

## Szérodiaosztikai próbák felhasználása a szőlő rizoszféra baktériumainak meghatározására

MANNINGER ERNŐ és WITKOVSKY ENDRE

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézet és Országos Szőlészeti és Borászati Kutató Intézet, Budapest

A Kadarka (*Vitis vinifera* ssp. *sativa* proles *pontica* subproles *balkanica* A. N. Negrul) rizoszféra mikroorganizmusainak megismerése céljából korábban izolált baktérium-törzseknek antibiotikumokkal szembeni érzékenységét és antibiotikum-termelését vizsgáltuk (MANNINGER, WITKOVSKY és KECSKÉS [3], WITKOVSKY, MURÁNYI, KECSKÉS és MANNINGER [6]). A további munkák egyik célkitűzése e baktérium-törzsek meghatározása volt. Azt reméltük, hogy e munkánk megkönnyítésére szérodiaosztikai próbák felhasználhatók lesznek azáltal, hogy a fajazonosnak mutatkozó törzsek szelektió révén kizárhatjuk a hosszadalmas meghatározási munkából.

Úgy véltük, hogy kedvező esetben további, más célkitűzésünk megoldásához is fel tudjuk használni ezeket az eljárásokat, mint pl. különböző szőlőfajták rizoszférájából származó baktériumok összehasonlító vizsgálatához. Ezekon felül azért is vizsgáltuk e kérdést, mivel az utóbbi időben mind szélesebb körben alkalmazzák a szerológiai módszereket talajbakteriológiai vonatkozásban és a szérodiaosztikai próbák a baktériumfajok meghatározásához nemzetközileg használt és elismert eljárások.

### Anyag és módszer

A szérodiaosztikai vizsgáló eljárások elvégzéséhez 62 rizoszféra baktérium-törzs közül 11-et választottunk ki akként, hogy azok között eltérő teleptípusú törzsek, de azonos teleptípusúak is szerepeljenek. Nem minden törzsből tudtunk megfelelő titerértékű vérsavót előállítani, aminek feltételezett okára a későbbiekben rámutatunk. Ennélfogva tehát a továbbiakban csak azzal a 10 baktérium-törzssel foglalkozunk, amelyeknek segítségével elő-

állított savókkal a szérodiaosztikai próbákat elvégeztük.

E törzsek felhasználásával ellenanyag-tartalmú vérsavókat állítottunk elő házi-nyulak immunizálása (néhány esetben hiperimmunizálása) útján a következő módon: A nyulak oltásához ferde hús- és Czapek-agaron 28° C-on nőtt 24 órás baktérium-törzseket szuszpendáltunk sterilis fiziológiás NaCl oldatban és a szuszpenziókat a Brown-féle nefelométeres sorozat negyedik fokának megfelelő sűrűségeig hígítottuk. Az így elkészített szuszpenziók 0,5; 1,0; 2,0; majd 4,0 ml-nyi mennyiségét 3 naponként megkezdettük a nyulak fülvénájába. Általában 4 oltást végeztünk, s az utolsó oltást követő 7., illetve 8. napon próbavért vettünk és ha ez megfelelő titerű volt, akkor a nyulakat az arteria carotison át elvéreztettük. Vizsgálataink során előfordult, hogy több törzsből nem kaptunk megfelelő titerű savót. Ezekben az esetekben az immunizálást még folytattuk esetenként 4–4 ml-nyi baktérium-suszpenzió befecskendezésével. Mindazonáltal így is egy esetben (a 3/B jelű törzs esetében) előfordult, hogy 7, sőt 8 alkalommal történt immunizálás után sem kaptunk kimutatható titerértékű savót. Az elvéreztetéskor mérőhengerben felfogott vért először 2 óráig 37° C-os termosztátban, majd 24 óráig jégszekrényben tartottuk a savó kiválásának megkönnyítésére. A kivált vérsavókat leöntöttük, majd lecentrifugáltuk. Az így vérsajtmentessé lett savókat G5-ös baktériumszűrőn csírátlanítottuk, majd a steril savóhoz annyi karbolsavat adtunk, hogy a savóban a konzerválószer koncentrációja 0,5% legyen, azután a savókat jégszekrényben tároltuk. A vérsavók titerértékének megállapítására a vérsavóknak 0,5 ml-nyi mennyiségű 1 : 10, 1 : 20 stb. hígításait fiziológiás konyhasóoldattal agglutinációs

esővekben sorozatban állítottuk elő. A esővekbe ugyanannyi, tehát 0,5 ml-nyi baktérium-szuszpenziót adtunk, a vérsavó hígításokban tehát 1:20, 1:40, 1:80 stb. lett a vérsavó aránya. A esővek alapos összerázása után azokat 24 órára 37° C-os termosztátba tettük, azután elbíraltuk. Minden vizsgálat alkalmával kontroll esőveket is készítettünk, 0,5 ml konyhasó-oldattal és 0,5 ml baktérium-szuszpenzióval annak megállapítására, hogy a baktérium-törzs spontán is (vérsavó nélkül) nem agglutinálódik-e? Kitént, hogy a vérsavók közül egyik-másik tűrhető, de legfeljebb 1:2560 titer mutatott, míg a többi ennél kisebbet. Ennek okát még nem ismerjük, feltételezésünket ezzel kapcsolatban a későbbiekben ismertetjük. Az agglutinációs próbákat azonosan végeztük, mint a titerérték megállapítását.

Az agargéldiffúziós próbát a következőképpen készített táptalajjal végeztük el: 2%-os agaroldathoz mennyiségének 5%-át kitevő kevés vízben oldott  $\text{CaCl}_2$ -ot keverünk. A kivált csapadékot kb. 3-4 órán át úgy üleptjük, hogy közben az agart 90° C-on tartjuk. Az üleptés után anélkül, hogy az agart helyéről elmozdítanánk és felkavarnánk, meredni hagyjuk. Kihülés után a csapadékot tartalmazó réteget az agar aljáról levágjuk. Az agar-nak kristálytisztának kell lennie. A tiszta agart 1  $\text{cm}^3$  nagyságú darabokra vágjuk, majd 72 órán keresztül áramló vízvezeték víz ellenében dializáljuk. Ezután a desztilláltvízes dialízis következik. A dialízis végpontját az jelzi, ha a desztilláltvízes dializátumban ezüstnitráttal már nem kapunk csapadékot. Ezután ismét felolvasztjuk az agart és 0,1%-nyi merthiolátot teszünk hozzá. A reakció könnyebb elbírálására 0,03%-nyi metiloranzsot teszünk az agarba. A pH-t külön beállítani nem kell, ez 5 és 6 között van.

Sőtét látóterben vizsgáltuk, hogy baktérium-törzseink rendelkeznek-e aktív mozgással. Megállapítottuk a Gram-féle festéssel szembeni viselkedésüket is. Meghatároztuk mikroszkóp alatt a fukszinnal festett sejtek alakját is.

### Eredmények és következtetések

A szerológiai vizsgálatok céljára kiválasztott és megfelelő titerértéket adó baktérium-törzseink között 7 Gram-negatív és 3 Gram-pozitív volt. Ezek közül egy S-, hat M- és három R- teleptípusba tartozott. Az S- és hat M- típusú törzs fényes, s a három R- típusú fénytelen volt. Ezeket az 1. ábrán láthatjuk. Az összes fényképen

28° C-on hús- és Czapek-agaron nőtt tenyészeteket mutatunk be. A három hasonló R-típusú törzset szándékosan vontuk be kísérleteinkbe. Valamennyi törzsünk aktív mozgással rendelkező, pálcika alakú baktérium volt. Ezért is gondoltunk elsőként a agglutinációs próba felhasználására élő tenyészetek segítségével előállított savókkal.

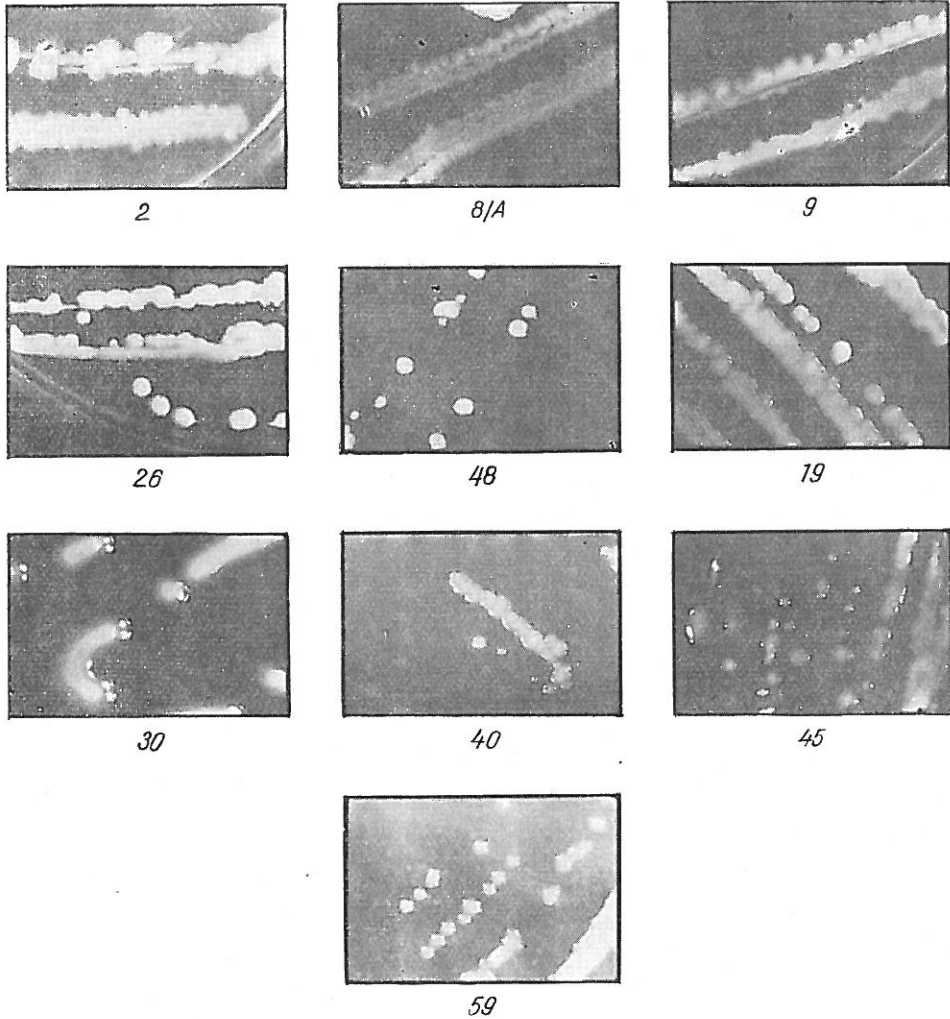
A 10 savóval valamennyi (62 db) kezeletlen (élő) baktériumtörzsünket agglutináltuk. Az e savókkal végzett agglutinációk eredményét az 1. táblázat mutatja, amelyben szereplő számok titerértékek, eltekintve azoktól a törzsektől, amelyek egyetlen vérsavóval sem adtak reakciót. Általában a homológ törzssel azonos és az attól egy fokozattal kisebb agglutinációkat vettük pozitívnak. A homológ törzssel kapott titerértéket vastag keretbe foglaltuk. Az 1. táblázatból látható, hogy a 2-es savó a homológ törzsén kívül a 8/A, a 9 és a 10 jelű törzseket agglutinálta. Ebből következik, hogy a 2, a 8/A, a 9 és a 10 jelű törzsek antigénstruktúrája megegyező, tehát úgy látszik, hogy ezek a törzsek azonos fajba tartoznak. Összehasonlítva a 2, a 8/A, és a 9 jelű törzseknek telepítusát, látható, hogy igen hasonló e három törzs egymáshoz. E morfológiai hasonlóságon felül több, más biokémiai reakciója is megegyezik a törzseknek, így pl. a katalaze termelés stb.

A pozitív eset megjelölésére használt és előbb mondott olyan szempont, hogy a fajazonosnak ítéltet baktérium-törzs titerértéke legfeljebb egy fokozattal lehet alacsonyabb a homológ törzsetől, úgy látszik, hogy talán nagyon szigorú kritérium, mert ha megvizsgáljuk a 8/A savóval kapott titerértékeket, látjuk, hogy ez csak a 10 jelű törzset agglutinálta egy fokozattal alacsonyabb mértékben, míg a vele azonos és a 9 jelű törzseket több (pl. 2, illetve 3) hígítási fokozattal, noha kétségtelen, hogy ezek antigénstruktúrája egyező.

Ugyancsak azonos fajta a 28, a 30, valamint a 45, az 51 és S2 jelű, ezenkívül a 48 és 86 jelű törzsek.

Mivel a Gram-féle festéssel szemben tanúsított viselkedésük, valamint a morfológiai sajátosságok, de a biokémiai tulajdonságok alapján is feltehető, hogy több olyan törzs is fajazonos, amely nem reagált pozitívan az agglutinációs próbákkal, élő tenyészetek helyett megkíséreltük, a H-antigének kiiktatásával, az O-antigének kimutatását. A termolabilis antigéneket a baktérium-szuszpenzióknak 2 órán keresztül történő forralásával iktattuk ki.

A forralt antigéneket agargéldiffúziós próbával Ouchterlony eljárása szerint vizsgáltuk.



1. ábra

Baktériumtörzsek telepei (1:1)

A Petri-csészékbe a módszer részben megadottak szerint készített és kiöntött, majd megszilárdult táptalajba középen, és ettől egy koncentrikus kör mentén még további 7 mm-es lyukakat vágunk ki. A középső lyukba a vérsavók titerének 4–8-szoros hígítású oldatát, a körülötte levő lyukakba a forralt vagy ultraszonikusan kezelt baktérium-szuszpenziókat mérjük. Az így beállított lemezeket 37° C-os termosztátba tesszük és 48 óra letelte után elbíraltuk. Pozitív reakció esetén az agarba

diffundáló ellenanyagok és az antigén találkozása helyén szabad szemmel is jól látható precipitációs vonal képződik (2. ábra).

Ilyen módon a vérsavóinkkal összehoztuk mind a 62 törzsünk szuszpenzióit. A vizsgálat eredményét a 2. táblázatban foglaltuk össze, amelyben a bal oldalon szereplő jel a forralt antigénnel kapott eredményeket tünteti fel. Ebből is látható, hogy pl. a 8/A törzs, illetve a belőle készült savó precipitálta a saját törzsén



2. táblázat

## Az agargéldiffúziós próbákkal kapott eredmények

(1) Antigének	(2) SAVÓK			
	2	8/A	9	19
2		+	+	
8/A		+	+	
9		+	+	
10		+	+	
19				+
75		+		
78				+
101/C				+
107/B		+		+
110		+	+	+
111		+		+
115				+
123				+

bal oldali jel = forralt  
jobb oldali jel = ultrahangozott } antigének

A megadott savók között nem szerepelnek a 26, a 30, a 40, a 45, a 48 és az 59 jelű törzsekből készített savókkal kapott eredmények, mivel azok negatívnak bizonyultak

kívül a 2, a 9 és a 10 jelű törzseket, ezekkel tehát közös antigénjei vannak, ezenfelül pozitíven reagált a próbában a 75, 110 jelzésű törzsekkel is, vagyis ezeknek is közös antigénjük van. Ugyanezt mutatták a 2, 8/A, 9 és 10-es jelű törzsekre vonatkozóan az agglutinációs próbák is, ezért biztosra vehetjük, hogy ezek a törzsek fajazonosak. Ugyanígy közös antigénekkal rendelkeznek a 101/C, a 115 és 123 jelű törzsek is.

Mint ahogy MANNINGER [2] vizsgálatai szerint a rhizobiumok szerológiai vizsgálata során beigazolódt, hogy az M-típusú baktériumok olykor nagyon rossz antigének és ennek okát abban látta, hogy a nyákburok miatt az antigének nem jutottak kellően érvényre, jelen munkánkban is megkíséreltük, hogy a baktériumsejtek fizikai úton történő szétrombolásával az antigéneket felszínre juttassuk.

A vizsgált baktériumok feltárását egy MSE gyártmányú ultraszonikus készülékkel végeztük akként, hogy a baktériumtenyészetek kb. 25–25 ml-ét jégso-keverékes hűtés mellett 15–15 percig ultrahanggal kezeltük. A sejtek szétroncsolását mikroszkópon ellenőriztük, és ezeket az agargéldiffúziós precipitációval vizsgáltuk. Ezek az adatok a 2. táblázatban a jobb oldalon szerepelnek. Ezzel a módszerrel több olyan esetben is észleltünk pozitív eredményeket, amelyek az előzőekben negatív eredményt mutattak. Feltűnő ismét a 2, a 8/A, a 9 és a 10 jelű törzsek egyformán pozitív magatartása.

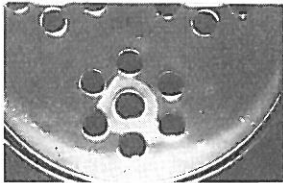
Az 1. és 2. táblázat adatait összesítve, szemléltetőbb formában a 3. és 4. táblázatban adjuk meg, amelyekben a homológ törzsekkel nyert adatokat kövér számokkal jelöltük.

Ezekből kivethető, hogy a kétféle, azaz az agglutinációs és az agargéldiffúziós próbával nem kaptunk egyező eredményeket, más szóval az általunk használt szerodiagnosztikai próbák különböző érzékenységek.

Igy: az agglutináció alapján fajazonosnak bizonyultak a 2, a 8/A, a 9 és a 10 jelű törzsek, mivel ezeket a törzseket a 2, a 8/A, a 9 jelű savók agglutinálták, vagyis ezek antigénszerkezete megegyező. Bár ennek nem mond ellent az agargéldiffúziós próbával nyert eredmény, mégis megállapítható, hogy a 8/A savó a homológ törzsen kívül nemesak a 2, a 9 és 10 jelű törzsekkel adott pozitív eredményt, hanem a 75 és a 110 jelű törzsekben is egyező antigéneket mutatott ki, amely utóbbi két törzsek egyező antigénjeit az említett 8/A törzssel az agglutinációs próba nem mutatta ki. Hasonló megállapítást tehetünk a 8/A savó esetében az ultrahangozott tenyészetekkel kapcsolatban is: itt az agglutinációval nyert pozitív törzseken kívül 3 újabb törzsek az antigénszerkezete egyezik a 8/A törzsével, közöttük ismét a 110 jelű törzs. Nyilvánvaló, hogy a 110 jelű törzsek közös antigénje van a 8/A és a 19 jelű törzsekkel, amit az agglutinációs próba nem mutatott ki.

Feltehető ezután a következő kérdés: milyen mértékben használhatók fel e pró-

bák talajbaktériumok faji meghatározásához, illetve milyen következtetéseket vonhatunk le kísérleteinkből? Az általunk alkalmazott szerodiagnosztikai próbák, tehát mind az agglutinációs, mind a precipitációs próbák alapján egyértelműen megállapítható négy törzsnek fajazonos volta, az agglutinációs próba alapján további 7 törzsnek 3 másik fajba tartozása. Az, hogy az utóbbi törzsekre tett megállapítás a precipitációs próbával nem igazolható és ezáltal az a tény,



2. ábra  
Agargéldiffúziós próba

hogy a szerodiagnosztikai próbákkal nyert eredmények ellentétben állnak egymással, vagy éppenséggel egyszer-mászor egyáltalán nem lehetett megfelelő titerértékű savót előállítani, sokakban bizalmatlanságot kelthet e próbák felhasználása iránt. Aki azonban ismeri e próbák mechanizmusát, tudja, hogy ilyen ellentmondások szükségszerűen bekövetkezhetnek és ezek elsősorban a vérsavót szolgáltató állat immunobiológiai sajátságában rejlenek: egyes esetekben nem is keletkezik ellenanyag oly mértékben, hogy az kimutatható legyen (vö. az Anyag és módszer fejezettel). De megfelelő ellenanyagmenyiség esetében is különböző lehet az egyes próbák eredménye ugyanazzal a faj-

jal kapcsolatban, amelynek oka a próbák eltérő mechanizmusa.

Az a tény, hogy az általunk használt szerodiagnosztikai próbák különböző érzékenységeknek bizonyultak, érthető, ha meggondoljuk, hogy a vizsgált rizoszféra baktérium-törzseink minden bizonnyal több fajhoz tartoznak és a különböző fajok meghatározásához az egyes próbák nem

4. táblázat

Az agargéldiffúziós próbák összesítése

(1) Savók	(2) Baktérium-törzsek
S/A 19	I. Forralt antigénekkal 2, 8/A, 9, 10, 75, 110 101/C, 115, 123,
S/A 19	II. Ultrahangozott antigénekkal 2, 8/A, 9, 10, 107/B, 110, 111, 19, 78, 107/B, 110, 111,

egyformán alkalmasak. Minthogy általában a talajbaktériumok antigénstruktúrája, az orvosi mikrobiológia tárgykörébe tartozó baktériumokkal ellentétben, még alig ismert, nem találunk az irodalomban útmutatót arra vonatkozóan, hogy bizonyos azonos fajnak vélt, illetőleg ítéltető talajbaktérium-törzseket mely szerodiagnosztikai próbával tudunk meghatározni. A legelső teendő tehát az volna, hogy a fontosabb talajmikroba fajok antigénstruktúráját szabatosan megismerjük. Meg kell jegyeznünk, hogy éppen Magyarországon történtek már ilyen irányú kezdeményezések az aktinomyeták (SZABÓ és MARTON [5], MÉSZÁROS [4]), a pseudomonasok (LOVREKOVICH [1]) és a rhizobiumok (MANNINGER [2]) antigénszerkezetének meghatározására. Bár ezek a vizsgálatok általában nem tekinthetők lezártak, mint pl. a rhizobiumok esetében, mégis értékes eredményeket hoztak éppen egyes szerodiagnosztikai próbák alkalmazhatósága kérdésének eldöntésében.

3. táblázat

Az agglutinációs próbák összesítése

(1) Savók	(2) Baktérium-törzsek
2	2, 8/A, 9, 10,
8/A	2, 8/A, 9, 10,
9	2, 8/A, 9, 10,
19	19,
26	26,
30	28, 30,
40	40,
45	45, 51, 82,
48	48, 86
59	59,

Összefoglalás

1. A Kadarka (*Vitis vinifera* ssp. *sativa proles pontica subproles balcanica* A. N. Negrul) rizoszféra mikroorganizmusainak meghatározására megkíséreltünk szerodiagnosztikai próbákat felhasználni.

2. Kiválasztottunk 11 jellemző telep-típusú törzset, amelyek felhasználásával

ellenanyagtartalmú vérsavókat állítottunk elő házinnyulak immunizálása útján. E savókkal valamennyi baktérium-törzsünket agglutináltuk. Mivel feltehető, hogy több olyan törzs is fajazonos, amely nem reagált pozitívan a próbákkal, megkíséreltük az O-antigének kimutatását.

3. A forralt antigéneket agargéldiffúziós próbával Ouchterlony eljárása szerint vizsgáltuk.

4. A kétféle, azaz az agglutinációs és az agargéldiffúziós próbával nem kaptunk egyező eredményeket, más szóval az általunk használt szerodiagnosztikai próbák különböző érzékenységek.

5. Az a tény, hogy e szerodiagnosztikai próbák különböző érzékenységeknek bizonyultak, érthető, ha meggondoljuk, hogy a vizsgált rizoszféra baktériumtörzseink több fajba tartoznak és amint ismeretes, különböző mikrobafajok meghatározásához az egyes próbák nem egyformán alkalmasak.

## Irodalom

- [1] LOVREKOVICH, L.: A dentrifkáló pseudomonások szisztematikája. MTA Agrártud. Oszt. Közl. 15. 413—418. 1959.
- [2] MANNINGER, E.: Tanulmányok a rhizobiumok biológiájának köréből. Kandidátusi értekezés. Budapest. 1963.
- [3] MANNINGER, E., WITKOVSKY, A. & KECSKÉS, M.: A study on the rhizosphere microflora of the grape vine (*Vitis vinifera* L.) Plant microbes relationships. Prague. 134—138. p. 1'05.
- [4] MÉSZÁROS, J.: Identification of *Streptomyces* species using serological methods. Magyar Állatorvosok Lapja. 17. 13—132. 1962.
- [5] SZABÓ, I., & MARTON, M.: Zur Frage der spezifischen Bodenmikroflora. Ein Versuch zur systematischen Bestimmung der Strahlenpilzflora einer mullartigen (Wald-) Rendsina. Zbl. Bakteriologie. II. Abt. 118. 265—306. 1964.
- [6] WITKOVSKY, E., MURÁNYI, I., KECSKÉS, M. & MANNINGER, E.: A szőlő (*Vitis vinifera* L.) rizoszféra mikroflórájának jelentőségéről. Szőlészeti Kut. Int. Évk. 12. 195—199. 1963.

Érkezett: 1967. augusztus 20.

## Application of the Serodiagnostic Tests for the Determination of Rhizosphere Bacteria of Grape Vine

E. MANNINGER and E. WITKOVSKY

Research Institute of Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences and Research Institute for Viticulture and Enology, Budapest

### Summary

1. The application of serodiagnostic tests for the determination of the rhizosphere microorganisms of „Kadarka” (*Vitis vinifera* ssp. *sativa* proles *pontica subproles balcanica* A. N. Negru) was attempted.

2. 10 characteristic colony-type strains were selected and used for preparation of the antibody containing serum with the immunization of rabbits. All strains were agglutinated with these serums (Table 1). Since it was supposed that there were several congener strains, which did not react positively to these tests, the demonstration of the O antigens was attempted.

3. The boiled antigens were examined with the agar gel diffusion method according to Ouchterlony (Fig. 2). The results of the investigation are summarized in Table 2.

4. The summary of data given in Tables 1 and 2 shows, that the two kinds of tests, that is, agglutination and agar gel

diffusion, did not give identical results, in other words, the applied serodiagnostic tests are of different sensitivity.

5. The fact that these serodiagnostic tests proved to be of different sensitivity is understandable if one considers that the investigated rhizosphere bacterium strains belong to several species and as it is well known, some tests are not suitable in the same way for the determination of the different microbe species.

6. The antigen structure of most microorganisms belonging to the sphere of agrobiolgy are unknown and for this reason it is not known which test is the most suitable for the determination of one or another species. Thus the first task is to gain a precise knowledge of the antigen structure of the more important soil microbe species.

Table 1. Results of the agglutination test. (1) Antigens. (2) Serums.

Table 2. Results of the agar gel diffusion tests. (1) Serums. (2) Antigens.

Left side mark: boiled; right side mark: ultrasonic treated antigens.

Table 3. Summary of the agglutination tests. (1) Serums. (2) Bacterium strains (1 : 1)

Table 4. Summary of the agar gel

diffusion test (1) Serums. (2) Bacterium strains. I. With boiled antigens II. With ultrasonic treated antigens.

Figure 1. Colonies of bacterium strains (1 : 1).

Figure 2. Agar gel diffusion test.

## Die Bestimmung der Rhizosphäre-Bakterien der Rebe mittels serodiagnostischer Proben

E. MANNINGER und E. WITKOVSKY

Forschungsinstitut für Bodenkunde und Agrikulturchemie der Ungarischen Akademie der Wissenschaften und  
Forschungsinstitut für Weinbau und Kellerwirtschaft. Budapest

### Zusammenfassung

1. Zur Bestimmung der Rhizosphäre-Bakterien der Rebesorte »Kadarka« (*Vitis vinifera* ssp. *sativa* proles *pontica subproles balcanica* A. N. Negrul) wurden serodiagnostische Proben verwendet.

2. Mit Hilfe 10 Stämme, deren Kolonietypen charakteristisch erschienen, wurden Sera hergestellt durch Impfen der Kaninchen. Mit diesen Sera wurden alle Bakterien-Stämme agglutiniert (Tabelle 1.). Da es anzunehmen war, dass auch solche Stämme Artidentisch sind, die sich nicht als positiv erwiesen mit diesen Proben, wollten wir die O-Antigene nachweisen.

3. Die erhitzten Antigene haben wir mit Hilfe der Agargeldiffusionsprobe nach Ouchterlony untersucht (Abbildung 2.). Die Ergebnisse der Untersuchungen wurden in der Tabelle 2. zusammengefasst.

4. Der Vergleich der Daten der Tabelle 1. und der Tabelle 2. zeigt, dass die zwei Proben, also die Agglutinationsprobe und die Agargeldiffusionsprobe verschiedene Ergebnisse brachten, mit anderen Worten wiesen die von uns verwendeten serodiagnostischen Proben verschiedene Empfindlichkeiten auf (Tabelle 3. und Tabelle 4).

5. Diese Tatsache, dass die serodiagnostischen Proben verschiedene Empfindlichkeiten aufweisen, ist selbstverständ-

lich, wenn wir bedenken, dass die untersuchten Rhizosphäre-Bakterien in mehrere Arten gehören und wie bekannt, sind die einzelnen Proben zur Bestimmung verschiedener Mikrobenarten nicht gleichmässig geeignet.

6. Die Antigenstruktur der meisten Mikroorganismen der Agrobiologie sind unbekannt, weshalb wir nicht wissen, mit welcher Probe wir die Bestimmung einer oder der anderen Art vornehmen sollen. Die erste Aufgabe ist das Kennenlernen der Antigenstruktur der wichtigsten Bodenmikroben.

Tabelle 1. Die mit Hilfe der Agglutinationsprobe gewonnenen Ergebnisse. (1) Sera (2) Antigene

Tabelle 2. Die mit Hilfe der Agargeldiffusionsmethode gewonnenen Ergebnisse. (1) Antigene. (2) Sera Links erhitzte, rechts mit Ultraschall behandelte Antigene.

Tabelle 3. Zusammenfassung der Agglutinationsproben. (1) Sera. (2) Bakterien-Stämme,

Tabelle 4. Zusammenfassung der Agargeldiffusionsproben. (1) Sera. (2) Bakterien-Stämme.

Abb. 1. Kolonien der einzelnen Bakterien-Stämme. (1 : 1)

Abb. 2. Agargeldiffusionsprobe.



## Применение серодиагностических проб для определения ризосферных бактерий винограда

Е. МАННИНГЕР и Е. ВИТКОВСКИЙ

Научно-исследовательский институт почвоведения и агрохимии А. Н. Венгрии и Государственный Научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия, Будапешт

### Резюме

1. Для определения микроорганизмов в ризосфере винограда сорта «кадарка» (*Vitis vinifera* ssp. *sativa* proles *pontica* subproles *balcanica* A. N. Negrul) попытались применить серодиагностические пробы.

2. Выбрали 10 штаммов, образующих характерные колонии, и применяя их при иммунизации живого домашнего кролика, получили сыворотку крови, содержащую антитела. Этой сывороткой аглютинировали все наши бактериальные штаммы (табл. 1). Допуская, что большинство таких штаммов относится к одному виду, не реагирующему положительно на эти пробы, провели выявление О-антигенов.

3. Прокипяченные антигены исследовались гелеводиффузионной пробой на агаре по методу Ouchterlony (рис. 2). Полученные данные приведены в таблице 2.

4. Сравнивая данные, приводимые в таблицах 1 и 2, можно видеть, что применяя обе пробы, то есть аглютинационную и гелеводиффузионную на агаре, не получили схожих результатов, другими словами, использованные нами серодиагностические пробы обладают различной чувствительностью (табл. 3).

5. Тот факт, что серодиагностические пробы оказались различной чувствительности становится понятен, если исходить из того, что в изучаемой ризосфере содержится много различных видов бактерий, и

как известно, отдельные пробы не одинаково применимы к определению различных видов бактерий.

6. Для большинства микроорганизмов, относящихся к агробиологической тематике, антигенная структура неизвестна и поэтому мы не знаем какую пробу целесообразнее применять для определения того или иного вида бактерий. Таким образом, ближайшей важнейшей задачей является точное изучение антигенной структуры почвенных бактерий.

Табл. 1. Данные, полученные аглютинационными пробами. (1) Антигены. (2) Сыворотки.

Табл. 2. Данные, полученные гелеводиффузионными на агаре пробами. (1) Сыворотки. (2) Антигены. Обозначение слева — прокипяченные, справа — обработанные ультразвуком.

Табл. 3. Сведения по аглютинационным пробам. (1) Сыворотки. (2) Штаммы бактерий.

Табл. 4. Сведения по гелеводиффузионным пробам на агаре. (1) Сыворотки. (2) Штаммы бактерий. I. С прокипяченными антигенами. II. С антигенами, обработанными ультразвуком.

Рис. 1. Колонии бактериальных штаммов (1:1).

Рис. 2. Гелеводиффузионная проба на агаре.