejlését illetően a legalkalmasabbnak az alanti összetételű oldószerkombináció mutatkozott: 40 tf. rész víz-telített benzol + 40 tf. rész petroléter + 20 tf. rész 96%-os alkohol.

A papírosíkokat a kivonatok felvitele után egy óráig a kromatografálás hőmérsékletén (17–18 C°) vízgőzzel kondicionáltuk, majd a szerves oldószerkeverék gőzeivel telítettük és felszálló kromatográfiának vetettük alá. A kromatogramok előhívásánál a Loo és munkatársai által [6] leírt technikához igazodtunk. Így a felvitt anyag foltjának megfelelő szélességben keskeny csíkokra vágott papírszeleteket az *Actinomyces griseus M-15* tesztorganizmummal fertőzött bouillon-pepton-glukóz-agar felületére vittük és termosztátban 28 C°-on 24 óra hosszáig inkubáltuk. E tesztorganizmum nagy érzékenysége és gyors fejlődése már 20 órás inkubációs idő után lehetővé teszi az igen csekély mennyiségben is jelen levő gátló komponensek elhelyezkedésének megállapítását. Eredményeink szerint a talajok vizes kivonataiban minden esetben egy, mégpedig az „Anti-Actinomyces-faktor” 0,73 R_F értékű „A”-komponensét, az alkoholos talajkivonatokban pedig az „A” mellett a 0,62 R_F értékű „B”-komponenst is sikerült kimutatni, mind a magános mind a *Mycobacterium*-mal vegyes sugárgomba tenyésztetek esetében. Ezt igazolják az 1. táblázat adatai, amelyen összehasonlításként még glukóz-ammoniumfoszfát szintetikus folyékony tápközegen fermentált *Actinomyces M 17* 6-ik napról vett kultúrfolyadékában észlelt gátló frakciók R_F-értékeit is megadtuk. Meg kell még jegyeznünk, hogy az egyes tenyésztetek kivonataiban e komponensek egymáshoz viszonyított — és a gátlózonák terjedelmében kifejezésre jutó — aránya („A” > „B”) is azonosnak mutatkozott.

Az esetek egy részében a vegyes kultúrákban az *Actinomyces M-17* magasabb antibiotikum termelését észleltük, de a kísérleti párhuzamok adatai ezt nem erősítették meg. Néhány alkalommal a petricsészékben elhelyezett talajokból is készítettünk kivonatokat, de ezek hatásosságában eltérést nem tapasztaltunk.

E szerint a vegyes tenyésztetekben is az „Anti-Actinomyces-faktor” kétségtelen jelenlétével és hatásával lehet számolnunk, amely tény még megerősítenek a kivonatok termostabilitására és hatóspektrumára irányuló vizsgálataink is.

Az *Actinomyces M-17* sugárgomba antibiotikum termelése — kimutatható mértékben — sem mennyiségi, sem minőségi vonalon nem változott.

A *Mycobacterium mucosum*-nak vízzel, ill. alkohollal extrahálható *Actinomyces* ellenes anyagesere termékét sem a magános, sem a kevert kultúrákból kimutatni nem lehetett. Maga a *M. mucosum* a tizedik napon nyert vizes talajkivonatokkal szemben határozott — bár az *Act. griseus M-15*-el összehasonlítva jóval csekélyebb mérvű — érzékenységet tanúsított. Így a 2% agarat tartalmazó bouillon-pepton-glukóz lemezen a 0,2 ml talajkivonat hatására (lyukteszt-módszer) egy 2-3 mm-es gátló és ezt követően egy 4-6 mm-es serkentési zónával reagált. E két tesztszervezet szenzibilitásában megnyilvánuló — és az agardiffúziós módszer segítségével mérhető — eltérések, jellemzően standard érzékenységükre, a velük kapcsolatban korábban közölt adatokkal megegyeznek [8]. Ha a fentiekből az eredeti talajkörülményekre szándékozunk visszakövetkeztetni, úgy feltétlenül számításba kell vennünk, hogy a 80 g kiindulási talajban jelenlevő kb. 24 g talajnedvességet az extrakció alkalmával 104 g-ra vagyis 4,3×-ára hígítottuk. Mindezek figyelembe vételével a hatóanyag 240 E/ml talajnedvesség töménységével kell számolnunk, amennyiben alapul 10E/ml koncentrációjának vettük a gátlóanyag nyers preparátumából készített azon hígítást, mely a bouillon-pepton-glukóz-agarban terített *Act. gr. M-15*-re még 3 mm-es gátlást gyakorolt (lyukteszt-módszer). A *M. mucosum* érzékenysége a fenti tápközegben 40 E/ml hatóanyag je-

1. táblázat

Az *Actinomyces M-17* fermentfolyadékából továbbá magános és a *Mycobacterium mucosum*-mal kevert talajtenyészeiből kimutatott gátló hatású frakciók RF-értékei

		RF-érték	
		A komponens	B komponens
Szintetikus tápközeg		0,73	0,64
<i>Act. M-17</i> magános talajtenyészet	alkoholos kivonat	0,73	0,62
	vizes kivonat	0,72	—
<i>Act. M-17</i> és <i>Myc. mucosum</i> vegyes talajtenyészet	alkoholos kivonat	0,73	0,63
	vizes kivonat	0,73	—

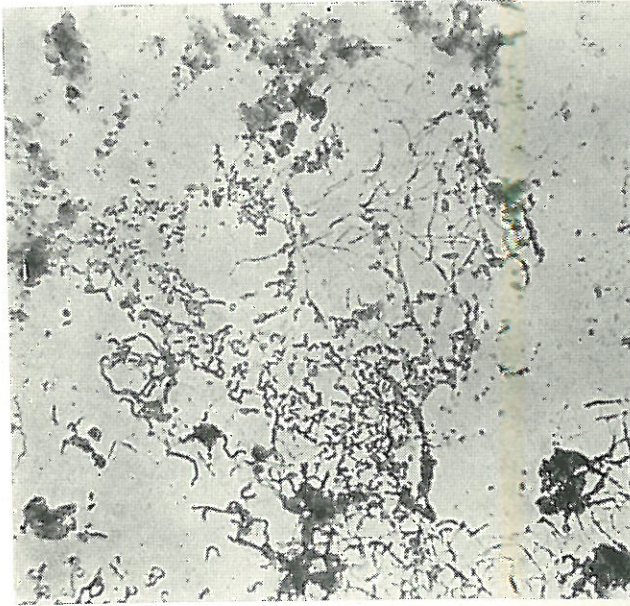


4. ábra

Mycobacterium-októl mentes *Actinomyces M 17* góc (baloldalon) és a *Mycobacterium mucosum* tömör települése (jobb oldalon). Felvétel Cholodny lemezeről (kb. 800 szoros nagyítás).

lenlétében észlelhető, míg alacsonyabb koncentráció csak stimulációt idéz elő. A talajnedvesség hatóanyag koncentrációja tehát meghaladta azt a fokot, melyet a *M. mucosum* mesterséges táptalajon elvisel. Természetesen ebből még megszenenő következtetést levonni nem lehet, mivel egyrészt a mikroszervezetek ellenállóképessége rendkívül függ annak a közegnek tápanyagtartalmától, melyben növekednek (és amely a talajban esetleg mm-enként is változhat), másrészt pedig még az általunk beállított kísérleti körülmények között sem beszélhetünk a talajvíz egy bizonyos szintet képviselő gátlóanyag koncentrációjáról. Az irodalomban található elképzelések szerint az antagonista mikroszervezetek a talajban maguk körül hatékony antibiotikus „mezőket” („koncentrációs mozaikok”) létesíthetnek.

Ezen előzetes vizsgálatok, ha többre nem is, de arra mindenesetre feljogosítanak, hogy a kísérleti talajainkban az *Actinomyces M-17* és a *M. mucosum*



5. ábra

Két sugárgomba kolónia (alul és felül) között elhelyezkedő *Mycobacterium* góc. Ez utóbbinak legnagyobb a populációs sűrűsége a két antagonista góc közötti talajkörletben. Felvétel Cholodny lemezről (kb. 700-szoros nagyítás).

megoszlásviszonyainál mutatkozó jelenségeket a valóban antibiotikus kölcsönhatások szemszögéből is megítélhessük. Ezek után lássuk a fejlődés viszonyokat.

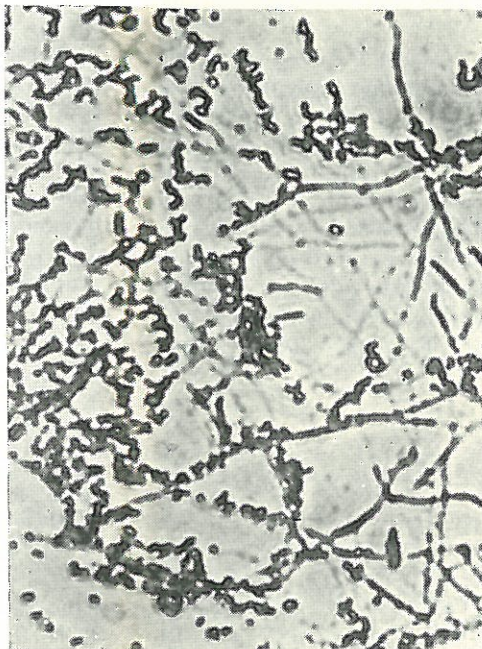
Az *Actinomyces M-17* monokultúrában gyors fejlődésnek indult és a beoltástól számított néhány nap eltelte után piszkosszürke bevonattal borította a talaj felszínét. Lényegében ezt a többékevésbé egyenletes eloszlást tükrözték vissza a Cholodny lemezekén látottak is. A megoszlás-viszonyok szórt, bár sok ismeretlen faktor által befolyásolt képét mutatják a *Mycobacterium* monokultúráiról készült Cholodny lemezek is, melyeket a sejt-szuspenzióval permetezett talajok felületére — szoros kontaktussal helyeztünk el. Lényegesen megváltozott ez a kép a kevert tenyészetek esetében. A kolóniák elhelyezkedéséről és általában a vegyes kultúrákat szemléltető Cholodny lemezekről alkotott összbenyomás a hasonló módszerek révén a természetes talajok esetében észlelhető mikroba településekre emlékeztet. A mellékelt 4. ábra karakterisztikusan tükrözi vissza az ellenlábas szervezetek gócszerű tömörülését. A baloldalon látható, dús micélium szövedékből alkotott sugárgomba településben *Mycobacterium*-ok nem találhatók. Ettől bizonyos távolságra (jobb oldalon) tömör *Mycobacterium* góc vehető észre. A Cholodny lemezek gondos áttanulmányozása után először is megállapítható volt, hogy az *Actinomyces M-17* gazdagon összeszövődött micéliuma között a *M. mucosum* nem növekedett.

Másodszor azt tapasztaltuk, hogy a sugárgomba gócok közelében (0—150 μ) a *Mycobacterium*-ok csupán sűrűn tömörült populációkban fejlődtek. Ez utóbbi szervezetek szórványos növekedése a sugárgombák körletétől nagyobb távolságban (150 μ -on túl) volt csak észlelhető.

Az itt mondottakat kitűnően érzékelteti az 5. ábra. Ezen alól és felől egy-egy aktinomiceta góc látható, közöttük *Mycobacterium*-ok növekednek, melyek legnagyobb egyedsűrűsége azon a ponton látható, ahol az antagonista két települése a legközelebb került egymáshoz. A *Mycobacterium mucosum* sejtjei alkotta góc hosszan elhúzódik és a sugárgombáktól legtávolabb már szórt településbe megy át. Ugyanezen a felvételen még egy érdekes jelenség figyelhető meg. A sugárgombák ritkán ill. szórtan álló micélium fonalait a *Mycobacterium*-ok határozottan követik s helyenként rajtuk felszaporodnak. Erősebb nagyítással ezt szemlélteti a 6. ábra.

A Cholodny-lemezeken észlelteket — bár kellő óvatossággal — az előre bocsátottak alapján magyarázhatjuk. A *Mycobacterium*-ok növekedésének hiánya a tömör *Actinomyces* településekben a lokálisan kialakult magas antibiotikus koncentrációval magyarázható. Ugyanez vonatkozik a „veszélyes” közelben kimutatható nagy *Mycobacterium* tömörülésekre is. E jelenséggel kapcsolatban kell megemlékeznünk Frahm és Lembke (id. : 7) megállapításairól, akik szerint a sűrű mikroba populációkban az egyedek ellenálló (vagy inkább „tűrő”) képessége növekedik és a generáció tartam meghosszabbodik. A ritkán álló *Actinomyces M-17* micélium fonalak közelében az antibiotikus anyag serkentően ható koncentrációját kell feltételeznünk. Ez okozhatja a *Mycobacterium*-ra a közvetlen közelben gyakorolt stimulációt. Wallhäuser [10] megjegyzése, miszerint a talajban az antibiotikumoknak inkább serkentő koncentrációjával kell számolnunk, mint gátló hatásával, mivel a talajrészecskék által izolált micéliumfonalak és települések antibiotikum termelésének hatásos akkumulációja kevésbé valószínű, vizsgálataink szerint nem teljesen helytálló. A talajban az antibiotikumok hatásánál mindenféle fokozatot — a serkentéstől a gátlásig — feltételezhetünk.

A közölt Cholodny-lemez felvételek a tenyésztés tizedik napjáról származnak, amikor tehát az *Actinomyces M-17* antibiotikum produktójának maximumát már elérte. Azon hatásokra vonatkozóan, melyek a kevert tenyészetekben a sugárgombák ugyancsak fokozottabb gócszerű tömörülését idézték elő, mit sem tudunk. Pusztán védelmi berendezkedésnek a mikroba települések ezen formáit nem tekintetjük. Fennáll azonban a lehetősége annak, hogy a talaj körülményei között maga



6. ábra

A *Mycobacterium*-sejtek követik a ritkán álló *Actinomyces* fonalakat. Felvétel Cholodny lemezről (kb. 1200-szoros nagyítás)

a *Mycobacterium mucosum* is termelt olyan kedvezőtlen hatású anyagcsere termékeket, melyek befolyást gyakoroltak az *Act. M-17* növekedésére és amelyeket kimutatni nem sikerült. Ez a kérdés még felderítésre vár.

Összefoglalás

Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy az *Actinomyces M-17* sugárgomba gazdagítatlan, közömbös steril, barna erdő-talajban a *Mycobacterium mucosum*-mal együtt növekedve antibiotikum termelésében gátlást nem szenvedett, és ugyanazokat az antibiotikus hatóanyagokat („Anti-Act.-fakt.” „A” és „B” komponens) termelte, mint tiszta tenyészetekben. Az ezen anyagokkal szemben érzékeny *Mycobacterium* a következő módon viselkedett: 1. Sűrű növéssű *Actinomyces* településekben egyáltalán nem növekedett. 2. A sugárgombák közvetlen közelében tömör népséggű góccokat alkotott. 3. A szórványosan álló aktinomiceta fonalakon növekedve fejlődés stimulációt tanúsított. 4. A sugárgombáktól távolabb eső talajkörletekben szórványosan is növekedett.

Érkezett : 1955. július 23.

Irodalom

- [1] Cramer, F. : Papierchromatographie. Verl. Chemie. Weinheim, 1953.
- [2] Goodall, R. & Levi, A. A. : Nature. **158**, 675, 1946.
- [3] Kraszilnyikov, N. A. : Izv. A. N. Sz. Sz. R. Szer. Biol. **1**. 193. 1936.
- [4] Kraszilnyikov, N. A. : Uszpehi. Szovr. biol. **21**. 346. 1951.
- [5] Marton, M., Szabó, I. & Oroszlán, I. : Biol. Közlem. Megjelenés alatt.
- [6] Peterson, D. H. & Reinke, L. M. : J. Amer. Chem. Soc. **72**. 3598. 1950.
- [7] Szabó, I. : Agrokémia és Talajtan. **2**. 439. 1953.
- [8] Szabó, I. & Marton, M. : Agrokémia és Talajtan. **4**. 234. 1955.
- [9] Sekera, F. : Z. PflErnähr. Düng. **52**. 57. 1951.
- [10] Wallhäuser, K. H. : Arch. Mikrobiol. **16**. 237. 1951.

О ПРИЧИНАХ ОЧАГОВОГО РАЗМЕЩЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ ПОЧВЫ

И. Сабо, И. Орослан и М. Мартон

Лаборатория почвенной микробиологии Академии Наук Венгрии в г. Шопрон (Венгрия)

Резюме

Изученный нами лучистый грибок *Actinomyces M 17* способен к созданию антибиотических веществ в небогатой, стерильной лесной почве. Кривые 1 и 2 рисунка № 1 показывают условия развития и производство действующего вещества в этой почве. Видно, что на 10. день доходят до максимума и развитие (1), и тормозящее влияние вытяжек почвы (2), которое было изучено путем сравнения с тест-микроорганизмом *Act. griseus M 15*, чувствительность которого является стандартной. В это время тормозящее влияние вытяжек почвы выявляется методом «дырочного теста» у тест-микроорганизма *Mycobacterium mucosum* на питательной среде бульонпептон-глюкоз-агара. *Actinomyces M17* при совместном культивировании с *M. mucosum* производит те же антибиотические вещества, как в монокультуре, что было определено нами при помощи хроматографического распределения на бумаге у водных и спиртовых вытяжек почвы (таблица 1.). Поведение *Mycobacterium* на эти антибиотические вещества, в отношении которых он очень чувствителен изучали в смешанной почвенной культуре при помощи пластинок Cholodny.

Согласно результатам, в густых колонниях *Actinomyces M 17* совсем не рос *Mycobacterium*. В непосредственной близости к лучистым грибам *M. mucosum* создал густо населенные очаги. Клетки *Mycobacterium* определено росли по отдельным гифам *Actinomiceta* и, развиваясь на них, обнаружили стимуляцию. В более отделённых от лучистых грибов пунктах почвы, клетки *Mycobacterium* росли местами.

Эти условия показаны на рисунках 4-6.

Согласно нашим выводам, такое поведение *M. mucosum* в отношении условий коллоидной имеет параллель с антибиотическими действиями, имеющими место в почве. В почвенных условиях надо считаться с различными концентрациями антибиотиков, от торможения до стимуляции. С другой стороны, при очаговом расположении микроорганизмов большое значение имеет, кроме многих других факторов, защита против вредных веществ.

The Disposition of Soil Microbes to Settle in Foci

I. SZABÓ, I. OROSZLÁN and M. MARTON

Research Laboratory of Soil Biology of the Hungarian Academy of Sciences, Sopron

Summary

The ray fungus *Actinomyces M-17* has been found to be capable of producing antibiotic substances in sterile forest soils not enriched. Graphs 1 and 2 in Fig. 1 show its conditions of development in these soils and its production of the active principle. It can be seen that both the development (1) and the inhibitory action of the soil extracts (2), tested against *Act. griseus M-15* of standard sensitivity, attain their peak on the tenth day. By that time it is also possible to determine the inhibiting effect of the extracts against *Mycobacterium mucosum* plated on bouillon-peptone-glucose agar, using the hole test method. By means of paperchromatographic analyses of aqueous and alcoholic soil extracts it has been established that with *M. mucosum*, *Actinomyces M-17* produces the same antibiotics in mixed soil cultures as in monocultures (cf. Table 1). The behaviour of *Mycobacterium* sensitive to these antibiotics has been studied in mixed soil cultures with the aid of Cholodny plates.

It has been found that on *Actinomyces M-17* colonies of dense growth, *Mycobacterium* grew not at all whereas in the immediate vicinity of the ray fungi *M. mucosum* thrived in densely populated foci. Solitary *Actinomyces* filaments were observed to be definitely followed by *Mycobacterium* cells and, growing on them, to stimulate development. Scattered *Mycobacterium* cells were also encountered growing in the soil areas more remote from the ray fungi. These conditions are illustrated in Figs. 4 to 6.

On the evidence of our findings, this behaviour of *M. mucosum* in regard to the conditions of settlement may be paralleled with the antibiotic actions exerting themselves in the soil. In dependence on the soil conditions, all kinds of concentrations of the antibiotics, from inhibition to stimulation, must always be included in our considerations.

Die Ursachen einer herdartigen Koloniebildung der Bodenmikroben

I. SZABÓ, I. OROSZLÁN und M. MARTON

Bodenbiologisches Forschungslaboratorium der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, Sopron (Ungarn)

Zusammenfassung

Der unsererseits geprüfte Strahlenpilz *Actinomyces M 17* ist in unangereichertem, sterilen Waldboden zur Bildung antibiotischer Stoffe fähig. Kurve 1 und 2 der Abb. 1 zeigt Wachstumsverhältnisse und Wirkstoffbildung dieses Pilzes. Es ist hieraus ersichtlich, dass sowohl Wachstum (1), als auch Hemmwirkung der Bodenextrakte (2) — die gegenüber der Standard-Empfindlichkeit des Testorganismus *Act. griseus M 15* bestimmt wurde — am 10. Tage ihren Höhepunkt erreicht. Zu diesem Zeitpunkt konnte die Hemmwirkung der Bodenextrakte gegenüber dem Testorganismus *Mycobacterium mucosum* — in Bouillon-Pepton-Glukose-Agar Streichkultur — auch mit der Lochtestmethode erwiesen werden. *Actinomyces M 17* bildet in gemischter Bodenkultur die gleichen antibiotischen Stoffe, wie in Monokultur. Dies wurde mit Hilfe papierchromatographischer Analyse der wässrigen und alkoholischen Bodenextrakte bestimmt (Tabelle Nr. 1). Das Verhalten dieses, gegen antibiotische Stoffe empfindlichen *Mycobacterium* wurde in gemischter Erd-Kultur, unter Anwendung von Cholodny-Platten geprüft.

Laut Untersuchungsergebnissen zeigte *Mycobacterium* in den dichten Kolonien von *Actinomyces M 17* überhaupt Wachstum. In unmittelbarer Nähe der Strahlenpilze bildete *M. mucosum* dichte, herdartige Kolonien. An alleinstehende *Actinomyces*-Fäden haben sich *Mycobacterium*-Zellen deutlich angeschlossen und auf diesen wachsend eine Stimulation der Entwicklung gezeigt. Von

den Strahlenpilzen weiter entfernt war auch an verstreuten Mycobacterium-Zellen Wachstum zu verzeichnen.

Diese Verhältnisse sind in Abb. 1—3 veranschaulicht.

Laut unseren Feststellungen kann zwischen diesem Kolonisierungs-Verhalten von *M. mucosum* und den im Boden zur Geltung gelangenden antibiotischen Einflüssen eine Parallele gezogen werden. Bei Beurteilung der Bodenbedingungen ist jede mögliche Konzentration der Antibiotika — Hemmwirkung bis Stimulation — zu berücksichtigen. Ausserdem ist bei herdartigen Kolonien der Mikroorganismen — abgesehen von vielen anderen Faktoren — auch der Abwehr gegen schädliche Substanzen grössere Bedeutung beizumessen.