

Alacsony hőmérsékleten tárolt, fermentált rhizobium törzsek csíraszámának vizsgálata

MANNINGER ERNŐ és SOÓS TIVADAR

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete és
Phylaxia Állami Oltóanyagtermelő Intézet, Budapest

A rhizobium oltóanyagtermeléshez a legtöbb helyen ma már fermentált tenyészeteket használnak fel. Az oltóanyag hatásosságának biztosítása érdekében nemcsak a kész oltóanyagot, hanem a fermentleveket is felhasználásuk (a vívóanyaghoz történő hozzáadásuk) előtt különböző vizsgálatnak kellene alávetni. A vizsgálatok elvégzésére kb. 2 hónap szükséges.

Ezért célunk volt annak megállapítása, hogy a $+4\text{ C}^\circ$ -on tárolt különböző rhizobium törzsekből készült fermentlevek milyen csíraszám változásokat mutatnak ez idő alatt.

Módszer

15 literes üvegedényekben helyeztük el a fermentleveket, amelyeket $+4\text{ C}^\circ$ hőmérsékleten tároltunk. Az előkísérlet során minden héten kétszer (átlag három naponként), a főkísérlethez hetenként vettünk mintákat az üveg két szintjéből 1 atm. sűrített steriis levegő segítségével (1. ábra). A mintáinkból sterilis fiziológiás oldatokkal 1 : 50-es hígításokat készítettünk és ismétlésben négy-négy hígítási fokozatból lemezöntést végeztünk babagar táptalajjal. Az agar lemezeket 27 C° -os termosztátban inkubáltuk és a csíraszámot 48 óra elteltével határoztuk meg.

Előkísérletünkhöz lucerna és csillagfürt, a főkísérlethez lucerna, lóhere és borsó növényekből izolált, tenyészedenyben hatásosnak bizonyult fermentált törzseket (továbbiakban lucerna, lóhere stb. fermentlevek) használtunk [1].

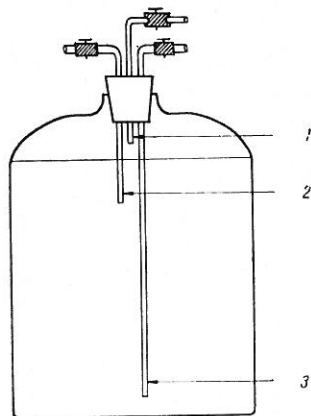
Eredmények és következtetések

Mivel a két szint mintáinak adatai között számottevő különbség nem mutatkozott, ezért az ábrázolt eredmények a két szint átlagértékei.

Az előkísérlet eredményeiből megállapítható volt, hogy általában a csírák lényegesebb csökkenése a második hónap végén sem következett be. Mindazonáltal a kapott szám adatok abszolút értékeikben nem fogadhatók el, mert a csíraszám erősen hullámzó volta nem a lemezöntés szokásos hibáiból adódott, hanem mint a későbbiekben kiderítettük, a fermentált baktériumok erős nyáktermelő képessége miatt.

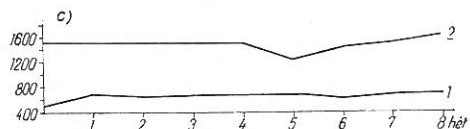
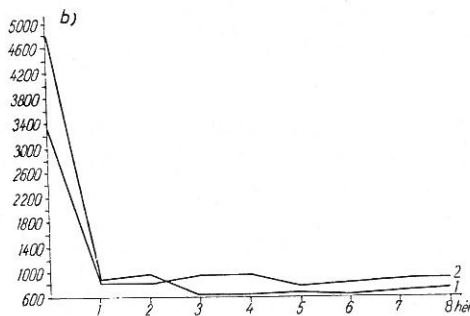
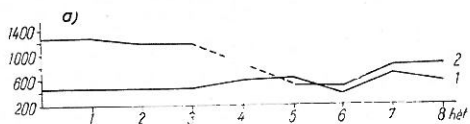
Ezért a főkísérletben az első hígítási fokozatot egy órán át rázattuk. E vizsgálatokat az előkísérlettel azonos módon és elrendezésben végeztük. E kísérletek 2 hónapon át végzett megfigyelései már megbízható abszolút értékeket szolgáltatottak. Azt mutatták, hogy ennyi idő után sem tapasztalható

a lucerna (*Medicago sativa*) és lóhere (*Trifolium pratense*) növényekből izolált baktériumok titerében lényeges változás a borsóból (*Pisum sativum*) izolált és általunk vizsgált törzsek kivételével (2. ábra). Utóbbi esetben a titerérték már 1 heti tárolás után az eredetinek kb. ötödére csökkent.



1. ábra

A fermentlé tárolására szolgáló edényzet.
1. Sűrített levegő befűvése mintavételkor. 2. Felső szintű mintavétel-cső. 3. Alsó szintű mintavétel-cső



2. ábra

Az 1. és 2. sz. baktérium törzsek fermentleveinek csíraszám változásai. Fermentlevek: a) lucerna, b) borsó, c) lóhere.
Függőleges tengely: csíraszám

Vizsgálatainkból tehát megállapítható, hogy a lucerna és lóhere fermentlevek 2 hónappal a felhasználásuk előtt elkészíthetők, ugyanakkor a borsó fermentlevek tárolása nem ajánlható.

A lucerna és lóhere fermentleveknek 2 hónapig történő tárolhatóságával, a bevezetésben említett célkitűzésen felül, nagyobb mennyiségű oltóanyag előállítására esetében is biztosítható a termelés zavartalansága újabb fermentorok létesítésének költsége nélkül is.

Köszönetünket fejezzük ki a Fermentációs Osztály vezetőjének és dolgozóinak a fermentlevek elkészítéséért.

Összefoglalás

1. A rhizobium oltóanyagok előállításához használatos fermentlevek vizsgálata indokolt. Ez kb. 2 hónapot vesz igénybe, tehát fontos ismerni, hogy a csíraszám ez idő alatt hogyan változik.

2. Ezért megvizsgáltuk a lucerna, a lóhere és a borsó növényekből

izolált rhizobium fermentleveinek csíraszám változását +4 C°-on történő tárolás folyamán.

3. A vizsgálatok szerint a tárolás folyamán a lucerna és a lóhere fermentlé titerértékei számottevően nem változtak, ugyanakkor a borsó fermentlé titerértéke ötödére csökkent.

Irodalom

[1] Soós, T.: A Rhizonit oltóanyag előállítására és terménynövelő hatásának vizsgálata. Egyetemi doktori értekezés. Gödöllő. 1960.

Érkezett: 1968. január 18.

Investigation of the Cell Number of Fermented Rhizobium Strains Stored at Low Temperature

E. MANNINGER and T. SOÓS

Research Institute of Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences and Phylaxia State Serum Institute, Budapest

Summary

1. The investigation of the ferment liquids used for the production of rhizobium inocula is necessary. This requires about two months, so it is important to know how the cell number changes during this time.

2. The cell number changes of the stored ferment liquids of rhizobium strains were studied during two months of storage at 4°C. The effectivity of rhizobia isolated from lucerne (*Medicago sativa*), clover (*Trifolium pratense*) and pea (*Pisum sativum*) plants was examined earlier in plant tests.

3. According to these investigations the titre values of the cultures of rhizobia isolated from lucerne and clover root nodules, multiplied in fermentors did not change, at the same time, the titre values of bacterial cultures, isolated from pea nodules, decreased to one fifth (Fig. 2). With the possibility of storing the ferment liquid of the rhizobia isolated from lucerne and clover for two months, the undisturbed production of higher amounts of inocula is possible without having to put to work new fermentors.

Figure 1. Recept for the storage of ferment liquid. 1. The blowing of compressed air at the taking of the sample. 2. Upper level sampling tube. 3. Under level sampling tube.

Figure 2. The cell number change of the ferment liquid of the No. 1 and No. 2 bacterial strains. Ferment liquids: a) lucerne, b) pea, c) clover. Ordinate axis: cell number.

Die Keimzahl-Veränderungen der im Fermentor vermehrten und bei niedriger Temperatur aufbewahrten Rhizobien-Stämme

E. MANNINGER und T. SOÓS

Forschungsinstitut für Bodenkunde und Agrikulturchemie der Ungarischen Akademie der Wissenschaften und Staatliches Impfstoffwerk »Phylaxia«, Budapest

Zusammenfassung

1. Die Prüfung der für Rhizobien-Impfstoffe gebräuchlichen, durchgelüfteten Kulturen ist begründet. Dies nimmt ungefähr zwei Monate in Anspruch, dafür ist es wichtig zu wissen, welche Veränderungen inzwischen die Keimzahlen aufweisen.

2. Deswegen wurden die Veränderungen der Keimzahlen der durchgelüfteten Kulturen der von Luzerne (*Medicago sativa*), Klee (*Trifolium pratense*), und Erbse

(*Pisum sativum*) isolierten und mit Pflanzentest auf ihre Wirksamkeit geprüften Rhizobien-Stämme zwei Monate hindurch bei $+4^{\circ}\text{C}$ Aufbewahrung untersucht.

3. Die Untersuchungen zeigten, dass die Werte der Keimzahlen der von Luzerne und Klee isolierten und in Fermentoren vermehrten Rhizobien-Stämme nur geringe Veränderungen aufweisen, dagegen fiel die Keimzahl des von der Erbse entnommenen Stammes auf ein Fünftel (Abb. 2).

Mit der Aufbewahrungsmöglichkeit der durchgelüfteten Kulturen der von Luzerne und Klee isolierten Rhizobien zwei Monate hindurch, ist auch die Möglichkeit für die Herstellung grösserer Mengen von Impfstoffen und die Errichtung neuer Fermentoren ohne Schwierigkeiten gegeben.

Abb. 1. Apparat zur Aufbewahrung der durchgelüfteten Kulturen. 1. Eingang der Pressluft, 2. Oberes Rohr. 3. Unteres Rohr zur Probeentnahme.

Abb. 2. Die Keimzahl-Veränderungen der Bakterien-Stämme Nr. 1 und 2. Durchgelüftete Kulturen: a) Luzerne, b) Erbse, c) Klee. Senkrechte Achse: Keimzahlen der Bakterien.

Изучение числа бактерий ферментированных, выдержанных при низкой температуре штаммов клубеньковых бактерий

Е. МАННИНГЕР и Т. ШООШ

Научно-исследовательский институт почвоведения и агрохимии А. Н. Венгрии и Государственный институт по производству вакцин «Филаксия», Будапешт

Резюме

1. Для получения прививочного материала клубеньковых бактерий необходимо изучение употребляемой ферментативной жидкости. Это требует примерно два месяца, поэтому важно знать как изменяется число бактерий за это время.

2. Наблюдали за изменением числа бактерий в ферментативной жидкости клубеньковых бактерий, выделенных из люцерны (*Medicago sativa*), клевера (*Trifolium pratense*) и гороха (*Pisum sativum*) и проверенных на продуктивность в опытах с растениями, в течение 2-х месячного хранения при температуре $+4^{\circ}\text{C}$.

3. По данным исследований в продолжении хранения величины титров культур, размножившихся в ферменторе штаммов клубеньковых бактерий, выделенных из люцерны и клевера, в значительной степени не изменялись, в то же время величина титров бактериальных культур, выделенных из гороха снизилась на одну пятую часть (Рис. 2).

Двухмесячное хранение ферментативной жидкости клубеньковых бактерий, выделенных из люцерны и клевера, даже в случае приготовления большого количества прививочного материала, может обеспечить бесперебойное создание новых ферменторов без добавочных затрат.

Рис. 1. Сосуды использованные для хранения ферментативной жидкости. (1) Вдувание сгущенного воздуха в момент взятия образцов. (2) Трубка для взятия образцов из верхних слоев. (3) Трубка для взятия образцов из нижних слоев.

Рис. 2. Изменение числа бактерий в ферментативной жидкости из бактериальных штаммов 1 и 2. Ферментативная жидкость. а) люцерна, б) горох, в) клевер. Вертикальная ось — число бактерий.