

Néhány antibiotikum készítmény hatása különböző rhizobium törzsekre

SOÓS TIVADAR és NAGY GÁBOR

Phylaxia Állami Oltóanyagtermelő Intézet, Budapest

A természetben az egyes mikroba-fajok között hasonlóan, mint a magasabbrendű élőlényeknél éles harc folyik a létért. A kutatók előtt régen ismert dolog, hogy ha a mikroorganizmust valamely ránézve idegen talajba visszük át, elpusztulhat. A pusztulás a fizikai (száradás, hőmérséklet) és kémiai (kedvezőtlen pH viszonyok stb.) okok mellett biológiai faktorokra is visszavezethető: az antagonista s közöttük az antibiotikumot termelő mikroorganizm-ek tevékenysége következtében beálló pusztulásra. KRASZILNYIKOV [6, 7], SZEGI [11] és több más kutató különböző talajokban antibiotikus anyagok felhalmozódását figyelte meg. A talajban lakó mikroorganizm-ek egymásra gyakorolt hatásában fontos szerep juthat egyes mikroorganizmusok antibiotikum termelésének, vagy más anyagcsere-termékének.

VISONA és társai [13], MELKUMAVA [9] vizsgálták a vöröshere és a lucerna gyökérzónájában élő rhizobiumoknak antagonistait és megállapították, hogy sok baktérium-faj, továbbá sugárgombák jelentős hányada gátlóhatást fejtett ki a rhizobiumokra.

HORVÁTH [1] megállapítja, hogy az antibiotikumokat ma már széles körben használják fel egyes pillangós virágú növények betegségeinek leküzdésére. Ezeknek az anyagoknak a rhizobiumokra gyakorolt hatása VINTIKA [12] szerint egyaránt jelentkezhet serkentésben és gátlásban.

Ezért fontosnak tartjuk megvizsgálni „in vitro”, hogy a keletkezett antibiotikumok milyen hatást gyakorolnak a Rhizonit oltóanyag termelésénél fölhasznált rhizobium-törzsekre.

Anyag és módszer

Vizsgálatainkhoz az ország különböző helyeiről származó, teljesítőképességre (gumóképzésre és nitrogénfixálásra) Soós [10] szerint megvizsgált baktérium törzseket bagar táptalajon izoláltuk és tartottuk fenn. A vizsgálathoz felhasznált rhizobium törzsek megoszlása a következő volt: lucerna (*Medicago sativa*) 17 törzs, somkoró

(*Melilotus albus*) 6 törzs, lóhere (*Trifolium pratense*) 10 törzs, borsó (*Pisum sativum*) 8 törzs, bükköny (*Vicia vilosa*) 10 törzs, szója (*Soja hispida*) 6 törzs, szarvaskerep (*Lotus corniculatus*) 3 törzs.

A törzsek antibiotikum érzékenységet petricsészében 5%-os (pH: 7) bablevest tartalmazó agaron és Capek agaron, a Humán Oltóanyagtermelő és Kutató Intézet által forgalombahozott Biotest-korongokkal mértük. A két táptalajon kapott eredményeket összehasonlítottuk. A 7 mm átmérőjű Biotest-korongok a következő mennyiségű hatóanyagot tartalmazták: penicillinből 3 IE, oxacillinből 10 γ , methicillinből 20 γ , chloramphenicolból 30 γ , streptomycinből 30 γ , oleandomycinből 30 γ , tetracyclinből 30 γ , neomycinből 100 γ , polymyxin-B-ből 15 γ , erythromycinből 10 γ , vancomycinből 50 γ , kanamycinből 30 γ , spiramycinből 30 γ , novobiocinből 30 γ , aureomycinből 30 γ , terramycinből 30 γ , penbritinből 10 γ , pyostacinból 30 γ -át korongonként.

Vizsgálati módszerünk a következő volt. A petricsészében kiöntött és megszilárdult táptalajra gégetamponnal szélesztettük szét a 24 óras, fiziológiás konyhasóoldattal lemosott baktérium szuszpenziót. Ezután a lemezeket 10 percig 37 C°-on szárítottuk, utána felületükön egymástól egyforma távolságban helyeztük el a korongokat. A petricsészéket 28 C°-on 42 óráig inkubáltuk, s ekkor elbíraltuk.

A törzsek érzékenységre a korongok körül kialakuló gátlási zóna átmérőjéből következtettünk. Amennyiben a gátlási zóna átmérője 20 mm-nél nagyobb volt, akkor a kérdéses törzset érzékenynek, 20–11 mm átmérőjű gátlási zónával mérsékeltlen érzékenynek, és 11 mm alatt rezisztensnek tekintettük. Kivételt képezett a polymyxin-B, amelynél az előbbi méretek a következőképpen alakultak: ha a gátlási zóna átmérője 11 mm felett volt, akkor a törzset érzékenynek, 9–11 mm között mérsékeltlen érzékenynek, és 9 mm alatt rezisztensnek tekintettük. A gátlási zóna nagyságát tolmérecével mértük.

I. táblázat

Antibiotikum érzékenységi vizsgálatok összesített eredményei

(1)	(2)																	
	Antibiotikum																	
Megvizsgált rhizobium törzsek	Penicillin	Oxacillin	Methicillin	(chloramphenicol)	Streptomycin	Oleandomycin	Tetracycline	Neomycin	Poly-B myxin	Brit-bromycin	Vancomycin	Kanamycin	Spiramycin	Novobiocin	Aureomycin	Terramycin	Penbrutin	Protactin
Lucerna (<i>Medicago sativa</i>) 17 törzs	É	—	—	—	13	—	13	—	1	—	1	—	—	1	5	13	—	—
	MÉ	17	17	17	1	—	4	17	3	17	4	10	17	5	12	4	—	—
Somkóró (<i>Melilotus albus</i>) 6 törzs	É	—	—	—	2	—	1	—	—	—	—	—	—	—	1	2	—	—
	MÉ	6	6	6	—	—	3	6	1	—	1	1	—	1	3	3	—	—
Lóhere (<i>Trifolium pratense</i>) 10 törzs	É	—	—	—	2	1	10	—	—	1	1	—	—	—	7	10	—	—
	MÉ	10	10	10	6	9	—	10	—	6	7	7	6	6	3	—	10	10
Borsó (<i>Pisum sativum</i>) 8 törzs	É	—	—	3	1	—	4	—	—	—	—	—	—	—	—	8	—	—
	MÉ	8	8	5	5	8	3	8	8	6	6	5	3	6	8	—	8	8
Bükköny (<i>Vicia villosa</i>) 10 törzs	É	—	—	—	—	—	6	—	—	—	—	—	—	—	3	5	—	—
	MÉ	10	10	10	6	10	2	10	—	5	5	8	2	5	3	4	10	10
Szója (<i>Soja hispida</i>) 6 törzs	É	—	—	—	3	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—
	MÉ	6	6	6	—	4	6	6	6	6	6	3	0	2	6	4	3	6
Szarvaskerep (<i>Lotus corniculatus</i>) 3 törzs	É	—	—	—	—	—	1	—	—	—	1	—	—	—	—	3	—	—
	MÉ	3	3	3	3	3	2	3	—	—	—	2	—	—	—	—	2	—
R	—	—	—	1	—	3	—	—	3	3	2	1	3	2	—	—	1	3

É = Érzékeny,

MÉ = Mérsékeltlen érzékeny,

R = Rezisztens

Eredmények és következtetések

Az antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok eredménye, amint az az 1. táblázaton látható, a következő volt: megállapítható, hogy a 60 levizsgált rhizobium törzs közül a legtöbb *érzékeny* a tetracyclin és a terramycin iránt, *mérsékelten érzékeny* a neomycin, kanamycin, aureomycin, erythromycin iránt, *rezisztens* a penicillin, oxacillin, penbritin, pyostacin, polymyxin-B, oleandomycin, methicillin, chloramphenicol, vancomycin, spiramycin, novobiocin, erythromycin iránt.

A táblázatból megállapíthatjuk azt is, hogy az összes levizsgált rhizobium törzs *mérsékelten érzékeny* volt a neomycin iránt, *rezisztens* a penicillin, az oxacillin és a pyostacin iránt. Míg ugyanaból a pillangós virágú növényből izolált baktérium törzsek is meglehetősen eltérő antibiotikum-érzékenységűnek bizonyultak, meggyezően KECSKÉS, MANNINGER [2, 3, 4], valamint KECSKÉS, MANNINGER és SOÓS [5] által végzett kísérletek eredményeivel.

A lucerna 5/4, a lucerna 5/6 jelzésű rhizobium törzsekre serkentően hatott a penicillin, oxacillin, methicillin, oleandomycin, erythromycin, penbritin és a pyostacin. A lucerna 18/63 jelzésű baktérium törzsre csak a penicillin hatott serkentően, míg a többi megvizsgált baktérium törzsnél serkentést nem észleltünk, egyetértve MANNINGER [8] vizsgálatának eredményeivel.

Összefoglalás

Rhizonit oltóanyag termelésére felhasználott 60 rhizobium törzs antibiotikum-érzékenységét tanulmányoztuk.

A vizsgálatra felhasználott 18 féle antibiotikum közül *leghatásosabb* volt a terramycin és a tetracyclin, *kevésbé hatott* a neomycin, kanamycin, aureomycin, ery-

thromycin, *hatástalan* volt a penicillin, oxacillin, pyostacin, penbritin, polymyxin-B, oleandomycin, methicillin, chloramphenicol, vancomycin, spiramycin, novobiocin, erythromycin. Megállapítottuk, hogy ugyanaból a pillangós virágú növényből izolált baktérium törzsek meglehetősen eltérő antibiotikum-érzékenységűeknek bizonyultak.

Irodalom

- [1] HORVÁTH, J.: Mikrobiológia. Mezőgazd. Kiadó. 1964.
- [2] KECSKÉS, M., & MANNINGER, E.: Prüfung der Resistenz von Rhizobien Stammgruppen Antibiotika und Sulfonamide. Naturwiss. 47. 172. 1960.
- [3] KECSKÉS, M., & MANNINGER, E.: Die Wirkung verschiedener Antibiotika auf das Wachstum der Rhizobien. Acta Mikrobiol. 8. 253–257. 1961.
- [4] KECSKÉS, M., & MANNINGER, E.: Effect of antibiotics in the growth of Rhizobia. Canad. J. Microbiology. 8. 157. 1962.
- [5] KECSKÉS, M., MANNINGER, E. & SOÓS, T.: Adatok az akác rhizobium baktériumok életani tulajdonságainak ismeretéhez. Agrokémia és Talajtan. 10. 523–528. 1961.
- [6] KRASZILNIKOV, N. A.: Aktinomicetű antagonisztű i antibioticeszkie vécseesztva. Izd. A. N. SSSR. Moskva–Leningrad. 1950.
- [7] KRASZILNIKOV, N. A.: Mikroorganizmü i podrodie pocsvü. Izv. A. N. SSSR. szer. biol. (2) 14. 1954.
- [8] MANNINGER, E.: Tanulmányok a rhizobiumok biológiájának köréből. Kandidátusi disszertáció. 1963.
- [9] MELKUMAVA, T. A.: Vzaimootnosenie klubov' kovüh bakterij l'ucernü mezdu szoboj i sz drugimi mikroorganizmami. Pocsvennűje iszsoedovan'ja v Azerbajdzsanzszoj SSR. Baku. 13. 163–172. 1965.
- [10] SOÓS, T.: Rhizonit oltóanyag előállítása és terméshatásának vizsgálata. Disszertáció. Gödöllő. 1960.
- [11] SZEGI, J.: A talajban élő sugárgombák hatása az *Azotobacter chroococcum* fejlődésére természetes viszonyok között. Agrokémia és Talajtan 8. 153–159. 1959.
- [12] VINTKA, J.: Rostl. Vyroba (Praha) 4, 1958.
- [13] VISONA, L. & TRADIEUX, P.: Antagonistes des Rhizobium dans la Rhizosphere du tréfle et de la luzerne. Ann. Inst. Pasteur. Paris. (3) 297–302. 1964.
- [14] ZALAY, L., GYARMATI, I. EGLER, L.: Újabb antibiotikumok kipróbálása papírkorong módszerrel. Kísérletes Orvostudomány. 18. 285–290. 1966.

Érkezett: 1966. november 2.

The Effect of a Few Antibiotic Preparations on Various Rhizobium Strains

T. SOÓS and G. NAGY

Phylaxia State Serum Institute, Budapest

Summary

The antibiotic sensitivity of the 60 rhizobium strains which were used for "Rhizonit" inoculum production, (17 *Medicago sativa* strains, 6 *Melilotus albus* strains, 10 *Trifolium pratense* strains, 8 *Pisum sativum* strains, 10 *Vicia villosa* strains, 6 *Soja hispida* strains, 3 *Lotus corniculatus* strains) was studied. The nodule formation

and nitrogen fixation of the strains were previously examined.

The preservation and antibiotic sensitivity tests of the strains were done on 5% bean-agar and Czapek-agar. „Human Biotest” discs were used in the sensitivity investigations, which consisted of the following 18 kinds of antibiotics: 3 IU from

penicillin 10 γ of oxacillin, 20 γ of methicillin, 30 γ of chloramphenicol, 30 γ of streptomycin, 30 γ of oleandomycin, 30 γ of tetracycline, 100 γ of neomycin, 15 γ of polymyxin — B, 10 γ of erythromycin, 50 γ of vancomycin, 30 γ of kanamycin, 30 γ of spiramycin 30 γ of novobiocin, 30 γ of aureomycin, 30 γ of terramycin, 10 γ of penbritin, 30 γ of pyostacin.

It was found that from among the 60 investigated rhizobium strains most were sensitive to tetracycline and terramycin, moderately sensitive to neomycin, kanamycin, aureomycin, erythromycin, resistant to penicillin, oxacillin, pyostacin, penbritin, polymyxin — B, oleandomycin, methicillin, chloramphenicol, vancomycin, spiramycin, novobiocin, erythromycin.

It could further be established, that all

the examined rhizobium strains were moderately sensitive to neomycin, kanamycin, aureomycin, erythromycin, resistant to penicillin, oxacillin, pyostacin, penbritin, polymyxin, — B, oleandomycin, methicillin, chloramphenicol, vancomycin, spiramycin, novobiocin, erythromycin. The bacterium strains isolated from the same legume plant proved to have rather divergent antibiotic sensitivity.

Finally the stimulating effect of penicillin, oxacillin, methicillin, oleandomycin, erythromycin, penbritin and pyostacin on certain strains was observed.

Table 1. Summarized results of antibiotic sensitivity tests. (1) Examined rhizobium strains. (2) Antibiotics. E = sensitive, ME = moderately sensitive, R = resistant.

Влияние некоторых антибиотических препаратов на различные штаммы клубеньковых бактерий

Т. ШООШ и Г. НАДЬ

Государственный институт биологических препаратов «Филаксия», Будапешт

Резюме

Авторы изучали чувствительность к антибиотикам 60 штаммов клубеньковых бактерий (*Medicago sativa* 17 штаммов, *Melilotus albus* 6 штаммов, *Trifolium pratense* 10 штаммов, *Pisum sativum* 8 штаммов, *Vicia villosa* 10 штаммов, *Soja hispida* 6 штаммов, *Lotus corniculatus* 3 штамма) применяемых для производства препарата Ризонита. Штаммы раньше проверялись на способность образования клубней и фиксации азота.

Для поддержания штаммов и изучения чувствительности их были использованы агар, содержащий в себе экстракт фасоли (3%) и агар Чапека. Для исследования применялись диски «Human—Biotest», которые содержали в себе 18 различных антибиотиков: пенициллин, оксациллин, метициллин, хлорамфениколь, стрептомицин, олеандомицин, тетрациклин, неомицин, полимиксин-б, эритромицин, ванкомицин, канамицин, спирамицин, новобиоцин, ауреомицин, тетраамицин, пенбритин и пиостацин.

Было установлено, что из 60 исследованных штаммов клубеньковых бактерий, большинство их были чувствительны к тетрациклину и тетраамицину, умеренно чувствительны к неомицину, канамицину, аурео-

мицину и эритромицину, резистентны к пенициллину, оксациллину, пиостацину, пенбритину, полимиксину-б, олеандомицину, метициллину, хлорамфениколю, ванкомицину, спирамицину, новобиоцину и эритромицину.

Было установлено, что все исследованные штаммы клубеньковых бактерий умеренно чувствительны к неомицину, канамицину, ауреомицину, эритромицину, резистентны к пенициллину, оксациллину, пиостацину, пенбритину, полимиксину-б, олеандомицину, метициллину, хлорамфениколю, ванкомицину, спирамицину, новобиоцину и эритромицину.

Наблюдала, что бактериальные штаммы, изолированные из того же бобового растения, показали довольно различную чувствительность к антибиотикам. Наконец, наблюдали, что на некоторые штаммы стимулирующе действовали пенициллин, оксациллин, метициллин, олеандомицин, эритромицин, пенбритин и пиостацин.

Табл. 1. Сводные результаты исследования по чувствительности к антибиотикам. (1) Штаммы изученных клубеньковых бактерий. (2) Антибиотики. E = чувствительны, ME = умеренно-чувствительны, R = резистентны.