

## Adatok a magyarországi talajok sugárgomba-flórája antibiotikus aktivitásának ismeretéhez\*

SZABÓ ISTVÁN

*A Magyar Tudományos Akadémia Talajbiológiai Kutatólaboratóriuma, Sopron*

A mezőgazdaság és az ipar céljait szolgáló antibiotikus-mikrobatörzs kutatás feladatául tűzte ki azoknak az összefüggéseknek a felderítését, melyek a talajok fizikokémiai és biológiai állapota, továbbá az ezekből izolált mikroszervezeteknek mesterséges táptalajokon megnyilvánuló antibiotikus aktivitása között fennállanak. Ezek az összefüggések egyúttal élénk fényt derítenek a különböző talajok mikroflórájának fiziológiai heterogenitására és bizonyos mértékig betekintést nyújtanak az antibiózis természeti értelmére vonatkozóan is. Jóllehet a mesterséges tápközegeken észlelt aktivitásviszonyok semmiképpen sem azonosíthatók a természetes talajkörülmények között végbemenőkkel; mégis a fenti célkitűzés és a kapott adatok talajbiológiai értékelhetőségének jogosultságához nem férhet kétség, mivel: 1. a gyakorlat egyenesen a fentebb hangsúlyozott összefüggésben követeli a megoldást, 2. a nemzetközi szakirodalomban nem talált hitelre az a megállapítás, miszerint a természetes viszonyok csupán részleges ismeretének birtokában a mesterséges táptalajokon észlelt eredményekből semmiféle következtetésre ne lenne jogunk. (Nem gondolok itt a tápközegeken észlelt baktériumszám és a talaj termőképessége között vélt összefüggésre, melynek valóban kevés a reális alapja).

Alanti vizsgálatainkat elsősorban az antibiotikum-kutatás szempontjából legnagyobb távlatot nyújtó antagonistá sugárgombák elterjedésviszonyainak megállapítására indítottuk.

E vizsgálatokat még 1937-ben N a k h i m o v s z k a j a indította el [38]. A rendszeres kutatások különösen az 1950-es években indultak meg és napjainkban a Föld talajainak tervszerű feldolgozása folyik [52]. Az eddigi eredményeket röviden az alantiekben foglalhatjuk össze:

1. Általánosságban az antibiotikumot termelő mikroszervezetek, s közöttük speciálisan az antagonistá sugárgombák gazdag előfordulása vált ismeretessé a Föld valamennyi földrajzi övezetére és területére vonatkozóan [1, 5, 6, 7, 8, 13, 14, 16, 17, 22, 23, 26, 28, 29, 39, 30, 35, 36, 41, 46, 47, 55].

2. Bár kevés adatunk van az egyes speciális mikroba csoportok antagonistáinak földrajzi, regionális eloszlásával kapcsolatban, de ha ilyen téren számolnunk is kell bizonyos törvényszerűségekkkel, úgy látszik, a sugárgombák esetében a kis térségekben is variáló, helyi ökológiai faktorok szerepét nagyobb jelentőségűnek kell tekintenünk [28, 50 stb.].

3. Jóllehet az antibiotikus törzsek kimutatásánál alkalmazott módszerek tetemesen befolyásolhatják a kapott eredményeket, mégis az adatok egybevetésénél megállapítható volt, hogy a különböző aktivitású antagonisták (baktériumok, penészek, sugárgombák stb.) előfordulása és gyakorisága a különböző talajfélésekben jelentősen eltérő [7, 19, 22, 28, 30, 38, 46, 50 stb.]. Az antagonisták ezen heterogén megoszlása úgy látszik bizonyos mértékig párhuzamot mutat a talajok jellegével, illetve a kérdéses mikroszervezetek speciális ökológiai igényeivel. Így pl. a sugárgombák esetében egyes szerzők szerint [17, 19, 28, 50

\* Munkámat † Fehér Dániel akadémikus támogatásával végeztem.



stb.] a kedvező dinamikájú szántóföldi talajok, aktív csernozjomok stb. antibiotikus törzseket nagyobb valószínűséggel rejtenek magukban. A kutatók egy csoportja ezt a tényt a gazdag mikroba populációkban kialakuló antibiotikus mutánsok nagyobb valószínűségével magyarázza [45] célozván itt e tulajdonság létrejötténél szerepet játszó öröklődési mechanizmus jellegére. Mások [28, 50 stb.] — inkább a kérdés ökológiai oldalát megvilágítva — a növekvő mikrobiális tevékenység által előidézett fokozottabb konkurrencia viszonyok induktív szerepét hangsúlyozzák az antibiotikus hatóképeség kialakulásánál. Mindazonáltal az irodalomban számos ellentmondó adat vált ismeretessé és így ma még minden esetre érvényes törvényszerűséget egyetlen mikrobacsoport antibiotikus törzseinek elterjedésére vonatkozóan sem sikerült megállapítani [52].

A legutóbbi idők vizsgálatai arra engednek következtetni, hogy az antibiotikus törzsek megoszlásának törvényszerűségeit nem csupán a talajok fizikokémiai viszonyainak tanulmányozásával, hanem elsősorban a mikroorganizetek között uralkodó szimbiotikus és antibiotikus hatások felderítésével tudjuk majd megközelíteni. Alanti munkánkban ezen gondolatkörhöz kapcsolódunk.

### Vizsgálati módszerek

*A sugárgomba törzsek izolálása és szelekciója* : A talajmintákat steril vezetői vízben rázattuk, a kapott szuszpenzióból hígítási sorozatot készítettünk és az egyes fokozatokból 0,2–0,3 ml-t petricsészében megmerevedett Jensen-féle kazein-glükóz-tápagarlemezt felületén terítettünk. Inkubálás termosztátban 28 C° mellett 5–10 napig. Az izoláláshoz alkalmas kolóniákat, tekintet nélkül azoknak morfológiai habitusára — tehát nem szelektív alapon — glükóz-aszparagin ferde agarra vittük át. Ezután a törzseket glükóz-aszparagin-agaron széleszttéssel tisztítottuk, majd a talaj betű-jelzésével és római sorszámokkal láttuk el. E tenyészeteket kulturális tulajdonságaik alapján elsődleges, majd antibiotikus képességük szerint másodlagos szelekciónak vetettük alá. A törzsek kulturális magatartását az alant megadott összetételű és a sugárgombák differenciálására használatos kilenc tápközegen tanulmányoztuk :

1. *Glükóz-aszparagin-agar* : Glükóz : 10,0 g, aszparagin : 0,5 g,  $K_2HPO_4$  : 0,5 g, agar : 15,0 g, deszt. víz : 1000 ml, pH : 6,8.

2. *Czapek-agar* :  $NaNO_3$  : 2,0 g,  $K_2HPO_4$  : 1,0 g,  $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$  : 0,5 g, KCl : 0,5 g,  $FeSO_4$  : 0,01 g, szaharóz : 30,0 g, agar : 15,0 g, deszt. víz : 1000 ml, pH : 6,6.

3. *Pepton-glicerin-agar* : Pepton : 10,0 g, húskivonat : 5,0 g, NaCl : 5,0 g, glicerin : 15,0 g, agar : 18,0 g, deszt. víz : 1000 ml, pH : 7,0–7,2.

4. *Nátriumnitrát-glicerin-agar* :  $K_2HPO_4$  : 1,0 g,  $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$  : 0,5 g, KCl : 0,5 g,  $FeSO_4$  : 0,01 g,  $NaNO_3$  : 2,0 g, glicerin : 30,0 g, agar : 15,0 g, deszt. víz : 1000 ml, pH : 6,8.

5. Burgonya-blokk.

6. *Káliumnitrát-keményítő-agar* : oldható keményítő : 10,0 g,  $KNO_3$  : 10,0 g, NaCl : 1,0 g,  $K_2HPO_4$  : 1,0 g,  $FeSO_4$  : 0,01 g,  $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$  : 0,1 g,  $CaCO_3$  nyomokban, agar : 15,0 g, deszt. víz : 1000 ml.

7. *Talajkivonat-agar* : Pepton : 5,0 g, húskivonat : 3,0 g, agar : 15,0 g, talajkivonat : 1000 ml, pH : 7,0.

8. *Kazein-glükóz-agar* : Glükóz : 2,0 g, kazein : 0,2 g, oldva 10 ml 0,1 n NaOH-ban,  $K_2HPO_4$  : 0,5 g,  $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$  : 0,2 g,  $FeCl_3 \cdot 6 H_2O$  : nyomokban, agar : 15,0 g, deszt. víz : 1000 ml, pH : 6,5.

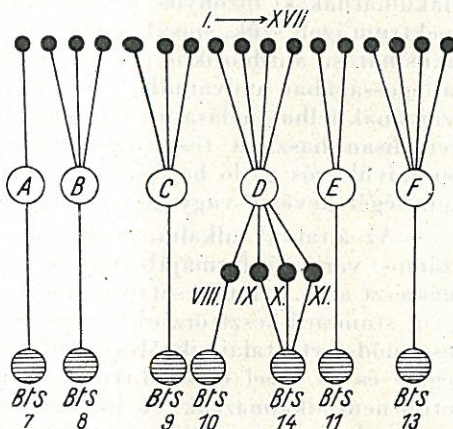
9. *Sárgarépakivonat-agar* ;  $K_2HPO_4$  : 1,0 g, glükóz : 5,0 g, pepton : 5,0 g, agar : 20,0 g, sárgarépakivonat : 1000 ml, 0,3% vízmentes  $Na_2CO_3$ -al neutralizálva.



A tenyészeteket e tápközegeken 2—3 hétig inkubáltuk és fejlődésüket rendszeresen figyeltük. Az egyes törzsek kulturális tulajdonságainak leírásánál a Lindenein által [31] felállított terminológiához alkalmazkodtunk. Párhuzamosan a törzsek mikromorfológiáját és fejlődésviszonyait vizsgáltuk nedves kamrában, mikrotenyészetekben glükóz-aszparagin, nátriumnitrát-glicerin, ill. káliumnitrát-keményítő-agaron aszerint, hogy a kérdéses kultúra spórázása számára melyik tápközeg bizonyult a legmegfelelőbbnek (agarblokk-módszer).

A kulturális tulajdonságok alapján azonosnak mutatkozó tenyészeteket csoportosítottuk és megkülönböztető jelzéssel (nagybetűkkel) láttuk el. Egyidejűleg az egyes csoportokhoz tartozó kultúrák antibiotikus aktivitásában megnyilvánuló differenciákat vizsgáltuk (lásd alant). A gátlóképesség (hatóspektrum) és érzékenység alapján a tenyészetek újabb csoportosítását eszközöltük. Ezen alcsoportok típusos képviselőit termőtalajuk jelzésével és arab számokkal láttuk el.

A fentiek bemutatására eljárásunkat példán szemléltetjük (1. ábra). Szántóföldi talajból (később 22 sorszám) tizenhét sugárgomba törzset (I—XVII) izoláltunk. Kulturális sajátosságok szempontjából e tenyészetek hat csoportot (A—F) képeztek. E hat csoport keretébe tartozó törzsek antibiotikus hatásosságukra és érzékenységükre nézve egy esetben a D-csoport esetében további két alcsoportot alkottak, míg a többi csoportban egységesen viselkedtek. A D-csoportban a IX, X és XI törzsek sokszorosán aktívabbnak bizonyultak a VIII sz. törzsnél és szenzibilitásában is eltérések mutatkoztak. Ezek szerint a hat kulturális csoport hét antibiotikus törzstípust (1. ábra Bts 7—11 és 13—14) foglalt magába. A továbbiak folyamán minden vizsgált talajmikroflóra adatai az ilyen antibiotikus törzstípusokra vonatkoznak. E dolgozatban szereplő talajok sugárgombatörzseit és a leírásukra vonatkozó jegyzőkönyveket a Talajbiológiai Kutatólaboratórium gyűjteményében helyeztük el.



1. ábra  
Homokos barna erdőtalajból (Sopron, 22. sorszám) izolált 17 sugárgombatörzs (I—XVII) szelekciója hat kulturális csoportba és ezek elosztása hét antibiotikus törzstípusra

Megjegyezzük, hogy az izolált tenyészetek más-más biokémiai tulajdonságait vizsgálva az egyes kulturális csoportok tagozódása más-más képet nyújtana. Ilyen irányú vizsgálatainkról a jövőben kívánunk beszámolni. Egyes esetekben a szelekció során szükségesnek mutatkozó meghatározásokat Kraszilnyikov munkája alapján [27] végeztük el.

**A baktérium-törzsek izolálása és szelekciója :** A baktérium-törzsek izolálását talajkivonat-bouillon-pepton-glükóz-agaron [50] végeztük. A talajsuszpenziók hígításait ugyancsak a tápagar felületén terítettük. Izolálás hasonló összetételű ferde agarra, majd az egyes tenyészetek ismételt terítése és újraizolálása (vizsgálat homogenitására). Az így nyert törzseken egyszerű szelekciót hajtottunk végre. Valamennyinek megvizsgáltuk antibiotikus ható- és érzékenységi-spektrumát, és a tenyészetek azon csoportjából, melyeknél e kettős karakterisztika, továbbá a mikroszkópos fejlődésviszonyok és a kulturális sajátosságok azonosoknak mutatkoztak, csupán egy kultúrát tenyésztettünk tovább. A szelekció ezen leegyszerű-



sített formájának alkalmazását azzal indokolhatjuk, hogy a baktérium-törzsekre elsősorban is mint a sugárgombák teszt törzseire volt csupán szükség.

*Az izolált törzsek antibiotikus magatartásának vizsgálata:* A törzsek antibiotikus aktivitásának megállapításánál azt az irányelvet követtük, hogy hatásukat nem csupán standard érzékenységgű, univerzálisan használt tesztorganizmusokra, hanem olyan szervezetekkel szemben is megvizsgáljuk, melyeket a kérdéses mikroba eredeti termőtalajának életközösségéből tenyésztettünk ki.

Vizsgálataink ezen formáját bizonyos megfontolások indokolják. Egyes irodalmi adatok szerint [24, 37, 43, 49] antibiotikus tulajdonságok irányítottan alakulhatnak ki bizonyos konkurens szervezetekkel szemben és ilyenkor a hatóspektrum igen szűk, specifikus lehet. A talajok körülményei között létrejött specifikus hatású antibiotikus gátlóképesség utólag mesterséges táptalajokon is a magafajlagosságában nyilvánulhat meg [58]. Másrészt a tesztorganizmusok menél nagyobb számának felhasználása már önmagában véve is fontos követelmény, mivel az univerzálisan használt tesztorganizmusok egész sorával szemben inaktív mikroba rendkívül erős gátló hatású lehet olyan talajmikrobákkal szemben, melyek érzékenységét kevéssé vagy egyáltalán nem tanulmányozták még.

Az általunk alkalmazott eljárások egyrészt a nemzetközi szakirodalomban számos variáció formájában ismeretes vitális pontteszt módszer [28, 50, 62 stb], másrészt az ú. n. lyukteszt módszer. Ez utóbbit — az első módszerrel párhuzamosan — a standard teszt törzsek érzékenységeinek vizsgálatánál használtuk. A lyukteszt módszert a talajmikrobák többzetes „szembeállításánál” a törzsek nagy mennyiségére és az ezzel kapcsolatos nagyméretű fermentáció nehézségeire való tekintettel nem alkalmaztuk. A két módszer összehasonlításánál arra a megállapításra jutottunk, hogy a vitális pontteszt módszer viszonylagos egyszerűsége ellenére sem ad rosszabb eredményeket, mint a törzsek fermentálását igénylő lyukteszt módszer (lásd 9. táblázat). A folyékony kultúrákban az antibiotikum produkció igen sok esetben visszaszorul.

Eljárásunk a pontteszt módszer esetében: A baktérium tenyészeteket bouillon-pepton-glükóz-agaron (pH 6,8—7,0) 30—35 óráig, a sugárgombákat ugyanezen tápközegen 4—6 napig előtenyésztettük. A sugárgombák e táptalajon levegőmicéliumot és spórahordozókat általában nem fejlesztettek, ezért tesztként való felhasználásuknál glükóz-aszparagin-agaron előtenyésztett kultúrák spóraszuszpenzióját alkalmaztuk (spórázás hiányában steril kvarchomokkal rázatva előállított micéliumszuszpenzióval dolgoztunk). Ezután a tesztnek szánt szervezetet lemez alakjában terítettük és a kérdéses antagonistát — K r a s z i l n y i k o v e témakörben alkalmazott módszere [28] szerint eljárva — részben agarral, részben anélkül kivágott micélium-korong, másrészt baktériumtömeg alakjában vittük a megmerevedett lemez felületére. A gátlásviszonyokat 28 C° mellett törént inkubáció után elsőnek 20 óra elteltevel olvastuk le. Néhány sugárgomba és baktériumteszt esetében, melyek lassabban fejlődtek, a lemezeket ezután óránként elenőriztük és az elsődlegesen jelentkezett gátlásviszonyokat jegyeztük fel. Egy — két kivételtől eltekintve a gátlásadatok 30—35 óráig leolvashatók voltak. Valamennyi „szembeállításnál” a már többször említett bouillon-pepton-glükóz-agart használtuk. Ennek összetétele: Bouillon: 250 ml, deszt. víz: 250 ml, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 1,0 g, MgSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O: 0,2 g, NaCl: 0,1 g, FeSO<sub>4</sub>: nyomokban, glükóz: 5,0 g, pepton: 5,0 g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 2,5 g, agar: 10,0 g. E tápközeg anorganikus N-forrást is tartalmaz, rajta baktériumok és sugárgombák egyaránt igen intenzíven fejlődnek, s különösen előnyös az aktinomiceták gyors növekedése számára. Másrészt az antibiotikum termelés szempontjából is igen kedvező tápforrásnak bizonyult.



A sugárgomba-törzsek antibiotikus aktivitását hat tesztorganizmussal szemben (*E. coli*, *B. subtilis*, *Mycobacterium mucosum* M-34, *Penicillium granulatum*, *Actinomyces griseus* M-15, *Actinomyces sp.* ALB-6) a lyukteszt módszerrel is vizsgáltuk. A törzseket bouillon-pepton-glükóz folyékony tápközegben, rázatott kultúrákban tenyésztettük 28 C°-on. A kultúrfolyadékok antibiotikus aktivitását két naponként — a fermentáció előrehaladásával — ellenőriztük a lyukteszt módszerrel a bouillon-pepton-glükóz-agarban terített tesztekkel szemben.

A törzsek szelekciójához alapul szolgáló antibiotikus ható és érzékenységi-spektrum megállapításánál az azonos talajból származó törzsek kölcsönhatásait

1. táblázat

Antibiotikus kölcsönhatások szántóföldi művelés alatt álló vályogos barna erdőtalajból (Sopron, 19 sorszám) izolált hat baktérium (Cr 1-6) és hat sugárgomba (Cr 7-12) törzstípus között bouillon-pepton-glükóz-agaron

	Cr <sub>1</sub>	Cr <sub>2</sub>	Cr <sub>3</sub>	Cr <sub>4</sub>	Cr <sub>5</sub>	Cr <sub>6</sub>	Cr <sub>7</sub>	Cr <sub>8</sub>	Cr <sub>9</sub>	Cr <sub>10</sub>	Cr <sub>11</sub>	Cr <sub>12</sub>
Cr <sub>1</sub>	0	2	4	0	0	0	6	0	0	0	3	0
Cr <sub>2</sub>	g	0	0	0	0	0	5	0	0	0	3	0
Cr <sub>3</sub>	0	0	0	g	0	0	4	0	2	2	2	3
Cr <sub>4</sub>	0	4	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
Cr <sub>5</sub>	4	3	0	0	0	0	5	0	0	0	3	0
Cr <sub>6</sub>	3	4	2	0	0	0	2	g	2	0	3	3
Cr <sub>7</sub>	0	0	0	0	0	0	0	2	0	3	3	0
Cr <sub>8</sub>	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2
Cr <sub>9</sub>	0	0	2	0	0	0	0	4	0	0	3	0
Cr <sub>10</sub>	0	0	g	0	0	0	0	5	0	0	5	0
Cr <sub>11</sub>	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
Cr <sub>12</sub>	0	0	0	0	0	0	0	5	2	2	4	0

vizsgáltuk. Ez a megoldás lehetővé tette, hogy a természetes viszonyok között kialakuló különböző aktivitású és érzékenységű (rezisztenciafokú) fajok, törzsek, származékok stb. szinte áttekinthetetlen káoszáról — ha rendkívül durván is — de mégiscsak képet alkothassunk. Munkánk menetének érzékeltetésére a már fentebb említett szántóföldi talaj példáját hozzuk fel. E talajból 12 baktérium és 17 sugárgomba törzset tenyésztettünk ki. A pontteszt módszerrel valamennyi törzs hatását megvizsgáltuk, valamennyi törzsrre, sőt az egyes törzseket önmagukkal szemben is. Ennek megfelelően 29×29, azaz 841 szembeállítást eszközöltünk. A kapott adatok és egyéb, már tárgyalt szempontok alapján összesen hat baktérium és 7 sugárgomba törzstípust különítettünk el. A munkánkhoz mellékeltem 1, 5, 6, 7 és 8. táblázatokat — melyek néhány jellegzetes mikroflóra gátlás viszonyait szemléltetik — csupán az antibiotikus törzstípusok kölcsönhatásának adatait mutatjuk be. A táblázatokon a négyzetek középpontjába írt számok a gátló-



2.

## Talajvizsgálati

(1)	(2)	(3)	(4)
Sor- szám	A vizsgált talaj, ill. termőhely jellemzése	Vizsgálat ideje	Víztar- talom ‰
1.	Erősen savanyú, nyers humuszt tartalmazó, kilúgzott erdőtalaj. Gyéren álló 15–20 éves <i>Quercus petraea</i> , <i>Pinus silvestris</i> és <i>Betula pendula</i> egyedek. Aljnöv.: <i>Calluna</i> és <i>Vaccinium</i> . Sopron .....	VII. 28	38,15
2.	Mint az 1. sz. 4–5 éves <i>Pinus silvestris</i> áll. Aljnöv.: <i>Calluna vulg.</i> , <i>Vaccinium myrt.</i> és <i>Deschampsia flexuosa</i> . Sopron ...	VII. 28	24,08
3.	Erősen savanyú, vályogos, kilúgzott erdőtalaj. Záródott 20–25 éves lucfenyő állomány. Aljnövényzet nélkül. Sopron....	VII. 28	6,73
4.	Mint a 3. sz. <i>Pinus silvestris</i> szel elegyített 35–40 éves <i>Pinus nigra</i> állomány. Aljnövényzet: <i>Vaccinium myrt.</i> Sopron	VIII. 1	17,93
5.	Mint a 3. és 4. sz. 4–5 éves erdei-fenyő újraerdősítés. <i>Vaccinium</i> -mal és <i>Calluna</i> -val borított terület. Sopron.....	VIII. 1	—
6.	Mint az előbbi sz. Szelídgesztenye ( <i>Castanea sativa</i> ) állomány. Sopron .....	X. 13	17,05
7.	Savanyú, kilúgzott, középkötött vályogos erdőségi talaj. Tölgyes. Sopron .....	IX. 26	10,14
8.	Erősen savanyú, vályogos erdőségi talaj. Vörösfenyő és szelídgesztenye kevert állománya. Sopron .....	VIII. 23	14,28
9.	Közömbös, kötött, barna erdőségi talaj. Égeres. Sopron .....	VII. 28	—
10.	Gyengén savanyú, vályogos, barna erdőségi talaj. Akác. Sopron.....	IX. 26	11,85
11.	Mésztelen szikes. Erdősítéssel (akác) javított. Karcag .....	IX. 14	14,16
12.	Mésztelen szikes. Erdősítéssel (nyáras) javított. Karcag .....	IX. 14	15,76
13.	Átmeneti szikes. Tölgyes telepítés. Püspökladány .....	IX. 13	12,07
14.	Meszes szikes talaj. Legelő. Püspökladány.....	IX. 13	11,44
15.	Melegágyból vett talajminta. Sopron.....	X. 16	—
16.	Melegágyból vett talajminta, Sopron .....	VIII. 5	—
17.	Meszes, vályogos kerti-talaj, Sopron .....	VIII. 5	9,88
18.	Meszes, vályogos barna erdőségi talaj, szőlőskert, Sopron ...	IX. 26	11,80
19.	Vályogos, barna erdőtalaj, szántó, Sopron .....	X. 13	14,92
20.	Meszes, vályogos, barna erdőtalaj, szántó, Sopron .....	VIII. 23	23,28
21.	Gyengén savanyú, humuszzegény, homokos barna erdőtalaj, szántó, Sopron .....	IX. 26	11,55
22.	Humuszzegény, mészszegény, homokos barna erdőtalaj, szántó, Sopron .....	IX. 26	6,15
23.	Közömbös, humuszos, homokos erdőtalaj, szántó, Gödöllő.	X. 9	12,25
24.	Gyengén meszes, erdőségi homokos vályog, szántó, Gödöllő .....	X. 9	10,55
25.	Humuszzegény, erdőségi homokos vályog, szántó, Gödöllő.	X. 9	3,95
26.	Kötetlen homokos erdőtalaj, szántó, Gödöllő .....	X. 9	3,55
27.	Humuszzegény, erdőségi homokos-szántó, Gödöllő .....	X. 9	3,25
28.	Mészszegény, homokos erdőségi vályog-talaj, szántó, Gödöllő	X. 9	13,35
29.	Kocsiút pora, Sopron .....	VIII. 11	—



## táblázat

## adatok

(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)	(16)
Összes aerob és anaerob. baktérium	Összes gomba	Összes aktino- miceta	Aktino- miceta %	Szaha- ráz akti- vitás	Hu- muz %	Összes N %	pH/ H <sub>2</sub> O	CaCO <sub>3</sub>	Kötöt- ség (Arany)	hy	Talaj színe
1 g nedves talajban, ezekben											
2 520	190	250	9,0	14,7	6,49	0,23	4,02	0,0	—	—	barnásszürke
3 140	130	280	8,2	22,0	6,59	0,24	4,18	0,0	—	—	barnásszürke
2 320	110	59	2,5	15,8	2,24	0,15	4,53	0,0	44	1,6	sárgásszürke
5 020	180	370	6,9	14,6	2,25	0,11	4,29	0,0	—	2,2	barna
28 280	190	100	0,4	14,5	3,95	0,15	4,35	0,0	—	2,4	szürke
370	180	250	40,3	5,1	1,10	0,19	5,51	0,0	40	1,9	sárga
480	40	70	12,7	2,1	1,41	0,11	4,77	0,0	38	2,3	sárga
710	35	170	19,3	4,5	1,15	0,14	5,15	0,0	34	1,4	sárga
9 250	7	1 800	16,3	10,0	3,22	0,09	7,00	0,0	54	3,4	barnásszürke
5 440	35	2 100	27,9	4,8	1,13	0,22	6,07	ny	36	1,7	barnásszürke
1 504	23	3 360	69,1	4,2	0,94	0,23	6,53	0,0	45	4,5	sötétszürke
402,5	25	1 900	82,5	7,0	1,13	0,16	6,28	0,0	44	4,9	fekete
41	3	260	86,4	5,9	0,37	—	7,94	0,0	45	—	szürke
0,6	0,8	5,1	89,5	0,0	0,56	0,11	8,28	0,8	45	5,7	sötétszürke
21 800	350	3 600	14,2	7,5	5,87	0,32	6,90	6,05	44	4,6	szürkésfekete
53 700	180	5 700	9,6	5,0	6,45	0,09	7,10	3,3	—	4,0	barna
13 480	130	3 100	18,7	6,8	1,88	0,11	7,18	4,2	44	1,6	sárga
3 600	50	2 600	41,9	3,2	0,75	0,10	7,44	5,6	28	2,3	barnásszürke
11 000	100	3 500	24,1	10,5	1,73	0,18	6,79	0,0	38	3,0	sárgásbarna
34 600	70	3 000	8,0	11,7	1,22	0,12	7,29	5,04	44	1,6	szürke
9 760	27	3 600	27,0	5,6	0,75	0,11	6,63	0,0	28	2,3	sárgásbarna
2 880	14	2 800	49,3	2,4	0,47	0,08	7,18	0,0	29	1,1	vörösesbarna
780	13	600	43,5	8,1	1,2	0,20	7,28	0,0	26	1,0	szürkésbarna
630	12	430	40,6	5,8	0,75	0,21	7,18	0,6	26	1,5	szürkésbarna
220	5	210	48,8	1,0	0,47	0,04	7,92	1,6	26	1,0	szürkés-sárga
190	3,3	170	47,2	0,6	1,52	0,14	7,13	2,9	26	1,0	szürkés-sárga
432	7	800	64,9	1,8	0,53	0,06	7,64	2,1	28	1,2	szürkés-sárga
1 210	11,5	320	20,9	6,2	0,94	0,02	6,49	ny	28	2,0	szürkésbarna
409	15	80	16,4	—	3,82	0,09	7,34	12,1	50	2,0	szürke







táblázat

flórájának antibiotikus aktivitása

10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
4	5	6	5	4	6	7	5	7	6	8	7	6	7	8	8	6	8	7	5	11	17	9	15	11
5	9	8	8	7	5	5	8	5	6	6	4	7	7	6	6	7	6	7	6	10	7	7	6	8
81	196	196	169	121	121	144	169	144	144	196	121	169	196	196	196	169	196	196	121	441	576	256	441	361
15	28	31	28	32	22	26	51	33	43	56	23	69	51	61	42	55	73	39	26	189	100	67	71	126
18,5	14,3	15,8	16,6	26,4	18,2	18,1	30,2	22,9	29,9	28,6	19,0	40,8	26,0	31,1	21,4	32,5	37,2	19,9	21,5	42,9	17,4	26,2	16,1	34,9
25	81	64	64	49	25	25	64	25	36	36	16	49	49	36	36	49	36	49	36	100	49	49	36	64
5	18	12	12	20	8	2	24	5	13	13	—	26	12	8	10	17	18	11	1	49	3	14	3	20
4	17	7	10	10	7	2	14	5	13	7	—	9	9	5	3	14	8	9	1	30	3	11	3	10
—	1	2	2	9	1	—	7	—	—	4	—	14	3	2	5	3	6	2	—	13	—	3	—	6
1	—	3	—	1	—	—	3	—	—	2	—	3	—	1	2	—	4	—	—	6	—	—	—	4
20	45	48	40	28	30	35	40	35	36	48	28	42	49	48	48	42	48	49	30	110	119	63	90	88
5	2	6	5	3	5	—	1	2	17	12	—	12	3	10	6	5	20	—	—	60	18	5	6	20
5	2	6	1	2	2	—	1	2	16	11	—	12	3	9	6	5	17	—	—	43	16	4	6	11
—	—	—	4	1	2	—	—	—	1	1	—	—	—	1	—	—	3	—	—	17	2	1	—	8
—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
16	25	36	25	16	36	49	25	49	36	64	49	36	49	64	64	36	64	49	25	121	289	81	225	121
1	4	3	3	—	3	5	9	12	10	13	13	8	18	19	10	15	15	14	7	40	62	23	40	36
1	4	3	3	—	1	5	9	12	10	13	12	8	15	19	10	14	14	14	7	32	62	23	40	33
—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	1	—	3	—	—	1	1	—	—	8	—	—	—	3
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	45	48	40	28	30	35	40	35	36	48	28	42	49	48	48	42	48	49	30	110	119	63	90	88
4	4	10	8	9	6	19	17	14	3	18	10	23	18	24	16	18	20	14	18	40	17	25	22	50
4	4	10	8	9	6	19	16	14	3	18	8	23	17	23	16	17	19	14	18	40	17	25	22	49
—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	2	—	1	1	—	1	1	—	—	—	—	—	—	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—







sánál anyagunkat további öt — általunk korábban [50], lényegében hasonló módszerekkel feldolgozott — talajmikroflóra vizsgálati adataival egészítettük ki.

E talajok (3. tábl. 30–34 sorsz.): 30=humuszszegény, közömbös, közép-kötött erdőségi-vályog, szántó, Tihany; 31=mészköre települt, közömbös, humuszos, morzsalékos, sötétszínű talaj, cserjés (*Frutici-quercion*), Tihany; 32=közömbös, humuszos, sekély feltalajú, köves-törmelékes talaj, legelő, Tihany; 33=gyengén kilúgzott, kötött erdőségi vályog, tölgyes, Tihany; 34=melegágyi talaj, Budapest.

*Az antibiotikus törzsek megoszlásának heterogenitása*

A törzsek kettős szelekciója folyamán viszonylag kevés kulturális csoportot és antibiotikus törzstípust nyújtottak azok a tenyészetek, melyeket erősen kilúgzott, savanyú erdőtalajok A-szintjéből (3, 4, 6, 7, 8 sorsz. talajok) vagy fenyer jellegű területek sok nyers humuszt tartalmazó, mintegy 20–25 cm mélyen fekvő, felső (átmeneti) A<sub>0</sub>–A<sub>1</sub>-szintjéből (1, 2, 5 sorsz.) izoláltunk. Így az 1 sz. talajból (2 tábl.) kitenyésztett Ca-jelzésű 19 sugárgombatorzs 3 kulturális csoportot (vonatkozásban az *A. viridichromogenes*, *A. globosus* és *A. parvus* fajokhoz [27]) és 6 antibiotikus törzstípust képezett (3. táblázat). A 2, 4 és 6 sorszámú talajok esetében

5. táblázat

Antibiotikus kölesönhatások szántóföldi művelés alatt álló humuszszegény, homokos erdőségi talajból (Gödöllő, 27 sorszám) izolált nyolc baktérium (Ru 1-8) és hat sugárgomba (Ru 9-16) törzstípus között bouillon-pepton-glükóz-agaron

	Ru <sub>1</sub>	Ru <sub>2</sub>	Ru <sub>3</sub>	Ru <sub>4</sub>	Ru <sub>5</sub>	Ru <sub>6</sub>	Ru <sub>7</sub>	Ru <sub>8</sub>	Ru <sub>9</sub>	Ru <sub>11</sub>	Ru <sub>12</sub>	Ru <sub>14</sub>	Ru <sub>15</sub>	Ru <sub>16</sub>
Ru <sub>1</sub>	0	2	0	0	0	0	0	0	5	0	0	5	0	4
Ru <sub>2</sub>	4	0	3	0	g	0	0	0	4	4	5	5	4	0
Ru <sub>3</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Ru <sub>4</sub>	0	2	g	0	0	6	0	2	0	0	0	5	0	0
Ru <sub>5</sub>	0	0	2	0	0	0	0	0	7	0	0	8	2	0
Ru <sub>6</sub>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
Ru <sub>7</sub>	g	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	7	2	3
Ru <sub>8</sub>	0	0	4	0	0	g	0	0	2	0	0	2	3	0
Ru <sub>9</sub>	0	0	2	0	g	3	0	g	0	0	0	0	2	6
Ru <sub>11</sub>	0	0	g	0	0	0	0	g	0	0	2	0	0	5
Ru <sub>12</sub>	0	0	g	0	2	g	0	2	12	3	0	2	3	7
Ru <sub>14</sub>	0	0	g	0	0	g	0	0	10	0	0	10	4	7
Ru <sub>15</sub>	0	0	0	0	3	g	0	2	11	0	3	0	0	6
Ru <sub>16</sub>	2	0	5	0	g	7	0	g	22	0	0	12	0	0



5—5, a 7 és 8 sz. talajoknál 4, ill. 3, végül a 3 és 5 sorszámú talajoknál csupán 2—2 jól differenciálható sugárgomba antibiotikus törzstípust különítettünk el. E talajokból származó sugárgomba, de baktériumtörzsek gátló hatása is általában alacsony-nak mondható. Az 5, ill. 10 mm-en feletti gátlások száma viszonylag kevés volt. Ezt szemlélteti a 4. táblázat is, mely a 2 sz. talajból szelektált 5 baktérium és 5 sugárgombatörzs-típus antibiotikus kölcsönhatását mutatja be. Mint látható az Ai-9 jelzésű sugárgomba-törzsnek volt csupán mérsékelt hatása. Ami e talajból származó sugárgomba-törzseknek a korábban említett standard tesztszervezetekkel szembeni aktivitását illeti, megállapítható volt, e tesztekre vonatkozott fokozottabb gátló képességük.

Másrészt egyes esetekben, mint pl. az 5 sz. talajnál — ahol valamennyi kitenyészített sugárgomba-törzs mindössze két típust képviselt — igen erős és elsősorban is egymás ellen irányuló antibiotikus gátló képességet tapasztaltunk. Mindez azt mutatja, hogy e talajfélésegek megítélésénél még további alapos vizsgálatokra van szükség.

Az itt észlelték párhuzamba állíthatók az irodalmi adatokkal. G u d k o v a [19] szerint az antagonista sugárgombák inkább elterjedtek csernozjomokban, mint a savanyú podzolokban. Másrészt a podzolokban is számarányuk rendkívül ingadozhat (akár 87,0—0,5% között is; M i c h a l e v a [36]). Általában a sugárgombák a savanyú kémhatású talajokban kevésbé otthonosak. Maguk a baktériumok is a savanyú erdőtalajokban csökkent dinamikával tevékenykednek [4]. Az antibiotikus törzskutatás számára itt inkább a penész-gombák vonalán nyílik lehetőség [8, 10, 22, 65].

#### 6. táblázat

Antibiotikus kölcsönhatások meszes-szikes legelő talajából (Püspökladány, 14 sorszám) izolált négy baktérium (Ls 1-4) és hét sugárgomba (Ls 5-11) törzstípus között bouillon-pepton-glükóz-agaron

	Ls <sub>1</sub>	Ls <sub>2</sub>	Ls <sub>3</sub>	Ls <sub>4</sub>	Ls <sub>5</sub>	Ls <sub>6</sub>	Ls <sub>7</sub>	Ls <sub>8</sub>	Ls <sub>9</sub>	Ls <sub>10</sub>	Ls <sub>11</sub>
Ls <sub>1</sub>	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0
Ls <sub>2</sub>	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0
Ls <sub>3</sub>	0	0	0	0	g	0	0	0	0	0	0
Ls <sub>4</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ls <sub>5</sub>	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0
Ls <sub>6</sub>	3	0	2	0	12	0	6	9	6	5	0
Ls <sub>7</sub>	0	0	g	0	g	0	0	0	0	2	0
Ls <sub>8</sub>	0	0	0	g	7	0	0	0	0	0	0
Ls <sub>9</sub>	0	0	g	2	7	0	4	6	0	g	0
Ls <sub>10</sub>	0	0	0	2	6	0	7	10	0	0	0
Ls <sub>11</sub>	g	0	g	0	5	0	3	2	0	0	0



A sugárgombák fejlődésére kedvezőbb gyengén savanyú vagy közömbös erdőtalajok (9, 10, 31, 33, sz.) esetében sem jutottunk egyöntetű eredményre. Az igen jó mikrobiális dinamikájú (Manninger l. sz. vizsgálati területe [33]) 9-es sorszámú közömbös, kötött barna erdőtalajból már változatosabb törzsgarnitúrát szelektáltunk, s közöttük inkább a gátlások száma, mint aktivitása volt nagyobb mérvű (7 sz. táblázat). Különösen erős gátló hatású törzs sem a 31, sem a 33 sz. talajokból nem került elő, csupán a soproni gyengén savanyú feltalajú akácok (10 sz.) A-szintjéből egy, az Ak-7 jelzésű sugárgombatörzstípus, mely meghatározásunk szerint az *Actinomyces flavus* csoporttal hozható vonatkozásba. Azonban ez a törzs alig hatott a standard tesztekre. Érdekes, hogy ez utóbbi szervezetekre gyakorolt antibiotikus hatás képe *általánosságban véve* visszatükrözte azokat az aktivitásbeli differenciákat, melyeket a mikroflórák kölcsönös szembeállítására alapján a különböző talajok között megállapítottunk. Az egyes esetekben azonban szigorú korrelációt természetesen megállapítani nem lehetett, vagyis sokszor igen aktív törzsek a standard tesztekkel szemben hatás-

7. táblázat

Antibiotikus kölcsönhatások közömbös, kötött, barna erdőszéki talajból (Sopron, 9-sorszám) izolált hét baktérium (É 1-7) és kilenc sugárgomba (É 8-16) törzstípus között bouillon-pepton-glükóz-agaron

	É <sub>1</sub>	É <sub>2</sub>	É <sub>3</sub>	É <sub>4</sub>	É <sub>5</sub>	É <sub>6</sub>	É <sub>7</sub>	É <sub>8</sub>	É <sub>9</sub>	É <sub>10</sub>	É <sub>11</sub>	É <sub>12</sub>	É <sub>13</sub>	É <sub>14</sub>	É <sub>15</sub>	É <sub>16</sub>
É <sub>1</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0
É <sub>2</sub>	0	0	0	g	0	g	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0
É <sub>3</sub>	g	3	0	2	0	g	0	2	0	g	0	0	5	0	0	0
É <sub>4</sub>	0	0	0	0	0	0	0	g	0	0	0	0	4	0	0	0
É <sub>5</sub>	g	g	0	g	0	g	3	g	0	0	0	0	6	0	0	0
É <sub>6</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	6	0	0	0
É <sub>7</sub>	0	0	0	0	0	0	0	g	0	0	0	0	5	0	0	0
É <sub>8</sub>	0	0	0	g	0	0	2	0	0	0	0	0	8	2	0	0
É <sub>9</sub>	0	0	0	0	0	0	0	4	0	3	0	0	8	g	0	0
É <sub>10</sub>	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	7	0	0	0
É <sub>11</sub>	2	0	0	g	0	0	0	3	2	g	0	0	8	g	0	0
É <sub>12</sub>	0	0	0	g	0	g	g	2	3	0	3	0	8	2	0	2
É <sub>13</sub>	6	0	2	g	4	7	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
É <sub>14</sub>	g	0	0	0	0	g	0	5	0	3	g	0	7	0	0	0
É <sub>15</sub>	0	0	0	g	0	0	0	0	2	0	0	0	6	0	0	0
É <sub>16</sub>	0	0	0	g	0	0	0	0	2	0	0	0	6	0	0	0



talajok voltak vagy fordítva. Az itt mondottak, érvényesek a továbbiakban tárgyalásra kerülő talajokra vonatkozóan is.

Vizsgálataink szerint úgy látszik, hogy lényegesen erőteljesebb momentumok játszanak közre az antibiotikus törzsek felhalmozódásában vagy a gátló képességek kialakulásában a szántóföldi vagy kerti művelés alá vont talajokban (17-28 sz. talajok). Egy pillantás a 3. sz. táblázatra azonnal meggyőz, hogy a savanyú vagy közömbös erdőtalajok esetében észlelt 18,2, 6,0, 10,2, 26,6, 19,4, 9,4, 12,2, 17,3 stb. össz gátlás %-kal szemben a szántóföldi talajoknál 30,2, 22,9, 28,6, 19,0, 40,8, 26,0, 31,1, 21,4, 32,5 stb. %-ban volt kimutatható antibiotikus hatás az egyes mikroflórák egymásközötti összes szembeállítási esetére vonatkoztatva. A különbségek azonban nemcsak mennyiségi, hanem minőségi vonalon is megmutatkoztak. A 3. táblázaton megfelelő csoportokban tüntettük fel az egyes mikroba csoportokkal végzett szembeállítások számát, a gátlások %-át, az észlelt gátlónak nagyságrendi csoportosítását a zónák sugarának mm-nagyságrendjében. Ezek segítségével láthatóvá válik az erősebben gátló hatású törzsek fellépése a 17, 20, 22, 24, 25, 27 és 30 sorszámú szántóföldi talajok esetében. Ezt a fokozott aktivitást szemlélteti a 5. táblázaton bemutatott homokos szántó (27. sorsz.) mikroflórájának kölcsönös gátlás adatai is.

Külön figyelmet érdemelnek a kitűnő antibiotikus aktivitású aktinomicetálfórát tartalmazó, humuszszegény, kötetlen, gödöllői homoktalajok. E talajokból igen változatos törzsgarnitúrát szelektáltunk és talán nem közömbös megjegyezni azt sem hogy a sugárgombák ezen kötetlen homokos talajok mikroflórájában domináns szerepet játszanak (lásd 2. táblázat).

A szántóföldi talajok mikroflórájának fokozottabb antibiotikus aktivitására vonatkozóan tett megállapítások — hangsúlyozzuk — ismét csak általánosságban érvényesek. Így pl. a 28-as sorszámú gödöllői homokos szántó már kevéssé aktív törzseket tartalmazott és az 1. táblázaton bemutatott soproni szántó (19. sz. talaj) törzsei sem mutattak erős gátló hatást.

A fentiek vonatkozásba hozhatók az irodalmi megállapításokkal. Így szántóföldi talajok kitűnő gyűjtőhelyei antibiotikus törzseknek (Gauze [17], Waksman és munkatársai [59], Döller [11], Gudkova [19], Kraszilnyikov és munkatársai [28], Szabó [50], Korenjako és munkatársai [26] stb.). Az intenzív talajművelés és trágyázás fokozza a mikrobiális dinamikát, mely — egyelőre nem teljesen ismert, bár gyanított mechanizmusú — antagonisztikus kölcsönhatásokat is stimulálja (Blair [3], Gorlenko és Voronkevics [18], Csurnakov [9], Szideri [54], Weindling [63], Waksman [61], Engel [15], Wood [64]). A szervesanyagbontás és utánpótlásnak a szerves-trágyázás során kialakított dinamizmusa nem lehet közömbös az antibiotikumok termelésének és a mikroflóra reprodukciójának folyamatában.

Tanulmányaink során külön figyelemre méltattuk a melegágyi-talajokat, melyek több szerző szerint (Szabó [50, 51], Ordin [39], Avdievics [2] stb.) elsőrendű forrásai antibiotikus törzseknek. A 15, 16 és a 34 sorszámú talajok vizsgálati adatai (3. tábl.) szerint egyöntetű eredményre itt sem jutottunk. Így a 16. sorszámú melegágyi talaj határozottan inaktív mikroflórát tartalmazott, míg a 34-es kertészföld kimagaslóan aktív törzseket nyújtott.

Végül a szikes talajokra vonatkozó adatainkról számolunk be. Ezek tisztán-téli fásítással javított savanyú feltalajú mésztelen szikesek (11–12. sorsz.), továbbá a 14-es talaj püspökladányi igen rossz állapotú, lúgos feltalajú ( $\text{CaCO}_3$  a felszín közelében) szikes legelő talajából gyűjtött minta. Az eredmények szerint éppen e legrosszabb állapotú talajból került elő a legaktívabb sugárgomba mikroflóra, míg a fásítással javított talajok esetében a szelektált törzsek hatásossága



kisebb mérvű volt. Az említett talaj (lásd 6. tábl.) kedvezőtlen tenyészviszonyai a mikrobiológiai vizsgálati adatokból is visszatükröződnek (2. tábl.). 89,5%-ban bár, de rendkívül csekély abszolút mennyiségben (5100/1 g nedves talaj) sugárgombák népesítették be.

Ez a korábban említettekkel ellentétesnek tűnő adat, irodalmi megvilágításban már nem meglepő. Több szerző, mint N a k h i m o v s z k a j a [38], M i c h a l e v a [36] és mások éppen azt mutatták ki, hogy a szélsőséges talajkörülmények között egyenesen növekedik az aktív sugárgombák viszonylagos száma. K r a s z i l n y i k o v szerint [28] a szikesedés fokozódásával a sugárgombák száma ugyan eszikken, de nő az antibiotikus aktivitásuk. Minderre magyarázat ma még nincsen.

*Az antibiotikus hatóspektrum alakulása*

A 3. táblázaton megadott és az egyes talajokra és mikrobacsoportok kölcsönös gátlásviszonyaira vonatkozó adatokat összesített formában a 8. táblázaton mutatjuk be. Ezek szerint a sugárgombák antibiotikus hatása nagyobb százalékban (28,2%) nyilvánult meg más sugárgomba törzsekkel szemben, mint a velük azonos termőtalajból izolált baktériumok irányába (17,6%). Észlelhető ez a tendencia a gátlások hatásosságában is. 5 mm-ig terjedő gátlózóna az aktinomicetákkal szemben 18,8%-ban, a baktériumokkal szemben 14,4%-ban, 10 mm-ig 7,1%-ban, ill. 3,1%-ban, végül 10 mm felett 2,3, ill. 0,1%-ban volt kimutatható. Részleteiben ezt szemléltetik a már tárgyalt 1, 4, 5., 6. és 7. táblázatok is, bár megjegyezzük, hogy igen sok talajnál ezt a tendenciát ilyen élesen nem észleltük, és a szelektált törzsek között gyakori volt az a típus is, mely baktériumra és sugárgombára egyaránt vagy akár csak baktériumra hatott.

8. táblázat

34 magyarországi talajból kitenyésztett 229 baktériumtörzs és 207 aktinomiceta-törzs szembeállításánál észlelt gátlásadatok összesítése

(1) A szembeállított mikroszervezetek	(2) A szembe- állítások száma	(3) Gátlás		(4) A gátló hatások intenzitása					
		összesen	%	1 — 5 mm-ig		5-10 mm-ig		10 mm felett	
				Össze- sen	%	Össze- sen	%	Össze- sen	%
Aktinomiceta ↓ Aktinomiceta	1373	387	28,2	258	18,8	98	7,1	31	2,3
Aktinomiceta ↓ Baktérium									
Baktérium ↓ Baktérium	1455	257	17,6	210	14,4	45	3,1	2	0,1
Baktérium ↓ Baktérium									
Baktérium ↓ Baktérium	1853	407	21,9	388	20,9	19	1,0	—	—
Baktérium ↓ Aktinomiceta									
Baktérium ↓ Aktinomiceta	1455	457	31,4	447	30,7	10	0,7	—	—

A 8. táblázaton az is látható, hogy maguk a baktériumok általában kevésbé hatásos antagonisták, ami teljesen megegyező az irodalmi adatokkal. Érdekes, hogy a baktériumok részéről igen nagy százalékban (31,4%) volt *Actinomyces*



ellenes hatás, azonban az észlelt 457 gátlás közül 447 esetben csupán igen alacsony (legtöbbször 1–2 mm), kevéssé specifikus jellegű gátló hatással.

A sugárgomba-törzsek antibiotikus hatásosságának ezt a tendenciáját nem cáfolják meg a 9. táblázaton bemutatott adatok sem. 162 szelektált sugárgomba-antibiotikus-törzstípusnak a vitális pontteszt és a lyukteszt-módszerrel mért antibiotikus hatását láthatjuk hat tesztorganizmokkal szemben. Mindenekelőtt megállapítható a lyukteszt-módszerrel észlelt alacsonyabb aktivitás, ami az antibiotikum-produkciónak a folyékony tápközegeken gyakorta észlelt kimaradásával hozható párhuzamba. Mindkét módszer esetében a legérzékenyebb teszt az *Actinomyces griseus* M-15 jelzésű törzs volt. Az *Actinomyces* sp. ALB-6 jelzésű törzs — melyet az ellenállóképes sugárgombák sorából szelektáltunk e célra — kevéssé szenzibilisnek bizonyult az igen érzékeny *Mycobacterium mucosum* M-34 mellett. Mindenesetre egy-két törzs alapján valamely mikrobacsoport érzékenységének általánosságban vett mértékére következtetni még nem lehet.

9. táblázat

162 *Actinomyces*-törzs-típus antibiotikus hatása hat tesztorganizmokkal szemben

(1) Teszt-organizmus	(2) Vitális pontteszt-módszer				(3) Lyukteszt-módszer			
	(4) Összes gátlás	(5) Gátlózóna sugara mm-ben			(4) Összes gátlás	(5) Gátlózóna sugara mm-ben		
		1–5	5–10	10 felett		1–5	5–10	10 felett
<i>Escherichia coli</i> ...	3	3	—	—	—	—	—	—
<i>Bacillus subtilis</i> ...	37	31	6	—	9	8	1	—
<i>Actinomyces griseus</i> M-15 .....	91	60	28	3	60	37	17	6
<i>Actinomyces</i> sp. ALB-6 .....	50	43	6	1	16	13	2	1
<i>Mycobact. mucosum</i>	87	69	15	3	24	17	5	2
<i>Penicillium granu- latum</i> .....	32	16	15	1	19	13	6	—

Azok a sugárgombatörzsek, melyek — a vitális pontteszt-módszerrel vizsgálva — kizárólag vagy főként csak saját talajuk sugárgombatörzseire voltak aktívak, hasonló vagy eltérő hatású anyagcsere termékeket adtak le — a fermentáció folyamán — a kultúrfolyadékba. Többségüknél a fermentofolyadékok antibiotikus aktivitása — különösen a rázatás idejének előrehaladtával — a nagyon érzékeny *Mycobacterium mucosum* teszt-törzsrre is kiterjedt. Mindemellett sikerült olyan törzseket is szelektálnunk, melyek gátló hatását alig vagy egyáltalán nem tudtuk kimutatni más mikroszervezetekkel, mint aktinomicetákkal szemben. Így pl. az 1. sz. talajból kitenyészített Ca-6 jelzésű kultúra, melyet meghatározásunk szerint az *Actinomyces viridichromogenes*hez (Krainsky 1914) közel álló törzsnek lehet tekinteni, egészen szűk hatóspektrumú és csupán aktinomiceta-ellenes, fehérjetermészetű, még a preparátumok 60 000 ×-es hígításban is aktív litikus hatást kiváltó, nem autolízis produktumaként létrejövő antibiotikumot termel.

Ez a hatóspektrum nem változott, ha a pontteszt vagy a lyukteszt módszert vagy éppen a keresztcsikolatos teszt-módszert alkalmaztuk. Nem változott akkor sem, ha a törzset szintetikus táptalajokon fermentáltuk, ahol a C-forrást keményítő, maltóz, cellobióz, glükóz, rhamnóz vagy xilóz szerepében anorganikus N-forrással, avagy valamilyen aminosavval kombináltuk stb. Érdekes, hogy a legnagyobb aktivitást e törzsnél is a bouillon-pepton-glükóz tápközegben érték el hasonlóan az általunk korábban leírt *Actinomyces* M-17-hez [51]. A tömeges szembeállításokat is mint említettük e tápközegen eszközöltük.



### A kísérleti eredmények megbeszélése

Vizsgálataink során a különböző talajok mikroflórájának antibiotikus aktivitásában mutatkozó különbségeket elsősorban is az egyes talajokból előkerült törzsek egymás közötti gátlás aktivitása alapján mértük le. Az összehasonlító vizsgálatoknak ezt a módját, előttünk korábban még nem alkalmazták. Mint láthattuk, ezen kísérleti elrendezés mellett antibiotikus hatást tanúsító sugárgomba törzsek nem azonos arányban kerültek elő az egyes magyarországi talajokból. Ezen heterogén megoszlás keretében határozott tendencia volt felismerhető, amennyiben a művelt szántóföldi talajok aktívabb mikroflórát tartalmaztak, mint a legkülönbözőbb talajtípust képviselő feltöretlen talajok. Azonban hangsúlyozzuk, hogy ez csakis általánosságban érvényes, és arra is gyűjtöttünk adatokat, hogy az igen kedvezőtlen állapotú szikes talajok ugyancsak sok aktív antibiotikus sugárgombát rejthetnek magukban. A világviszonylatban folyó antibiotikus törzskutatás eddigi eredményeinek mérlegelésénél [52] megállapítható volt, hogy adataink lényeges párhuzamot mutatnak az irodalomban közöltekkel. Vagyis ez azt jelenti, hogy a Föld legkülönbözőbb tájain és talajain a legeltérőbb tesztekkel, táptalajokkal és módszerekkel végzett kísérletek eredményei — hacsak rendkívül durván is — de a fenti értelemben összehangolhatók. Ennek a ténynek megvan a magyarázata. Először is az antibiotikus anyagok körében viszonylag kevés az egészen szűk hatóspektrumú gátlóanyag, ami lehetővé teszi, hogy a különböző tesztekre kapott eredményeket — ha nagy óvatossággal is — de összehasonlíthassuk. Másodszor a legkülönbözőbb szisztematikai csoportokba tartozó mikroszervezetek anyagcseréjében megnyilvánuló nagyfokú fiziológiai identitásnak köszönhető, hogy a talajmikrobák antibiotikus anyagai nem talajlakó vagy kórokozó tesztiszervezetek irányába is hatékonyaknak mutatkoznak.

Feltehető azonban a kérdés, hogy mi okozza az antibiotikus sugárgombatörzsek eme heterogén megoszlását? Az a magyarázat, miszerint a fokozott mikrobiális aktivitású talajokban, esetleg ezen belül a rhizoszferában [44], az antibiotikus mutánsok fellépésének nagyobb a valószínűsége [45] avagy az itt uralkodó erős konkurrencia viszonyok (Gauze, Kraszilnyikov, Szabó stb.) az antibiotikus tulajdonságok nemcsak mutatív, hanem adaptív jellegű fokozott kialakulását segítenék elő, csak az esetek egy részére ad feleletet. Mi a magyarázata annak, hogy éppen az adinamikus, aszályos, mikrobaszámban rendkívül szegény szikesekben és bizonyos más szélsőséges talajkörülmények között az antibiotikus sugárgombák viszonylagos száma emelkedik? Erre az ellenmondásra az irodalomból nem ismerünk magyarázatot. Van azonban nézetünk szerint, egy olyan momentum, melyen el lehet indulni a megoldás felé. A savanyú, erősen kilúgozott erdőtalajokban éppen úgy redukálódik a sugárgombák száma, mint a szikesekben. Amíg azonban az első esetben e szervezetek — a gombákkal szemben — a mikroflóra alárendelt elemeivé válnak, addig a szikesekben — bármily csekély is a mennyiségük — csaknem egyeduralkodókká lesznek, a mikrobanépeség 80—100%-át is kitehetik [4] és e talajok életét annak egész évi dinamizmusában befolyásolják. A kedvezőbb dinamikájú szántóföldi és erdőtalajokban átmeneti helyzet alakul ki és ezekben jelentős szerepet foglalnak el — a baktériumok és gombák mellett — mikor is tevékenységük az évi periódus és a mineralizáció bizonyos szakaszaira esik. Ez a sugárgombákra eső „tevékenységi szakasz” annál intenzívebb, mennél erősebb a talaj trágyázása és művelése. Mindebből határozottan következik, hogy az erősen antibiotikus sugárgomba törzsek azokból a talajokból kerülnek elő, ahol a tevékenységi lehetőségük szakasza növekedik (szántók, közömbös feltöretlen erdőtalajok stb.) vagy ahol a talaj egész évi dinamizmusát egyoldalúan uralják (szikesek stb.). Mindkét esetben elsősorban is egymás kölcsönös befolyásolásának vannak kitéve



és mint Kraszilnyikov utal rá [28] tevékenységük és szerepük elkülönül a baktériumokétól. Így vetődik fel a sugárgombák kölcsönös antagonizmusának kérdése.

Azt, hogy a sugárgombák kölcsönösen gátolhatják egymást, már McCormack [34] konstataálta, majd 1939-ben Kraszilnyikov és Korenjako. 1949-ben Lochhead és Landerkin [32] az általuk kitenyészített törzsek között olyan sokoldalú kölcsönös gátlást tapasztaltak, hogy szerintük rendkívül bonyolult történésekkel állunk szemben a természetes viszonyokat illetően. Jarmolenko és Nakhimovszkaja [21] különösen tartják, hogy az egész világon vizsgálat tárgyává tették a sugárgombák antibiotikus hatásosságának kérdését, de csaknem semmit sem tudunk az aktinomiceták antagonistáiról. 1954-ben Rehm [42] azt észlelte, hogy 26 tesztiszervezet közül (egy baktériumtól eltekintve) két aktinomiceta volt a legérzékenyebb az antagonista sugárgombákkal szemben. Peterson [40] szerint az általa vizsgált a sugárgombák sokkal aktívabbak voltak a *Streptomyces scabies*-szel szemben, mint egy gomba kórokozóra stb.

Ez a terület még teljesen felkutatlan. Jarmolenko és Nakhimovszkaja a sugárgombák antagonistáit a baktériumok között keresték. Rehm egyetlen megjegyzést tett arra a tényre, hogy sugárgombái éppen aktinomicetákra a legaktívabbak. Kraszilnyikov pedig [28] a sugárgombák antibiotikus karakterének kialakulásánál a csupán talajbaktériumokkal vívott létért való küzdelmet tárgyalja.

Az ökológiai igények szempontjából közelálló szervezetek fokozott antagonizmusának ismert ökológiai törvényszerűségére támaszkodhatunk akkor, midőn a sugárgomba-törzsek antibiotikus aktivitásának kialakulásánál, e szervezetek közötti konkurrencia indukáló szerepét mérlegeljük. Ennek értelmében nyerhet magyarázatot az egyoldalúan sugárgombákkal benépesült szikes-talajmikroflórák magas antibiotikus aktivitása.

Végül még egy szempont: Az antibiotikus törzskutatás egy másik, magyarázat nélkül álló problémája, a *Mycobacterium*-tesztek fokozott érzékenysége a sugárgombatörzsek anyagcsere-termékei iránt [27, 44 stb.]. Ezek a szervezetek az aktinomiceták legközelebbi fiziológiai rokonai. Amennyiben a továbbiak során szélesebb körben behizonyosodik az aktinomiceta-eredetű hatóanyagok fokozott aktinomiceta-ellenes hatása, úgy a *Mycobacterium*-ok érzékenysége a plazmatikus rokonság alapján érthetővé válik.

A magyarországi talajokon, ezen új vizsgálati formában végzett tanulmányok — anélkül, hogy egyetlen konkrét esetben is azonosítanánk a tápközegeken észlelt jelenségeket a természetes viszonyokkal — felvetettek tehát egy olyan problémát, amely magában rejtheti az antibiotikus törzskutatás néhány központi, azonban ma még magyarázat nélkül álló kérdése megoldásának kulcsát. Ennek értelmében a jövőben figyelmünket a nagyfokú specifikusságot mutató aktinomiceta-ellenes sugárgomba antagonistáknak, mint anyagcsere-típusoknak (Gyórfy [20]) összehasonlító vizsgálatára, hatóanyagaik tanulmányozására és a talajban végbe menő kölcsönhatások felderítésére kell összpontosítanunk.

### Összefoglalás

1. A különböző magyarországi talajok mikroflórájának (aktinomiceták, baktériumok) antibiotikus aktivitását az izolált és szelektált törzsek kölcsönös szembeállítására alapján mértük le.

2. Az erősen kilúgzott, savanyú erdőtalajok sugárgomba-flórája viszonylag gyengébb antibiotikus aktivitású.



3. A legkülönbözőbb talajtípust képviselő, művelt szántóföldi talajok sugárgomba törzsei — általában — fokozottabban antibiotikus hatásúak.

4. A gödöllői, szántóföldi művelés alá vont homokos erdőt talajok különösen kitűnnek gazdságukkal aktív antagonistá sugárgomba törzsekben.

5. A vizsgált szikes talajok között a legaktívabb sugárgomba törzseket a legkedvezőtlenebb fizikokémiai állapotú talaj tartalmazta.

6. Határozott összefüggést a talajok pillanatnyi organikus anyag tartalma, mikroba gazdsága vagy a talaj szaharáz-enzim aktivitása és az izolált törzsek antibiotikus aktivitása között megállapítani nem lehetett.

7. Általánosságban, az aktív antibiotikus hatású sugárgomba törzsek azokból a talajokból kerülnek elő, melyekben a mikroszervezetek tevékenységi szakasza a talajélet évi dinamizmusában erőteljesebben érvényesül (intenzíven művelt szántók, közömbös, feltöretlen erdőtalajok, stb.) vagy ahol a talaj évi biodinamikáját egyoldalúan uralják (kedvezőtlen fizikokémiai és biológiai állapotú szikesek, elsősorban szoloncsákosodott szolonyecek, stb.).

8. A szelektált *Actinomyces* törzsek antibiotikus hatása intenzívebb volt az ugyanazon talajból kitenyésztett más sugárgomba-törzstípusokkal szemben mint az azonos termőhelyről származó baktérium törzsek irányába.

Érkezett : 1956. január 6.

### Irodalom

- [1] Aiso, K. et al. : J. Antibiot. (Japan). 2: 240. 1949.
- [2] Avdievics, N. M. : Mikrobiologija. 22. 38. 1953.
- [3] Blair, J. D. : Ann. Appl. Biol. 30. 118. 1943.
- [4] Bokor, R. : Erd. Kísérl. 28. 69. 1926. 30. 1. 1928.
- [5] Cercos, A. P. & Rosembliit, A. : Rev. Argentina Agron. 17. 98. 1950.
- [6] Colligan, D. : Butler Univ. Botan. Studies. 9. 9. 1949.
- [7] Cooper, W. & Chilton, S. J. : Phytopath. 37. 5. 1947. 40. 544. 1950.
- [8] Csaszthuhin, V. & Nikolaevszkaja, M. : Mikrobiologija. 17. 3. 1948.
- [9] Csumakov, A. : Szbornik Trud. Vsesz. Inszt. Zascz. Raszt. 43. 1948.
- [10] Curtis, P. J. et al. : Nature. 167. 557. 1951.
- [11] Dölle, H. : Zbl. Bakter. II. 108. 127. 1954.
- [12] Eaton, F. M. & Rigler, N. : J. Agr. Research. 72. 137. 1946.
- [13] Egorov, Sz. N. & Polin, A. N. : Mikrobiologija. 24. 67. 1955.
- [14] Emerson, R. L. et al. : Jour. Bact. 52. 357. 1946.
- [15] Engel, H. : Deutsch. Landw. 2. 94. 1953.
- [16] Gattani, M. L. & Kaul, T. N. : J. Sci. & Indust. Res. (India). 10. 208. 1951.
- [17] Gauze, G. F. : Lekcii po antibiotikam. Izd. A. Med. N. SSSR. Moszkva. 1953.
- [18] Gorlenko, M. V. & Voronkevics, V. J. : Szovjetszkaja Agr. 1. 77. 1949.
- [19] Gudkova, V. T. : Gigiena i Szanitarija. 5. 41. 1951.
- [20] Györfly, B. : M. T. A. Biol. és Agr. Oszt. Közlem. 3. 197. 1952.
- [21] Jarmolenko, L. & Nakhimovszkaja, M. : Mikrobiologija. 21. 300. 1952.
- [22] Jefferys, E. G. et al. : J. Gen. Microbiol. 9. 314. 1953.
- [23] Johnstone, D. B. : Soil Sci. 64. 453. 1947.
- [24] Kliewe, H. & Gillisen, G. : Arch. Hyg. 133. 159. 1950.
- [25] Klimes-Samik, A. : cit. Ballenegger, R. : Talajvizsgálati módszerkönyv. Mezőgazd. Kiadó. Budapest. 1952.
- [26] Korenjako, I. et al. : Mikrobiologija. 24. 62. 1955.
- [27] Kraszilnyikov, N. A. : Opredeletelj bakterij i Aktinomycetov. Izd. A. N. SSSR. Moszkva. 1949.
- [28] Kraszilnyikov, N. et al. : Mikrobiologija. 22. 3. 1953.
- [29] Krehl-Nieffer, M. : Arch. f. Mikrobiol. 15. 389. 1951.
- [30] Landerkin, G. B. et al. : Canadian J. of Research. C. 28. 690. 1950.
- [31] Lindbein, W. : Arch. f. Mikrobiol. 17. 361. 1952.
- [32] Lochhead, A. G. & Landerkin, G. : Plant and Soil. 1. 271. 1949.
- [33] Manninger, E. : Erdmőrnöki Főisk. Évk. 107. 1951—2. 1953.

- [34] McCormack, R. B. : The associative action of some species of Actinomyces. Thesis. Cornell University. 1935. cit. : Waksman, S. A. [60]
- [35] Meredith, C. H. & Semeniuk, G. : Iowa Agr. Exptl. Sta. Ann. Rept. 1945—47.
- [36] Michaleva, V. V. : Dokl. Vsz. Ord. Len. Akad. Szelszk. N. 11. 23. 1951.
- [37] Miller & Reate, A. : Science, 25. 8. 1944.
- [38] Nakhimovszkaja, M. : Mikrobiologija. 6. 1. 31. 1937.
- [39] Ordin, A. P. : Mikrobiologija. 21. 192. 1952.
- [40] Peterson, A. E. : Antibiotics & Chemother. 4. 145. 1954.
- [41] Petrusova, N. I. : Mikrobiologija. 22. 576. 1953.
- [42] Rehm, H. J. : Wiss. Z. Univ. Greifswald. 3. 5. 1954.
- [43] Risler, J. : Brit. pat. No. 672726. C. A. 46. 9808. 1952.
- [44] Rouatt, J. et al. : Antibiotics & Chemother. 1. 185. 1951.
- [45] Routien, J. B. & Finlay, A. C. : Bact. Rev. 16. 51. 1952.
- [46] Shepherd, M. A. : Rhod. Agr. Jour. 49. 198. 1952.
- [47] Stevenson, I. L. : Soil Sci. 75. 3. 1953.
- [48] Szabolcs, I. : Hortobágy talajai. Mezőgazd. Kiadó. Budapest. 1954.
- [49] Szabó, I. : Agrokémia és Talajtan. 2. 439. 1953.
- [50] Szabó, I. : Acta Microbiol. Hung. 2. 9. 1954.
- [51] Szabó, I. & Marton, M. : Agrokémia és Talajtan. 4. 237. 1955.
- [52] Szabó, I. : Disszertáció. Sopron. 1955/56. M. T. A. Könyvtára. Tézisek : Budapest. 1956.
- [53] Szabó, I., Oroszlán, I. & Marton, M. : Agrokémia és Talajtan. 5. 183. 1956.
- [54] Szideri, I. : Agrobiologija. 1. 78. 1950.
- [55] Thaysen, A. C. et al. : Nature. 163. 835. 1949.
- [56] Thun, R., Herrmann, R. & Knickmann, E. : Die Untersuchung von Böden. Neumann Verlag. Berlin. 1955.
- [57] Vályi-Nagy, T. : Előadás a Magy. Mikrobiol. Társ. Ülésén. Budapest. 1954.
- [58] Vaszilenko, A. G. : Mikrobiologija. 21. 671. 1952.
- [59] Waksman, S. A. et al. : J. Bact. 52. 393. 1946.
- [60] Waksman, S. A. : The Actinomycetes. Chron. Bot. Comp. Waltham, USA. 1950.
- [61] Waksman, S. A. : Soil Microbiology. Wiley New York 1952.
- [62] Wallhäuser, K. H. : Arch. f. Microbiol. 16. 237. 1951.
- [63] Weindling, R. : Soil Sci. 61. 1. 1946.
- [64] Wood, S. K. : Ann. Appl. Biol. 38. 217. 1951.
- [65] Wright, M. J. : Nature. 170. 673. 1952.

## ДАННЫЕ К ПОЗНАНИЮ АНТИБИОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФЛОРЫ ЛУЧИСТЫХ ГРИБОВ В ПОЧВАХ ВЕНГРИИ

И. Сабо

Лаборатория почвенной биологии Академии Наук Венгрии, г. Шопрон (Венгрия)

### Резюме

Наши исследования были направлены на выяснение тех взаимосвязей, которые имеются между физико-химическими и биологическими свойствами почв и антибиотической активностью микроорганизмов на искусственных питательных средах, в первую очередь лучистых грибов, выделенных из почв. Другими словами : старались дать ответ на вопрос, из каких почв можно в первую очередь выделить для промышленности штаммы с повышенной антибиотической активностью.

**Методы.** Водные суспензии почвенных образцов наносили на казеин-глюкоз-агарную среду Дженсен. Появившиеся после 7-ми дневной инкубации штаммы лучистых грибов изолировали, а затем очистили их. Свойства полученных таким образом чистых культур, изучали на 9 питательных средах, состав которых приведен в тексте. Кроме этого во влажной камере, на агарной плёнке изучили их развитие и микроморфологию. Сходные по культурным свойствам штаммы, выделенные из одной и той же почвы, были обозначены с большой буквы для различия с групповой отметкой. На рисунке 1. показана селекция 17 штаммов лучистых грибов, изолированных из песчавой бурой лесной почвы (I—XVII). Эти штаммы составили всего шесть культурных групп (A—F). В дальнейшем определили взаимную антибиотическую активность штаммов, выделенных из одной и той же почвы. В эти исследования были вовлечены самые распространенные штаммы бактерий, изолированных на бульон-пептон-глюкозагарной среде из той же почвы. На основании антибиотического спектра действия и чувствительности проводили дальнейшую дифференциацию штаммов отдельных



культурных групп. Таким образом на рисунке 1. видно, что шесть (A—F) культурных групп составили ещё семь (Bts 7—13) названных нами антибиотических штаммовых типов. Из 4 штамма D-культурной группы, штамм с отметкой VIII. сильно отличался по антибиотическому поведению и чувствительности от штаммов с отметкой IX—XI, но по другим признакам они были очень сходны. Подобную селекцию провели всего у 34 микрофлор венгерских почв. Сравнение условий активности отдельных почвенных микрофлор проводили путем сопоставления гарнитуры антибиотических штаммовых типов различных почв.

Антибиотический спектр действия и чувствительности определили на бульон-пептон-глюкоз-фосфата аммония-агарной среде (Сабо: 1954) при помощи метода комочков. Эта среда особенно благоприятна для быстрого роста лучистых грибов и для большого образования субстратного мицелия. С другой стороны, в наших многочисленных ранних сравнительных опытах такая питательная среда оказалась самой выгодной с точки зрения антибиотической продукции. В ходе опытов на этой среде предварительно выращивали культуры бактерий за 30—35 часов, лучистых грибов за 4—6 дней. При использовании лучистых грибов в качестве теста использовали суспензии спор культур, предварительно выращенных на глюкоз-аспарагин-агарной-среде. (При их отсутствии использовали суспензии мицелий.) Тест организм нанесли на поверхность плёнки в виде вырезанной массы бактерий частично вместе с агаром, частично без него. Условия торможения подсчитали в первый раз после 20 часовой инкубации при 28°C. У некоторых тестов лучистых грибов и бактерий, развивавшихся медленнее пленки, контролировались в каждый час, и записывались первичные условия торможения. За исключением некоторых случаев, торможение можно было наблюдать на протяжении 30—35 часов.

Тормозящее действие штаммов лучистых грибов было изучено также и при помощи метода дырочного теста у шести тесторганизмов (*E. coli*, *B. subtilis*, *Mycobacterium Mucosum* M—34, *Penicillium granulatum*, *Actinomyces griseus* M—15, *Actinomyces* Sp). Штаммы выращивались во взболтанной культуре на бульон-пептон-глюкоз-фосфат аммония среде при 28°C. Наблюдения за активностью проводили каждые два дня путем определения продвижения ферментации.

**Результаты исследований:** Данные исследованных почв приведены в таблицах 2 В вертикальных столбиках обозначены очередной номер (1), характеристика почвы или места обитания (2), время изучения (3), содержание воды в % (4), общее количество аэробных и анаэробных бактерий на 1 гр. сырой почвы (5), общее количество грибов на 1 гр. почвы (6), общее количество актиномицетов на 1 гр. почвы (7), актиномицеты в % (8), активность сахаразы (9), гумус в % (10), общий азот в % (11), pH (12), CaCO<sub>3</sub> (13), связность (14), hu (15), цвет почвы (16), от 1—8 почвы являются кислыми, выщелоченными лесными почвами: № 9 и № 10 — бурые лесные почвы, на которых произрастает акация и ольха: № 11 и 12 — некарбонатные засоленные почвы, улучшенные лесоразведением; № 13 — переходная засоленная почва с насаждением дуба. № 14 пастбище на карбонатной засоленной почве; № 15—16 — почвы парников, № 17 — карбонатная, суглинистая огородная почва, № 18—22 — бурые лесные окультуренные почвы, № 23—28 — несвязные, песчаные, окультуренные почвы, № 29 — образец, взят из дорожной пыли.

Таблицы 1, 4, 5, 6, 7 показывают в виде шахматной таблицы спектр взаимного действия и чувствительности антибиотических штаммовых типов некоторых бактерий и лучистых грибов почвенной микрофлоры. Тормозящее действие штаммовых типов, имеющих различное происхождение приведенных в первом горизонтальном ряду в отношении различных штаммов первого вертикального ряда можно узнать в вертикальных столбиках над ними. Цифры обозначают радиус зоны торможения в мм. д-торможение около 1 мм, ещё 0-обозначает бездей ствие. Ту часть таблицы, которая содержит данные взаимодействия лучистых грибов-отделили толстой чёрной линией. Таким образом в таблице 1 (почва № 19.) Сг 1—6 являются штаммами бактерий, а Сг 7—12 лучистыми грибами. Табл. 4 иллюстрирует взаимодействие антибиотических штаммовых типов (бактерий и лучистых грибов) почвенной микрофлоры почвы № 2, табл. 5 почвы № 27, табл. 6 почвы № 14, наконец таблица 7 почвы № 9.

В таблице 3 суммированы данные торможения антибиотических штаммовых типов микробов, выведенных из 34 почв. В горизонтальных столбах обозначены: номер почвы (1), число селектированных бактерий (2) и штамменных типов лучистых грибов (3), число сопоставлений (4), число общего торможения (5), % общего торможения (6). Таблица в подробностях обозначает данные актиномицетов и бактерий и данные торможения между ними, именно, общее сопоставление (7), общее торможение (8) и радиус зон торможения (9). Конечно, приведенное общее сопоставление относится только к окончательно селектированным штамменным типам. Так например, у почвы № 22 приведены 49 сопоставлений 7 штамменных типов лучистых грибов (рисунок 1, схема селекции), а в самом деле проводили 289 сопоставлений (I—XVII) штаммов лучистых грибов. В таблице 3. для дополнения имеются ещё данные 5 почв (№ 30—34). Они следующие: № 30 — бурая лесная почва, пахота, № 31 — тем-



ноцветная карбонатная лесная-почва, № 32 — скелетная почва с маломощным верхним горизонтом, пастбище. № 33 — слабо выщелоченный связный лесной суглинок под дубом, № 34 — почва парников.

В таблице 8. суммированы данные Таблицы 3. В горизонтальных столбиках обозначены: сопоставленные микроорганизмы (1), число сопоставлений (2), общее торможение и общее торможение в % (3), общая и процентная интенсивность (4) торможений в интервалах 1—5, 5—10, и выше 10 мм.

Таблица 9 показывает антибиотическое действие 162 штамменных типов актиномицетов в отношении шести тесторганизмов. В горизонтальных столбиках обозначены: тестмикробы (1), при помощи метода комочков (2), при помощи метода дырочного теста (3), общее торможение (4), радиус зоны торможения в интервалах 1—5, 5—10 и выше 10 мм.

Следовательно, активность микробных гарнитур, изолированных из отдельных почв измерили в первую очередь на основании взаимного поведения штаммов сходного происхождения. Литературные данные по природной роли антибиотических веществ заставили нас поставить эти опыты. Наши результаты:

1. Флора актиномицетов сильно выщелоченных кислых лесных почв имеет сравнительно слабую антибиотическую активность.

2. Штаммы лучистых грибов самых различных почвенных типов, вовлеченных в сельскохозяйственную обработку, вообще имеют повышенное антибиотическое действие.

3. Некоторые несвязные песчаные культурные почвы особенно выделяются богатством активных антагонистических штаммов лучистых грибов.

4. Среди засоленных почв типа солонца самые активные штаммы лучистых грибов содержались в почвах с самым неблагоприятным физико-химическим состоянием.

5. Не удалось открыть определенную связь между моментальным содержанием органических веществ, богатством микроб, и активностью фермента сахаразы почвы и антибиотической активностью изолированных штаммов.

6. Вообще, штаммы лучистых грибов с сильной антибиотической активностью имеются в тех почвах, в которых увеличивается степень возможности их деятельности (хорошо удобренные пахатные, нейтральные, лесные почвы подлесом и т. д.) или там, где они односторонне господствуют в почве в течение всего года (засоленные почвы).

7. Антибиотическое действие селективированных штаммов актиномицета было более интенсивным против других лучистых грибов, изолированных из той же почвы, чем против штаммов бактерий. Этот вывод имеет тоже только общее значение.

Между лучистыми грибами как экономически самыми близкими организмами в почве господствуют условия повышенной конкуренции. В ходе естественной селекции размножаются главным образом те штаммы, антибиотическое действие которых проявляется в первую очередь против других лучистых грибов. Такая тенденция особенно имеет место в таких почвенных условиях, где взаимное влияние этих организмов происходит более интенсивно. Таким образом будет ясно, почему получается самая активная флора лучистых грибов с одной стороны из нединамичных засоленных почв, а с другой стороны из хорошо обработанных культурных почв. В первом случае повышенный взаимный антагонизм является результатом одностороннего населения лучистых грибов в микрофлоре засоленных почв и прочной господствующей роли этих организмов в годовом периоде микробиальных процессов. В случае культурных почв, имеющих благоприятную динамику и интенсивную жизнь, увеличивается тот период деятельности лучистых грибов, который на определенной стадии года, на определенной степени минерализации протекает до известной степени обособленно от бактерий и грибов.

## Antibiotic Activity of the Actinomycetes Flora in the Soils of Hungary

I. SZABÓ

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

### Summary

The paper is a description of attempts to disclose the relations of the physicochemical and biological state of soils to the antibiotic activity in artificial media of microorganisms, primarily ay fungi, growing in those soils. In other words, it seeks to answer the question, from which soils it is best to grow strains of high antibiotic activity for use in agriculture and industry.



**Methods.** Aqueous suspensions of soil samples were layered in Jensen's casein-glucose agar and incubated at 28° C for 7 to 10 days. The ray fungi obtained were isolated in large numbers and purified by spreading. The pure cultures were then examined on 9 media, each of a different composition, for their cultural qualities. In addition, their growth and micromorphology were studied in the moisture chamber and on agar films. Strains identical on the evidence of their cultural properties and, of course, originating from the identical soil, were grouped, and each group was distinguished by a separate capital letter. Fig. 1 shows the selection of 17 actinomycetes strains (I to XVII) isolated from a sandy brown forest soil. These strains fell into 6 cultural groups (A to F). Thereafter, the strains derived from the same soil were examined for their mutual antibiotic activities. The most frequently occurring bacterial strains isolated on bouillon-peptone-glucose agar from the same soil, were included in these examinations. On the evidence of the antibiotic activity and sensitivity spectra, the strains belonging to the individual cultural groups were then further differentiated. Fig. 1 shows that the six (A to F) groups fell into seven subgroups (Bts7 to 13), designated as antibiotic strain types. This was because of the four strains in the cultural group D, the one marked VIII differed markedly in respect of antibiotic behaviour and sensitivity from those marked IX to XI, although otherwise the latter were very similar to the former. Selections similar to those described above were made in the microflora of 34 soils of Hungary. Subsequently, the activity conditions of the individual soil microfloras were always compared by comparing the antibiotic strain type aggregates of the various soils.

The antibiotic activity and sensitivity spectra of the strains were determined on bouillon-peptone-glucose-ammoniumphosphate agar (Szabó, 1954) with the aid of the vital drop-on-plate method. This medium is particularly favourable to the rapid growth of ray fungi and an abundant formation of the substrate mycelium. Besides, numerous earlier comparative studies of the author pointed to this medium as being the most advantageous from the point of view of antibiotic production. Bacterial cultures were precultured in this medium for 30 to 35 hours, and ray fungi for 4 to 6 days. With ray fungi utilized as tests, spore suspensions of cultures pretreated on glucose-asparagin agar were used, and when these were not available, mycelium suspensions were employed. The organisms to be used as tests were poured in plate form, and the respective antagonists were transferred to the surface of the solidified plates in the form of a mass of bacteria or mycelia cut out partly with („Scheibentest") and partly without, agar. Inhibition data were read for the first time 20 hours following incubation at 28° C. Subsequently, the plates of a few ray fungi and bacteria, which were slow in growing, were controlled from hour to hour and the primary conditions of inhibition were registered. Apart from one or two exceptions, the inhibition data remained readable for 30 to 35 hours.

The inhibitory action of the actinomycetes strains to six test organisms (*E. coli*, *B. subtilis*, *Mycobacterium Mucosum* M-34, *Penicillium granulatum*, *Actinomyces griseus* M-15, and *Actinomyces* sp.) was also studied with the hole plate method („Lochtestmethode"). The strains were grown in cultures shaken in a liquid bouillon-peptone-glucose-ammoniumphosphate medium, at 28° C. Activity was controlled every second day, with advancing fermentation.

**Results.** The data concerning the soils involved in the study are listed in Tables 2. The successive vertical columns contain the following details, viz.: serial No. (1); characteristics of the soil and habitat (2); date of test (3); water content in % (4); total of aerobic and anaerobic bacteria per 1 g of moist soil (5); total of fungi per 1 g of soil (6); total of Actinomycetes per 1g of soil (7); percentage Actinomycetes (8); saccharase activity (9); percentage humus (10); total nitrogen, % (11); pH (12); CaCO<sub>3</sub> (13); stickiness (14); hy (15); colour of soil (16). The soils under serial Nos. 1 to 8 are acid forest soils with complete leaching; Nos. 9 and 10, acacia and alder-bearing forest soils respectively; Nos. 11 and 12, calcium-free alkaline soils improved by afforestation; No. 13 is an oak-bearing intermediate alkaline soil; No. 14, a calcareous alkaline soil; Nos 15 and 16, hothouse soils; No. 17, a calcareous loamy garden soil; Nos. 18 to 22 are brown forest soils under cultivation; Nos. 23 to 28, loose sandy forest soils under tillage; while No. 29 is a sample of dust from the roadway.

Tables 1 and 4 to 7 show, on the chessboard pattern, the mutual activity and sensitivity spectra of the antibiotic strain types of bacteria and ray fungi in the microflora of a few soils. In each table, the inhibitory action of the strain types indicated by different numbers in the first horizontal row can be read in the columns beneath the individual numbers, for each of the strains named in the first vertical row. The numerals in the columns give the radii of the inhibitory zones in millimetres, *g* meaning inhibition around 1 mm, and *O* the absence of inhibitory effect. That part of each table which contains the data referring to the mutual interaction of ray fungi is conspicuously enframed by a fat black line. For instance, in Table 1 (soil No. 19), Cr 1 to 6 are bacterial strains, while Cr 7 to 12 are actinomycetes. Table 4 shows the data concerning the mutual interaction of the antibiotic strain types in the microflora of soil No. 2; Table 5 shows those of soil No. 27; Table 6, of soil No. 14; and, finally, Table 7 indicates those referring to soil No. 9.

In Table 3 a summary of the inhibition data of the antibiotic strain types cultured in all 34 soils are presented. The horizontal rows in it indicate the serial number of the soil (1); num-



ber of selected bacterial strain types (2); ditto of actinomycetes strain types (3); number of contrastings (4); total number of inhibitions (5); ditto in % (6); The table goes into deeper details concerning inhibition, for it also shows the total number of contrastings (7), total inhibition (8), and the length of the radii of the inhibition zones in their order of magnitude (9). Of course, the total contrastings stated refer only to the strain types selected ultimately. Thus, for instance, in regard to soil No. 22, 49 contrastings of 7 actinomycetes strains (Fig. 1, selection sketch) are stated, whereas originally the 17 actinomycetes strains (I to XVII) had been contrasted in 289 different ways. Table 3 is supplemented with the data of the following 5 soils, viz.: — No. 30, a brown forest soil under cultivation; No. 31, a dark-coloured calcareous forest soil; No. 32, a skeletal meadow soil with shallow topsoil; No. 33, a slightly leached oak-bearing forest loam; No. 34, hothouse soil.

Table 8 is a summary of the data in Table 3. The headings are as follows: microorganisms contrasted (1); number of contrastings (2); total inhibition and total inhibition in % (3); intensity of inhibitions ranging from 1 to 5, 5 to 10, and above 10 mm, also expressed as percentages (4).

Table 9 shows the antibiotic action of 162 Actinomycetes strain types against six test organisms. Heading of vertical columns: microbes tested (1); with vital drop-on-plate method (2); with hole plate method (3); total number of inhibitions (4); length of radii of inhibition zones between the ranges 1 to 5, 5 to 10, and above 10 mm (5).

According to what has been said in the foregoing, the activity of the microbe population was measured primarily by the behaviour towards one another of the strains of identical origin. It was by the data in the literature concerning the natural role of antibiotic substances, that the author was prompted to adopt this novel experimental solution. The conclusions are the following.

1. The actinomycetes flora of acid forest soils with marked leaching is of relatively lesser antibiotic activity.

2. The Actinomycetes strains of all types of cultivated soils are generally of more marked antibiotic action.

3. Certain cultivated loose sandy soils are particularly conspicuous for their richness in active antagonistic actinomycetes strains.

4. Among the solonetz-type alkaline soils those in the most unfavourable physicochemical state appear to contain the most active actinomycetes strains.

5. It does not seem possible to establish the existence of definite relationships between the momentary organic-matter contents, richness in microbes, or saccharase enzyme activity of the soils, on the one hand, and the antibiotic activity of the isolated strains, on the other hand.

6. Generally speaking, the markedly antibiotic actinomycetes strains are to be found in soils, in which they have increased chances to be active (well fertilized arable land, neutral forest soils, etc.), or where they indisputably dominate the dynamics of the soil throughout the year. (alkaline soils; etc.).

7. The antibiotic effect of the selected Actinomycetes strains seems to be much more intensive against other ray fungi isolated from their own soils, than against bacterial strains originating from the same soils. However, this finding, too, is only valid in a general sense.

Among the ray fungi, as organisms of close ecological affinity, there exist conditions of marked competition. In the course of natural selection, those strains have a greater tendency to multiply, which display an antibiotic capacity primarily towards other ray fungi. This tendency particularly asserts itself under soil conditions, in which these organisms influence one another in a more vigorous manner. This explains why the markedly antibiotic actinomycetes strains are found on the one hand in adynamic alkaline soils, and on the other in soils under rational cultivation. In the first type of soils, the increased mutual antagonism is the consequence of the onesidedly actinomycetes population of their microflora and the lasting dominance of these organisms in the microbial processes. In the second type, which comprises intensively living, dynamical, cultivated soils, that period of actinomycetes activity is enhanced, which proceeds at a certain time of the year, on a given level of mineralisation, and to a certain extent independently of the bacteria and fungi.