

BAKTERIOLÓGIAI TANULMÁNYOK A BALATON TÉRSÉGÉBŐL SZÁRMAZÓ DIPLOPODÁK FÉCESZANYAGÁN

CONTRERAS ENRIQUE

ELTE Mikrobiológiai Tanszék, Budapest

A Balaton medencéjének vízkészlete mint egyetlen hatalmas bakteriológiai tenyészfolyadék is felfogható, melyből elsősorban is a tömeges előfordulású baktériumok a tó közvetlen környezetében (talajokban, légtérben, a humán és állati populációkban stb.) állandóan szóródnak. Ennek a disszeminációnak a közelebbi megismerése mind környezeti biológiai mind higiéniai szempontból egyaránt fontos lenne. Valójában ilyen természetű vizsgálatokra azonban csak az után kerülhet sor, miután már magának a tónak a baktériumflóráját is felderítettük. Az utóbbi években végre e fontos feladat megoldására is sor kerül. Így pl. LANCÓ (1982) az északi parti övezet *Bacillus* flórájának faji összetételét megbízható módszerekkel tisztázta, míg SUMAN (1981) a Zala folyó üledékének első részletekbe menő, speciesz szintű, bakteriológiai analízisét hajtotta végre stb. Részemről, mint aki az avarbontó erdei ízeltlábúak és férgek bélbakteriológiájával foglalkozom, feladatommá tűztem, a bakteriológiailag behatóbban, tanulmányozott tihanyi partszegély és Zala-torkolat vidék régióiból származó, avarlakó, alomevő diplopodák friss fekáli anyagának mikrobiológiai analízisét. A Balaton környéki erdőkben, dr. Loxsa Imre szóbeli közlése szerint az előfordulási gyakoriság sorrendjében, az ikerszelvényesek alatti fajai élnek: *Chromatouilus projectus*, *Cylindroiulus boleti*, *Leptouilus proximus*, *Cylindroiulus luridus* és *Unciger foetidus*. Bár e szervezetek igen fontos szerepet játszanak a légi úti bakteriális fertőzésnek legjobban kitett avar fizikai destrukciójában (POBOZSNY 1968), koprogén aggregátumok és organominerális komplexek kialakításában, mégis bélbakteriológiájukról még csak nagyon keveset tudunk. Munkám célja tehát kettős volt: egyrészt felderíteni, hogy a balatoni baktériumtömeg tagjai vajon szóródnak-e, többek között pl. a közvetlen környék ízeltlábúinak bélszatornájában, másrészt konkrét adatokat szolgáltatni a diplopodák ma még alig tanulmányozott bélbaktériumflórájának ismeretéhez.

Anyag és módszer

A vizsgált Diplopoda-példányokat 1978 novemberében és decemberében a Tihanyi-félszigeten és a Zala torkolatvidékén gyűjtöttük. Meghatározásuk az ELTE Állatrendszertani Tanszékén utólag történt. Ezeket az állatokat a leg-

rövidebb időn belül laboratóriumba szállítva, ott egyesével, aszeptikus körülmények között, speciálisan szerkesztett, steril ráccsal zárt fekálmintavevő tölcéserekbe helyeztük, melyekből a friss ürüléket steril kémcsövekben fogtuk fel. A hullott, friss exkrement anyagból homogenizálás után hígítási sorozatokat készítettünk, melyekből keményítő kazein-agarra, szintetikus glukóz agarra és nutrient agarra lemeztünk. A 2-10-napos inkubációs idő (28 °C-on) lejárta után csíraszám meghatározásokat végeztünk és nem szelektív alapon nagy számban, ferde agarra izoláltunk. Az izolátumokat számjeleztük, bizonyos bélyegek alapján hasonlósági csoportokba soroltuk, közülük reprezentatív törzseket szelektáltunk, melyeket szélesztésekkel és reisolálásokkal homogenitásig tisztítottunk és azoknak az ELTE Mikrobiológiai Tanszékén rutinszerűen alkalmazott teszteknek vetettük alá, melyek felsorolása LANGÓ (1982) és SCHMIDT (1980) tanulmányaiban található. Az izolált és szelektált reprezentatív törzseket mint dokumentációs anyagot Tanszékünk gyűjteményében őrizzük.

Eredmények

A csíraszámbebecslések (lásd 1. táblázat) eredményei szerint a diplopodák friss ürülékében, mely lényegében az utóbélre utal, az összes lemezelhető baktérium száma rendkívül magas, milliárdos nagyságrendekben mozog és messze meghaladja előfordulási helyük avarjának csíraszámértékeit. Ez a tény egybevágó az irodalmi utalásokkal (SZABÓ et al, 1967, MÁRIALIGETI 1979). A bél-miliőben nagyon meggyorsul a baktériumok (köztük az aerobok és a fakultatívak) szaporodása és megnő aktivitásuk. Sajnos azonban, a kvantitatív

1. táblázat

A lemezelhető összes baktérium csíraszám értékei különböző diplopodafajok friss ürülékében (1 g nedves exkrementre vonatkoztatva)

Fajnév	Összcsíraszám
<i>Cylindroiulus luridus</i>	$0,7 \times 10^9$
<i>Cylindroiulus boleti</i>	$1,0 \times 10^9$
<i>Leptoiulus proximus</i>	$2,0 \times 10^9$
<i>Unciger foetidus</i>	$4,0 \times 10^9$
<i>Chromatoiulus projectus</i>	$6,0 \times 10^9$
A diplopodák lelőhelyének avarjában a lemezelhető baktériumok összcsíraszám értékei	$6-17 \times 10^6$

2. táblázat

A *Chromatoiulus projectus* és a *Cylindroiulus boleti* friss fekálianyagából izolált és szelektált 91 reprezentatív baktérium törzs megoszlása néhány fontos diagnosztikai tulajdonság alapján

	Pozitív	Negatív	Kétes	Meghatározhatatlan
Sejtalkak: kokkus pálcika	16 75	0 0	0 0	0 0
Gram festés	30	55	6	0
Kataláz	77	11	3	0
Indol képzés	5	86	0	0
Metilénkék redukció	48	41	2	0
Citrát hasznosítás	51	40	0	0
Metilvörös-teszt	36	55	0	0
Citokrómoxidáz	14	77	0	0
Fluorescencia	9	78	4	0
Nitrát redukció	53	36	2	0
Foszfátáz	77	6	8	0
Hippurát bontás	47	43	0	1
Keményítő hidrolízis	36	16	39	0
Gelatináz	41	50	0	0
DNS-áz	45	45	1	0
RNS-áz	46	25	20	0
Hemolizin termelés	35	56	0	0
Kazeináz	47	34	2	8
Aesculin hidrolízis	48	39	4	0
Hidrolízis:				
Tween 40	68	15	8	0
Tween 60	70	15	6	0
Tween 80	57	30	4	0

	Pozitív	Negatív	Kétes	Meghatározhatatlan
Ornitin- Lizin- Arginin- dekarboxiláz	14 1 33	63 84 57	14 6 1	0 0 0
Lizozim érzékenység	70	20	1	0
Növekedés				
Benzoáton	28	35	28	0
Acetáton	82	3	6	0
Tartaráton	19	36	35	1
Oxaláton	1	60	30	0
Tolerancia:				
NaCl 0,5%	86	0	5	0
2%	86	5	0	0
4%	57	25	9	0
7%	28	42	21	0
8,5%	15	71	5	0
10%	15	76	0	0
Hőmérséklet tolerancia:				
2 °C	39	15	37	0
5 °C	75	13	3	0
10 °C	91	0	0	0
25 °C	91	0	0	0
37 °C	81	6	4	0
45 °C	9	64	18	0
50 °C	0	85	6	0
Vankomicin érzékenység	0	45	41	5
Kanamicin érzékenység	0	0	86	5
Egyedüli N-forrás:				
(NH ₄) ₂ SO ₄	66	9	16	0
Tyrozin	83	6	2	0
Fenilalanin	78	0	13	0
Egyedüli C-forrás:				
Glukóz	89	0	2	0
Arabinóz	52	36	3	0
Mannit	67	21	3	0
Fruktóz	81	3	7	0
Glukóz fermentáció	35	51	5	0

bakteriológiai adatokból sok következtetést nem vonhatunk le. Nem minden faj egyedinek ürülékéből izoláltunk. E célra csak a *Cylindroiulus boleti* és a *Chromatoiulus projectus* fekálmintáit használtuk fel. Az első fécesz anyagából előkerült 79 izolátum összesen öt, az utóbbiból kitenyésztett 165 izolátum, összesen 10 fajnak is minősíthető „hasonlósági csoportba” volt besorolható.

Az összehasonlításokat a legfontosabb, ill. relatíve könnyen identifikálható diagnosztikai bélyegek alapján hajtottuk végre. E 15 törzscsoport mindegyikéből a további vizsgálatok céljaira reprezentatív törzseket válogattunk ki, mégpedig összesen 91-et. Ezekhez a becsült taxonómiai rokonság szempontjai alapján további 31 nemzetközileg nyilvántartott autentikus törzset (*Bacillus* spp., *Micrococcus* spp., *Pediococcus*, *Sporosarcina*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp.) csatoltunk, majd ezt követően a 122 törzsszel minden vizsgálatot (201 biokémiai, kulturális-morfológiai diagnosztikai bélyeg) együttesen, szinkrón végeztünk. A 2. táblázaton 91 általunk izolált reprezentatív törzsre vonatkozóan, néhány kiragadott fiziológiai-morfológiai bélyeg megoszlását mutatjuk be. Mint látható a bélflórában Gram-negatív festődésű baktériumok uralkodnak. Emellett feltűnő a kokkusok nagy száma! Az izolált törzsek többsége kataláz-pozitív, foszfátáz-aktív, acetáton növekedni képes, lipolitikus és még 37 °C-on is jól szaporodik stb. Érdekes, hogy még 10% NaCl jelenlétében is sok törzs nő! Csak nagyon kevés fluoreszkál, indolt csupán 5 termel, oxalátot csak egyetlen egy hasznosít.

Az első lépésben konvencionális módszerekkel végrehajtott rendszertani analízisek szerint *Micrococcus*-ok mindkét faj ürülékéből előkerültek. A *Cylindroiulus boleti*-ben a *Micrococcus roseus* (6 törzs), míg a *Chromatoiulus projectus*-ban különböző *Micrococcus* spp. (16 törzs; közöttük az *M. luteus*-hoz közelálló szervezettek) jelenléte észlelhető. Hasonlóan *Bacillus*-okat is izoláltunk. A *Bacillus cereus* (8 törzs) alakjait pl. a *C. boleti*-ből. Az ezerlábúak bélflórájából a közönséges talaj-, ill. vízbaktériumokon (*Micrococcus*, *Bacillus* stb.) kívül, tipikus bélbaktériumokat is mindig izolálhatunk. Így a *Ch. projectus* fekáli anyagából *Enterobacter* és *Klebsiella* törzseket nagy számban tenyésztettünk ki. Feltehetően ez utóbbiak képezik ezen állatok jellemző bélmikrobaközösségeinek egyik csíraszámszerűen kodomináns frakcióját. Az azonosításokat még nem fejeztük be. Így egyes nagyon gyakorinak bizonyult bélbaktérium típusok identifikálása úgy tűnik igen nagy nehézségekbe ütközik. Jelenleg a két bélbaktériumközösség kiszélesített gépi analízisén dolgozunk.

Megbeszélés

A *Cylindroiulus boleti* és a *Chromatoiulus projectus* vizsgált egyedeinek bélbaktériumflóráiban nagy gyakorisággal fordulnak elő kokkoidális alakok. Ezek közelebbről olyan, nagyrészt a *Micrococcus* genuszhoz sorolható szervezetek, melyek nemcsak taxonómiai, hanem biokémiai-fiziológiai tulajdonságaikat (pigmentáció, sötétítés, hőtolerancia stb.) is tekintve rendkívül nagy hasonlóságot mutatnak a Balaton vizének *Micrococcus*-aival és más kokkoidális alakjaival! Erre a tényre felfigyeltünk, mivel feltételezésünk szerint a Balatonból a környezete felé kokkusz invázió folyhat. A balatoni plankton mikro-

kokkusait LANGÓ (1981) már az arácsi szántók, vörösszínű művelt erdőtalajai-ból is kimutatta. A kokkusokat általában úgy tartják nyilván, hogy teresztrikus talajokban csak ritkán fordulnak elő (CLARK 1967). Vajon ez a megállapítás érvényes lehet a tavak 1 km-en belüli szárazföldi partszegélyére is? E kérdésre jelenleg választ sajnos nem tudunk adni. Minden esetre adataink felhívják a figyelmet a balatoni kokkuszpopuláció szóródásának vizsgálatára a litorális övezet és a fürdőzők benépesítette strandok régiójában. Ez annál is inkább fontosnak tűnik, mivel a Balaton vizében *Staphylococcus*-ok is jelen vannak és ezek diszperzáljának figyelemmel kísérése higiénias szempontokból is szükségesnek látszik.

Egy másik fontos problémát is érintenünk kell még, mégpedig hogy az avarlakók bélesatornájában aktinomiceták is előfordulnak, amint azt magam az *Eisenia lucens* esetében is igazoltam (CONTRERAS 1980). A diplopodáknál az első vizsgálatok az ELTE Mikrobiológiai Tanszékén (DZINGOV et al. 1982) Promicromonospora-típusú szervezetek tömeges jelenlétéről számoltak be. Ezeket JÁGER már tiszta tenyészetben is előállította és azonosította (JÁGER 1982). Promicromonospora-k a balatoni diplopodákból is előkerültek, nagyszámú törzsüket izolálhattuk és feldolgozásukról később számolunk be.

Összefoglalás

A Balaton parti övezete teresztrikus talajaiból származó diplopodák friss ürülékében jelentős denzitású kokkoidális, közöttük *Micrococcus* populációt mutattunk ki. Izolátumaink nagyfokú hasonlósága a tó hatalmas kokkusz-népeisége több domináns alakjával is felveti a Balaton térségében végbemenő bakteriális disszemináció (szóródás) higiénias szempontból sem közömbös vizsgálatának szükségességét.

IRODALOM

- CLARK, F. E.: Bacteria in Soil. In Burges, A. and Raw, F., eds., Soil Biology. Acad. Press, London and New York. pp 15—49 (1967).
- CONTRERAS, E.: Studies on the intestinal actinomycete flora of *Eisenia lucens* (Annelida, Oligochaeta) *Pedobiologia* **20**, 411—416 (1980).
- CONTRERAS, E.: Ezerlábúak (Chilognatha; Diplopoda) bélbaktériumközösségének numerikus analízise. Doktori Értekezés. ELTE, TTK, Budapest (1983).
- DZINGOV, A., MÁRIALIGETI, K., JÁGER, K., CONTRERAS, E., KONDICS, L. and SZABÓ, I. M.: Studies on the microflora of millipedes (Diplopoda). I. Comparison of actinomycetes isolated from surface structures of the exoskeleton and the digestive tract. *Pedobiologia* **24**, 1—7 (1982).
- JÁGER, K.: A Promicromonospora genusz mint a bélbaktériumok egy sajátos új csoportja. Egyetemi doktori értekezés. ELTE, TTK, Budapest (1983).
- LANGÓ, Zs.: A Balaton északi parti régiója *Bacillus* populációjának számítógépes analízise. MTA. Biol. Oszt. Közlem. **25**, 313—326 (1982).
- MÁRIALIGETI, K.: On the community-structure of the gut-microbiota of *Eisenia lucens* (Annelida, Oligochaeta). *Pedobiologia* **19**, 213—220 (1979).

- POBOZSNY, M.: Nahrungsansprüche einiger Diplopoden- und Isopoden-Arten in mesophilen Laubwäldern Ungarns. *Acta Zool. Hung.* **24**, 397—406 (1978).
- SCHMIDT, K.: Ecophysiological analysis of a *Bacillus megaterium* population in a brown forest soil. *Acta microbiologica Acad. Sci. Hung.* **27**, 111—123 (1980).
- SUMAN, Y.: Investigaciones bacteriológicas sobre la comunidad de actinomicetos en el lodo y agua del Rio Zala. Egyetemi doktori értekezés, ELTE TTK. Budapest (1981).
- SZABÓ, I., BÁRTEFAY, T. and MARTON, M.: The role and importance of the larvae of St. Mark's fly in the formation of a rendzina soil. — In: Graff, O. and Satchell, J. (eds.): *Progress in Soil Biology*. Braunschweig-Amsterdam 475—489 (1967).
- SZABÓ, I. M., JÁGER, K., CONTRERAS, E., MÁRIALIGET, K., DZINGOV, A., BARABÁS, GY. and POBOZSNY, M.: Composition and properties of the external and internal microflora of millipedes (Diplopoda). In: LEBRUN, PH. et al. (eds): *New Trends in Soil Biology*. Proc. of the VIII Int. Coll. Soil Zoology. Louvain-la-Neuve. Belgium, 1983.