

# A SÍKFŐKÚTI MAB-MINTATERÜLET BARNA ERDŐTALAJÁNAK *BACILLUS MEGATERIUM* (DE BARY, 1884) POPULÁCIÓJÁRÓL\*

SCHMIDT KATALIN

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Mikrobiológiai Tanszék, Budapest

A síkfőkúti MAB (Man and Biosphere) mintaterületen kooperatív szimbiológiai kutatásokra kijelölt (JAKUCS 1973) erdei (*Quercetum petraeae-cerris*) ökoszisztéma komplex, funkcionális közösségi analízisében a tápanyag-regeneráció kérdése kiemelkedő szerepet játszik. Jóllehet, a tápelemek producens szintre történő visszacsatolásának folyamatába az edafonnak (= talajbióta) igen különböző rendszertani helyzetű, biokémiai kapacitású és ökológiai valenciájú szervezetei kapcsolódnak be, mégis nem kétséges, hogy azok a fajok, melyek vagy jelentős populációs denzitással, illetve parciális biomasszával képviseltetik magukat, vagy a közösségi metabiózisra átfogó kihatású speciális biokémiai aktivitással rendelkeznek, megkülönböztetett jelentőségűek a talajrendszerben végbemenő mineralizációs történések szempontjából. A *Bacillus megaterium* ilyen fajnak tekinthető a síkfőkúti MAB-mintaterület barna erdőtálajának baktériumpopulációjában (SCHMIDT 1978a és b).

A bacillusok a Föld valamennyi geográfiai övezetében a legkülönbözőbb talajtípusok minden genetikai horizontjában szélesben elterjedtek. E tényt többek között extrém túlélőképességüket biztosító spóraképző tulajdonságuk is nagymértékben megmagyarázza. E szervezetek jelentős proteolitikus aktivitásuk, rövid generációtartamuk és gyors szaporodásuk révén nagy intenzitással vehetnek részt a „detritusz-út-ra” jutott növényi, állati és mikrobiális eredetű fehérjék degradálásában, de szénhidrát- és lipoid-anyagcseréjük enzimkészletének nagy gazdagsága folytán képesek a szénhidrátok és zsírnemű anyagok széles skáláját magában foglaló vegyületek elemeit is gyorsan az ásványosítás útjára juttatni. A *Bacillus* nemzetség nagyszámú fajjal és számtalan változattal képviselteti magát, és amint erre fény derült, ezek biotikus potenciálja korántsem tekinthető azonosnak. Így MISHUSTIN és MIRZOEVA (1968) szerint a természetes talajokban a mineralizációs aktivitás és a holt szerves vegyületek energetikai degradálásának általánosságban vett mértéke elsősorban is a *Bacillus megaterium* faj lokális populációs denzitásával mutat korrelációt, sőt bizonyos megszorításokkal jogosultnak tartható az az állítás is (MISHUSTIN 1968), miszerint e faj a mezőgazdaságilag művelt talajokban egye-

\* „Síkfőkút Project” No. 42.

nesen a talaj termékenységének indikátorául lenne használható. MISHUSTIN és MIRZOEVA (1968) adatai szerint a *Bacillus megaterium* az északi sarkvidéknek az év nagyrésztében fagyott tundra- és más műveletlen talajaiban, továbbá a tajga feltöretlen, szűz podzoljaiban egyáltalán nem fordul elő. Ezzel szemben a tajga kultivált talajaiban már megjelenik, és azokban a baktériumflórának 5%-át is kiteheti. A podzol-zóna természetes dinamikájú erdőtalajaiból sem mutatható ki, bár ugyanitt csíraszama a szűz réti talajokban a baktériumpopuláció 5%-át, míg a művelés alá vont területeken akár egynegyedét is elérheti. Némileg módosul a helyzet a sztyeppe-övezet esetében, ahol a szűz talajok mikroflórájában 17%-ban, a szántott talajokban már 20%-ban van jelen. Hasonlóan a felsivatagos vidékek bolygatatlan talajaiban 16, művelt talajaiban 25%-át alkotja a lemezelhető totális baktériumpopulációnak. Ennek a tendenciának némileg ellentmond, hogy a Szovjetunió déli övezeteiben felépő, mégis kevésbé aktív sivatagi szürke talajokban 26, a sós területek pedoszférájában pedig még magasabb, 34 csíraszám százalékban fordul elő. Figyelemre méltó e faj populációs dinamikája a magashegyi talajokban. Csíraszám aránya az 500—600 m tengerszint feletti magasságban (műveletlen, szürke felsivatagi talaj A<sub>1</sub> horizontja): 29%; 850—1100 m között (gesztenyebarna talaj): 18%; 1300—1700 m-en (hegyi csernozjom): 31%; 1700—2100 m-en (sötét, hegyi erdőtalaj): 22% és végül 3000—3600 m-en (szubalpesi talaj): 13%. MISHUSTIN és MIRZOEVA fenti megállapításával összhangban áll PRIETO (1977) közlése, aki Kubában a cukornád termesztés legfontosabb talajtípusának, a vörös trópusi oxisolnak („latosolico plastico”) egy kísérleti parcellájában a *B. megaterium*-ot tömegesen előforduló, abszolút domináns fajnak találta. Ebben az erősen műtrágyázott, rekord cukornádterméseket nyújtó talajban a gyökértávolsági zóna mikrobiótáját egyébként is a *Bacillus*-ok uralják. Mennyiségük a totális lemezelhető baktériumpopuláció 63%-át is kiteheti.

A *Bacillus megaterium* geográfiai kozmopolitizmusára, fokozott biokémiai potenciáljára és a termékeny talajok mineralizációs folyamataiban játszott kiemelkedő szerepére való tekintettel e faj előfordulását és populációjának minőségi összetételét a síkfőkénti MAB-mintaterület barna erdőtalajában beható vizsgálat tárgyává tettem.

A *Bacillus* fajok, közöttük a *B. megaterium* elterjedésére, in vivo aktivizálására vonatkozóan csak csekély számú megbízható adat birtokában vagyunk. Számos közlés ugyanis taxonómiai kevéssé megalapozott identifikációkra támaszkodik.

Napjainkban a *B. megaterium* korrekt rendszertani azonosításához használt, diagnosztikai értékű tulajdonságok között az alantiakat tartják, mint legfontosabbakat számon (Bergey's Manual, 1974, GORDON és mtsai 1973, WOLF és BARKER 1968, OTTOW 1972, BONDE 1973): Mikromorfológia: a sejtek nagyok, átmérőjük 0,9  $\mu$  felett, hosszuk 2—5  $\mu$ , esetenként a 7  $\mu$ -t is meghaladhatja, a spóra ovális és általában centrális helyzetű, a spórafal vékony, a spo-

rangium nem duzzadt. Mozgásképeség általában kimutatható. Gram-festődés pozitív, illetve variábilis. Kataláz pozitív. Indolképzés negatív. Voges—Proskauer reakció negatív. Növekedés szintetikus táptalajon (glukóz + ammónium-só jelenlétében) pozitív. Keményítő hidrolízis pozitív. Zselatin elfolyósítás pozitív. Savképzés glukózból pozitív. Savképzés mannitból, xilózból és arabinózból általában pozitív. Citráthasznosítás pozitív. A növekedés hőmérsékleti minimuma: 3—20 °C, maximuma: 35—45 °C. Hemolitikus aktivitás negatív. Nitrátok redukciója nitritig pozitív. Növekedés 7% NaCl jelenlétében általában pozitív. Ureáz aktivitás variábilis (Ottow szerint pozitív). H<sub>2</sub>S termelés negatív. Kazein hidrolízis pozitív. Növekedés anaerob körülmények között nem mutatható ki. Lecitináz termelés nem észlelhető. 0,001% lizozimmal szemben érzékeny.

A „Síkfőkút-Project” barna erdőtalajából izolált *Bacillus* törzsek elsődleges identifikálásánál megkülönböztetett figyelmet szenteltünk e bélyegek kifogástalan meghatározásának. Az itt közölt vizsgálatoknak célja volt az alanti kérdésekre feleletet adni:

1. Vajon a *Bacillus megaterium* képes-e egyáltalán „niche”-t foglalni a vizsgált ökoszisztéma tápanyag-regenerációs szintjén működő bakteriális közösségben;

2. ha igen, úgy milyen kvantitással vesz annak összetételében részt és, hogy populációját milyen ökotípus, illetve biotípus struktúra jellemzi; végül hogy

3. a síkfőkúti *B. megaterium* populáció a maga komplexitásában, illetve biotípusait tekintve mennyiben tér el, vagy azonos a faj úgynevezett kulcsfontosságú diagnosztikai bélyegek meghatározott aspektusával típusosnak minősített alakjaitól.

### Vizsgálati módszerek

A bakteriológiai vizsgálatok céljaira gyűjtött talajminták a síkfőkúti mintaterület barna erdőtalajának A<sub>F</sub>, A<sub>H</sub>, és B horizontjaiból származnak. A mintákat a feltöretlenül hagyott terület megfelelő szintjeiből, aszeptikus körülmények között gyűjtöttük, majd a lehető legrövidebb időn belül laboratóriumba szállítottuk, és a 24 óra eltelte előtt elkezdett feldolgozás megkezdéséig hűtőszekrényben tároltuk. Az izolálás folyamán a talajmintákból „nutrient” és szintetikus tápagarlemezekben kitenyésztett, szeparáltan növekedő kolóniákat válogatás (szelekció) nélkül vittük át ferde agarra. Az izoláláshoz használt táptalajok összetétele a következő volt:

|                     |                    |      |    |
|---------------------|--------------------|------|----|
| a) „nutrient” agar: | húskivonat (Oxoid) | 3    | g  |
|                     | pepton (Difco)     | 5    | g  |
|                     | agar               | 15   | g  |
|                     | desztillált víz    | 1000 | ml |
|                     | pH: 7,0            |      |    |

## b) szintetikus táptalaj (WAKSMAN 1961):

|                                                     |      |    |
|-----------------------------------------------------|------|----|
| glukóz                                              | 10   | g  |
| $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$                       | 4    | g  |
| NaCl                                                | 5    | g  |
| $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ | 2    | g  |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$          | 1    | g  |
| $\text{CaCl}_2$                                     | 0,4  | g  |
| $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$          | 0,02 | g  |
| $\text{MnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$          | 0,01 | g  |
| agar                                                | 15   | g  |
| desztillált víz                                     | 1000 | ml |
| pH: 7,0                                             |      |    |

A szélesztett agarlemezeket 28 °C-on, 48—96 óráig termosztátban inkubáltuk, majd az elkülönülten kinövő kolóniákat nutrient ferde agarra vittük át. Az összehasonlító vizsgálatok megkönnyítésére a makromorfológiai és kulturális tulajdonságok (telepszín, telepszegély, konzisztencia, oldódó pigment jelenléte, esetleges egyéb jellemzők), valamint néhány mikromorfológiai, fiziológiai és biokémiai jellemző alapján a törzseket „hasonlósági csoportokba” osztottuk, majd az e csoportokat reprezentáló, válogatott, szelektált ún. csoport-reprezentatív törzsekkel részletes tulajdonságanalízist hajtottunk végre. A reprezentatív törzsek mennyisége minimálisan a csoport 20%-át alkotta. A valamennyi izolátumra kiterjedő elsődleges csoportosítás már a vizsgálatok kezdetétől lehetővé tette, hogy a rendkívül hasonló vagy éppen fajazonosnak vélt törzsek reakcióit, kulturális jellemvonását különösen egymás vonatkozásában fokozott figyelemmel kísérhessük. Itt kell megjegyezni, hogy az utólagos identifikáció folyamán egységesen *Bacillus megaterium*-nak bizonyult törzsek csoportja az előzetes, megközelítő azonosítások során még négy kisebb, finom eltéréseket mutató „hasonlósági csoportba” (alcsoportba) nyert besorolást.

A törzsek fenntartására egyrészt az izoláláskor használt „nutrient” agar, másrészt a következő összetételű táptalaj szolgált:

## Élesztőkivonat-glukóz-agar (BOHAČEK és mtsai 1967)

|                 |         |
|-----------------|---------|
| élesztőkivonat  | 5 g     |
| pepton          | 5 g     |
| glukóz          | 10 g    |
| agar            | 20 g    |
| desztillált víz | 1000 ml |
| pH: 7,2         |         |

Az alanti vizsgálatokat valamennyi, e talajból kitenyésztett baktérium-törzsszel megvalósítottuk:

1. Sejtalak és sejtméret megállapítása. Erre a célra 24 órás, élesztő-kivonat-glukóz-agaron kifejlődött tenyészetekből készült festett keneteket használtunk.

2. Gram-féle festődés, 24 órás, élesztőkivonat-glukóz-agaron elszaporodó tenyészetekkel; az elszíntelenítés 96%-os etanollal történt.

3. Spórák kimutatása SCHAEFFER és FULTON (1933) módszerével, malachitzöldes gőzöléssel.

4. Növekedés táplevesben pH = 5-nél. A zavarosodás mértékét 2 hét inkubáció után figyeltük meg.

5. Növekedés szervesetlen nitrogénforrás —  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  — jelenlétében. Ennek megállapítására az izoláláshoz használt szintetikus táptalajt használtuk.

6. A citrátoknak, mint egyedüli szénforrásnak az értékesítését Difco Simmon's Citrate Agar segítségével mutattuk ki.

7. A kénhidrogéntermelés kimutatása MORSE és WEAVER (1950) módszerével, ólomacetátos indikátorpapírral történt.

8. Metilvörös és Voges—Proskauer teszt. Tenyésztés glukóz-foszfát mediumban. Az acetoin kimutatását BARRITT (1936) szerint végeztük.

9. Kataláz teszt. 48 órás tenyészetekre 10%-os  $\text{H}_2\text{O}_2$ -ot csöppentve, a gázképződés intenzitását és gyorsaságát figyeltük meg.

10. Oxidáz teszt KOVÁCS (1956) szerint.

A *Bacillus megaterium* csoport reprezentatív törzseivel elvégzett tesztek:

11. Fonal- és láncépzés, továbbá aktív mozgás megfigyelése RHODES (1958) által ajánlott, élesztőkivonatós táptalajon elszaporodó, 24 órás tenyészetek felhasználásával.

12. A spórák sejten belüli lokalizációjának megfigyelése. Festés SCHAEFFER és FULTON (1933) malachitzöldes festési módszerével.

13. Aktív mozgás megfigyelése félszilárd Bacto Motility Test Mediumban 36—48 óra inkubáció után.

14. Növekedés megfigyelése 3—5 °C, 9—11 °C, 37 °C, 45 °C és 50 °C hőmérsékleten, a fenntartásra szolgáló táptalajon.

15. Hőkezelés túlélése. Nutrient Broth-ban előállított, 24 órás tenyészeteket vízfürdőn 10 percig 40 °C, 50 °C és 60 °C-os kezelésnek vetettünk alá, majd a szuszpenziók meghatározott mennyiségeit nutrient agarlemezek felületén szélesztettük. 24—48 óra inkubáció után a kifejlődő telepek a kérdéses tenyészet túlélő képességét demonstrálták.

16. Növekedés megfigyelése Bacto Anaerobic Agarban egy hét inkubáció után.

17. NaCl tolerancia. A tenyészeteket 0, 3, 7 és 10% NaCl-ot tartalmazó táplevesbe oltottuk.

18. Lizozim érzékenység. Vizsgálatához a KLOOS és mtsai által 1974-ben ajánlott táptalajt használtuk fel. A vizsgálatot SCHLEIFER és KLOOS (1975) szerint végeztük el, kétféle lizozim koncentráció (0,001% és 0,04%) hatását regisztrálva.

19. Növekedés epesók jelenlétében. A tenyészeteket 5% és 10% epesót (Difco Bile Salts) tartalmazó nutrient agarlemezeken oltottuk. A növekedés intenzitását egy hét inkubáció után figyeltük meg.

20. Növekedés Bacto MacConkey Agaron. Értékelés 6 napi inkubáció után.

21. A nitrátredukció kimutatását Bacto Nitrate Broth-ban elszaporodó, 6 napos tenyészetekkel, COWAN és STEEL (1965) szerint hajtottuk végre.

22. A metilénkék redukcióját 0,002% metilénkéket tartalmazó táp-levésben figyeltük meg.

23. Antibiotikumok és antimikrobiális anyagok iránti érzékenység kimutatása a Human Oltóanyagtermelő és Kutató Intézet által előállított Resistest korongokkal történt. A tenyészeteket nutrient agarlemezeken szélesztettük, majd a korongokat az így fertőzött lemezek felületére helyeztük. Az érzékenységet 24 óra inkubálás után megállapítottuk: a kialakult gátló zónák sugarának és a korongok sugarának különbségét mértük mm-ben. A vizsgált anyagok felsorolását l. az 5. táblázatban.

24. A szénhidrátok oxidatív, illetve fermentatív úton történő lebontását HUGH és LEIFSON (1953) szerint vizsgáltuk. A tesztelt szénhidrátokat l. a 4. táblázatban.

25. Szénhidrátok egyedüli szénforrásként történő értékesítése. A felhasznált táptalaj a GORDON és MIHM által 1957-ben ajánlott, módosított Koser-féle citrát medium volt. Az eredmények leolvasása 3 hét inkubáció alatt folyamatosan történt. A szénhidrátok részletes felsorolását l. a 3. táblázatban.

26. Az indolképzés kimutatása peptonvízből, Nutrient Broth-ból és 1 g/l triptofánt tartalmazó Nutrient Broth-ból Kovács-reagenssel, illetve Bacto Indole Test Strips segítségével történt.

27. Ammóniatermelés kimutatását 6 napos peptonvizes tenyészetekből Nessler-reagenssel eszközöltük.

28. Keményítő hidrolízis. Difco solubilis keményítőt tartalmazó, nutrient agarlemezeken felületén fejlődött ötnapos tenyészetek  $\alpha$ -amiláz aktivitását mutattuk ki Lugol-oldat segítségével.

29. A kazeáz kimutatását a HASTINGS által 1903-ban és 1904-ben ajánlott módszer egy változatával, Bacto Skim Milk tartalmú nutrient agarlemezeken segítségével végeztük.

30. A zselatin elfolyósítás kimutatása COWAN és STEEL (1965) 2. módszere szerint, Bacto Nutrient Gelatin felhasználásával történt.

31. A lipolitikus aktivitást SIERRA (1957) szerint regisztráltuk.

32. A lecitináz termelését GORDON és mtsai (1973) módszerével mutattuk ki.

33. Arginin hidrolízis. Az arginin-glukóz táplevesben kifejlődött, 5 napos tenyészetek ammóniatermelését Nessler-reagenssel detektáltuk.

34. Az eszkuin hidrolízisét COWAN és STEEL (1965) módszere alapján figyeltük meg.

35. Az ureáz kimutatása CHRISTENSEN (1946) szerint történt.

36. A hippurát hidrolízisét THIRST (1957), valamint HARE és COLEBROOK (1934) módszerével vizsgáltuk.

37. A DN-áz és RN-áz enzimek termelésének detektálását JEFFRIES és mtsai (1957) módszerével végeztük.

38. Fenilalanin dezamináció. A vizsgálatához az EWING és mtsai által 1957-ben ajánlott, fenilalanin-élesztőkivonat táptalajt alkalmaztuk, REPORT (1958) módszerével.

39. A foszfátáz termelését COWAN és STEEL (1965) útmutatása alapján fenolftalein-foszfát nátriumsóját tartalmazó nutrient agarlemezek felhasználásával regisztráltuk.

40. Kitináz aktivitás kimutatása. A kolloidális kitint LINGAPPA és LOCKWOOD (1962) szerint állítottuk elő. A kitinbontást GRIMONT et al (1977) módszerével, kitintartalmú nutrient agarlemezekon vizsgáltuk.

41. Cellulóz bontás. Alaptáptalajként WAKSMAN (1961) keményítő— $\text{NaNO}_3$  agarjának módosított változatát használtuk, ebbe 0,5% cellulózt inkorporáltunk, és az alaptáptalajjal készült agarlemezekre felülrétegeztük. A megfigyeléseket 4 héten keresztül folytattuk.

42. A hemolizin kimutatását steril marhavérrel készült agarlemezekon végeztük.

Megjegyzés: A táptalajok előállításánál és a tesztek kivitelezésénél első sorban „Difco”, „Oxoid” vagy „Merck” vegyszereket, illetve készítményeket használtunk.

### Eredmények ismertetése

Az izolálás folyamán a három talajszintből összesen 143, utólag *Bacillus megaterium*-nak minősített törzset különítettünk el: 34-et az  $A_F$ , 100-at az  $A_H$  és 9-et a B horizontból. A *B. megaterium* törzsek egyébként az összes izolált *Bacillus* törzs 89%-át tették ki. (1. táblázat).

1. táblázat

Az összes izolált *Bacillus* spp. és *Bacillus megaterium* törzsek aránya

| Összes izolált <i>Bacillus</i> törzs |     | Izolált <i>B. megaterium</i> törzsek |    |
|--------------------------------------|-----|--------------------------------------|----|
| száma                                | %   | száma                                | %  |
| 160                                  | 100 | 143                                  | 89 |

A *B. megaterium* tanulmányozott lokális populációjának legfontosabb jellemző tulajdonságait a következőkben foglalhatjuk össze (részletesen l. a 2., 3., 4., és 5. táblázatban):

1. A sejtek nagyok, átmérőjük  $1,05-1,4 \mu$ , hosszuk  $2,49-8,06 \mu$ .
2. A spóra ovális, centrális helyzetű, a spórafal vékony, a sporangium nem duzzadt.
3. Mozgásképeség a törzsek 57%-ánál pozitív.
4. Gram variábilis.
5. Kataláz pozitív.
6. Indolképzés negatív.
7. Voges—Proskauer reakció negatív.
8. Növekedés szintetikus táptalajon (glukóz + ammóniumsó jelenlétében) pozitív.
9. Keményítő hidrolízis pozitív.
10. Zselatin elfolyósítás pozitív.
11. Savképzés glukózból pozitív.
12. Savképzés mannitból pozitív.
13. Citráthasznosítás 70%-ban negatív.
14. A növekedés hőmérsékleti minimuma:  $3-5^{\circ}\text{C}$ .
15. A növekedés hőmérsékleti maximuma:  $50^{\circ}\text{C}$ -nál gyenge növekedés.
16. Hemolitikus aktivitás negatív.
17. Nitrátok redukciója nitritig pozitív.
18. Növekedés 3% NaCl jelenlétében pozitív (csupán 7%-ban negatív).
19. Ureáz aktivitás 50%-ban pozitív.
20. Kénhidrogén termelés a törzsek 30%-ánál igen gyengén pozitív.

## 2. táblázat

Az elsődleges szelekciónak alávetett 143 *B. megaterium* törzs összehasonlításához felhasznált diagnosztikai bélyegek

|                                  |                                      |
|----------------------------------|--------------------------------------|
| Sejtalak                         | pálcika                              |
| Sejt átmérő                      | $1,05-1,40 \mu$                      |
| Sejt hossz méret                 | $2,49-8,06 \mu$                      |
| Festődés Gram szerint            | variábilis                           |
| Spóra alakja                     | ovális                               |
| Spóra átmérője                   | $1,23 \mu$                           |
| Spóra hossza                     | $1,56-2,16 \mu$                      |
| Citráthasznosítás                | negatív (70%), pozitív (30%)         |
| Növekedés szintetikus táptalajon | pozitív                              |
| H <sub>2</sub> S termelés        | negatív (70%), gyengén pozitív (30%) |
| Kataláz                          | pozitív                              |
| Oxidáz                           | pozitív                              |
| Voges-Proskauer reakció          | negatív                              |
| Metilvörös teszt                 | negatív                              |
| Növekedés pH=5-nél               | pozitív (53%), negatív (47%)         |

## 3. táblázat

Reprezentatív *Bacillus megaterium* törzsek tulajdonságanalízise I.  
Morfológiai, élettani-biokémiai jellemvonások

| Tulajdonságok                       | Vizsgált<br>törzsek<br>száma | Pozitív          |      | Negatív          |      | Variábilis vagy<br>nem értékelhető |      |
|-------------------------------------|------------------------------|------------------|------|------------------|------|------------------------------------|------|
|                                     |                              | törzsek<br>száma | %    | törzsek<br>száma | %    | törzsek<br>száma                   | %    |
| Lipolitikus aktivitás               |                              |                  |      |                  |      |                                    |      |
| Tween 40                            | 33                           | 33               | 100  | 0                | 0    | 0                                  | 0    |
| Tween 60                            | 33                           | 31               | 94   | 0                | 0    | 2                                  | 6    |
| Tween 80                            | 33                           | 32               | 97   | 1                | 3    | 0                                  | 0    |
| Ureáz aktivitás                     | 33                           | 16               | 48,5 | 7                | 21,2 | 10                                 | 30,3 |
| Zselatin elfolyósítása              | 33                           | 30               | 90,9 | 3                | 9,1  | 0                                  | 0    |
| Arginin hidrolízis                  | 33                           | 0                | 0    | 33               | 100  | 0                                  | 0    |
| Keményítő hidrolízis                | 33                           | 33               | 100  | 0                | 0    | 0                                  | 0    |
| NaCl tolerancia, 3%                 | 33                           | 33               | 100  | 0                | 0    | 0                                  | 0    |
| 7%                                  | 33                           | 0                | 0    | 33               | 100  | 0                                  | 0    |
| Kazeáz termelés                     | 33                           | 20               | 60,6 | 13               | 39,4 | 0                                  | 0    |
| Eszkulin hidrolízis                 | 33                           | 26               | 78,8 | 4                | 12,1 | 3                                  | 9,1  |
| Indolképzés                         | 33                           | 0                | 0    | 33               | 100  | 0                                  | 0    |
| Ammónia termelés peptonvízből       | 33                           | 0                | 0    | 31               | 94   | 2                                  | 6    |
| Hemolizin termelés                  | 33                           | 0                | 0    | 33               | 100  | 0                                  | 0    |
| Növekedés MacConkey Agaron          | 33                           | 0                | 0    | 33               | 100  | 0                                  | 0    |
| Növekedés 5% epesó jelenlétében     | 33                           | 31               | 94   | 2                | 6    | 0                                  | 0    |
| 10% epesó jelenlétében              | 33                           | 18               | 54,5 | 15               | 45,5 | 0                                  | 0    |
| Metilénkék redukciója               | 33                           | 0                | 0    | 33               | 100  | 0                                  | 0    |
| Nitrátredukció nitritig             | 33                           | 33               | 100  | 0                | 0    | 0                                  | 0    |
| Növekedés 3–5 °C-on                 | 10                           | 10               | 100  | 0                | 0    | 0                                  | 0    |
| 50 °C-on                            | 33                           | 33               | 100  | 0                | 0    | 0                                  | 0    |
| Hőtolerancia, 60 °C                 | 33                           | 26               | 78,8 | 7                | 21,2 | 0                                  | 0    |
| Celluláz aktivitás                  | 33                           | 0                | 0    | 33               | 100  | 0                                  | 0    |
| Kitináz aktivitás                   | 33                           | 0                | 0    | 33               | 100  | 0                                  | 0    |
| Fenilalanin deamináz                | 33                           | 0                | 0    | 33               | 100  | 0                                  | 0    |
| Láncképzés                          | 33                           | 33               | 100  | 0                | 0    | 0                                  | 0    |
| Mozgékonyság                        | 33                           | 19               | 57,6 | 13               | 39,4 | 1                                  | 3    |
| DN-áz aktivitás                     | 33                           | 31               | 94   | 1                | 3    | 1                                  | 3    |
| RN-áz aktivitás                     | 33                           | 33               | 100  | 0                | 0    | 0                                  | 0    |
| Hippurát hidrolízis                 | 33                           | 33               | 100  | 0                | 0    | 0                                  | 0    |
| Szenzitív 0,04% lizozimmal szemben  | 33                           | 33               | 100  | 0                | 0    | 0                                  | 0    |
| Szenzitív 0,001% lizozimmal szemben | 10                           | 10*              | 100  | 0                | 0    | 0                                  | 0    |

(A 3. táblázat folytatása)

| Tulajdonságok             | Vizsgált törzsek száma | Pozitív       |      | Negatív       |      | Variábilis vagy nem értékelhető |      |
|---------------------------|------------------------|---------------|------|---------------|------|---------------------------------|------|
|                           |                        | törzsek száma | %    | törzsek száma | %    | törzsek száma                   | %    |
| Foszfátáz                 | 33                     | 33            | 100  | 0             | 0    | 0                               | 0    |
| Lecitináz                 | 10                     | 0             | 0    | 10            | 100  | 0                               | 0    |
| Növekedés anaerob agarban | 33                     | 0             | 0    | 33            | 100  | 0                               | 0    |
| Szénforrás értékesítés    |                        |               |      |               |      |                                 |      |
| glukóz                    | 33                     | 32            | 97   | 1             | 3    | 0                               | 0    |
| laktóz                    | 33                     | 0             | 0    | 33            | 100  | 0                               | 0    |
| mannit                    | 33                     | 32            | 97   | 1             | 3    | 0                               | 0    |
| L-arabinóz                | 33                     | 1             | 3    | 32            | 97   | 0                               | 0    |
| szacharóz                 | 33                     | 33            | 100  | 0             | 0    | 0                               | 0    |
| ramnóz                    | 33                     | 19            | 57,6 | 14            | 42,4 | 0                               | 0    |
| D-fruktóz                 | 33                     | 33            | 100  | 0             | 0    | 0                               | 0    |
| D-galaktóz                | 33                     | 5             | 15,2 | 27            | 81,8 | 1                               | 3    |
| L(-)-szorbóz              | 33                     | 0             | 0    | 33            | 100  | 0                               | 0    |
| D-mannóz                  | 33                     | 15            | 45,5 | 17            | 51,5 | 1                               | 3    |
| maltóz                    | 33                     | 32            | 97   | 1             | 3    | 0                               | 0    |
| melibióz                  | 33                     | 0             | 0    | 33            | 100  | 0                               | 0    |
| raffinóz                  | 33                     | 22            | 66,7 | 9             | 27,3 | 2                               | 6    |
| D-szorbit                 | 33                     | 28            | 84,8 | 5             | 15,2 | 0                               | 0    |
| dextrin                   | 33                     | 33            | 100  | 0             | 0    | 0                               | 0    |
| D-fukóz                   | 33                     | 3             | 9,1  | 23            | 69,7 | 7                               | 21,2 |
| adonit                    | 33                     | 2             | 6    | 31            | 94   | 0                               | 0    |
| inozit                    | 33                     | 5             | 15,2 | 28            | 84,8 | 0                               | 0    |
| tagatóz                   | 33                     | 0             | 0    | 33            | 100  | 0                               | 0    |
| dulcit                    | 33                     | 1             | 3    | 32            | 97   | 0                               | 0    |
| inulin                    | 33                     | 30            | 90,9 | 3             | 9,1  | 0                               | 0    |
| szalicin                  | 33                     | 30            | 90,9 | 3             | 9,1  | 0                               | 0    |
| glicerín                  | 33                     | 33            | 100  | 0             | 0    | 0                               | 0    |

\* Kevés rezisztens sejt kolóniaképzése megfigyelhető

21. Kazein hidrolízis 60%-ban pozitív.

22. Anaerob növekedés negatív.

23. Lecitináz aktivitás negatív.

24. 0,001% és 0,04% lizozimra érzékenyek (0,001% lizozim esetében még néhány rezisztens sejt kolóniaképzése figyelhető meg).

25. Oxidáz teszt pozitív.

26. Metilvörös-próba negatív.

27. pH = 5-nél a törzsek 53%-a gyenge növekedést mutat.

28. Termotolerancia: 60 °C-os kezelés hatására a túlélés 80%-ban pozitív.

29. Növekedés epesók jelenlétében: 5% epesó esetén pozitív, 10% epesó jelenlétében a törzsek 54%-ánál még ugyancsak pozitív.

30. Bacto MacConkey Agar on nem fejlődnek.

31. Metilénkék redukció negatív.

32. Antibiotikumok és antimikrobiális anyagok közölt koncentrációival szembeni érzékenység: nisztatinnal szemben rezisztensek, polimixin-B, ko-

#### 4. táblázat

Reprezentatív *Bacillus megaterium* törzsek tulajdonságanalízise II. Savtermelés szénhidrátokból (Hugh és Leifson teszt)

| A felhasznált szénforrások | Pozitív       |      | Gyengén pozitív |      | Negatív       |      | Variábilis vagy nem értékelhető |   |
|----------------------------|---------------|------|-----------------|------|---------------|------|---------------------------------|---|
|                            | törzsek száma | %    | törzsek száma   | %    | törzsek száma | %    | törzsek száma                   | % |
| Glukóz                     | 4             | 12,1 | 27              | 81,8 | 2             | 6,1  | 0                               | 0 |
| Laktóz                     | 0             | 0    | 0               | 0    | 33            | 100  | 0                               | 0 |
| Mannit                     | 21            | 63,6 | 8               | 24,3 | 4             | 12,1 | 0                               | 0 |
| L-arabinóz                 | 0             | 0    | 1               | 3    | 32            | 97   | 0                               | 0 |
| D-xilóz                    | 0             | 0    | 7               | 21,2 | 26            | 78,8 | 0                               | 0 |
| Szacharóz                  | 10            | 30,3 | 20              | 60,6 | 3             | 9,1  | 0                               | 0 |
| D-fruktóz                  | 9             | 27,3 | 22              | 66,6 | 2             | 6,1  | 0                               | 0 |
| Dextrin                    | 0             | 0    | 11              | 33,3 | 22            | 66,7 | 0                               | 0 |
| Dulcit                     | 0             | 0    | 1               | 3    | 32            | 97   | 0                               | 0 |
| D-galaktóz                 | 0             | 0    | 0               | 0    | 33            | 100  | 0                               | 0 |
| Inulin                     | 2             | 6,1  | 20              | 60,6 | 11            | 33,3 | 0                               | 0 |
| Inozit                     | 0             | 0    | 1               | 3    | 32            | 97   | 0                               | 0 |
| D-szorbit                  | 0             | 0    | 19              | 57,6 | 14            | 42,4 | 0                               | 0 |
| Ramnóz                     | 0             | 0    | 10              | 30,3 | 23            | 69,7 | 0                               | 0 |
| Raffinóz                   | 7             | 21,2 | 22              | 66,7 | 4             | 12,1 | 0                               | 0 |
| D-mannóz                   | 0             | 0    | 0               | 0    | 33            | 100  | 0                               | 0 |
| L(-)-szorbóz               | 0             | 0    | 0               | 0    | 33            | 100  | 0                               | 0 |
| Maltóz                     | 4             | 12,1 | 2               | 6,1  | 27            | 81,8 | 0                               | 0 |
| Melibióz                   | 0             | 0    | 0               | 0    | 33            | 100  | 0                               | 0 |
| Trehalóz                   | 13            | 39,4 | 18              | 54,5 | 2             | 6,1  | 0                               | 0 |
| Cellobióz                  | 1             | 3    | 16              | 48,5 | 16            | 48,5 | 0                               | 0 |
| Glicerín                   | 5             | 15,1 | 25              | 75,8 | 3             | 9,1  | 0                               | 0 |
| Szalicin                   | 0             | 0    | 0               | 0    | 33            | 100  | 0                               | 0 |

## 5. táblázat

Reprezentatív *Bacillus megaterium* törzsek tulajdonságanalízise. III. Antibiotikum érzékenység

| Antibiotikum megnevezése | Rezisztens<br>(0 mm)* |      | Kismérvű szennitász<br>(0,1–12 mm)* |      | Közepesszenitász<br>(12–20 mm)* |      | Erős szennitász<br>(20–32 mm)* |      |
|--------------------------|-----------------------|------|-------------------------------------|------|---------------------------------|------|--------------------------------|------|
|                          | törzsek<br>száma      | %    | törzsek<br>száma                    | %    | törzsek<br>száma                | %    | törzsek<br>száma               | %    |
| Penicillin (3 NE)        | 0                     | 0    | 20                                  | 60,6 | 8                               | 24,2 | 5                              | 15,2 |
| Oxacillin (10 µg)        | 0                     | 0    | 21                                  | 63,7 | 11                              | 33,3 | 1                              | 3    |
| Streptomycin (30 µg)     | 0                     | 0    | 27                                  | 81,8 | 6                               | 18,2 | 0                              | 0    |
| Klóramfenikol (30 µg)    | 0                     | 0    | 0                                   | 0    | 31                              | 93,9 | 2                              | 6,1  |
| Meticillin (20 µg)       | 0                     | 0    | 0                                   | 0    | 22                              | 66,7 | 11                             | 33,3 |
| Oleandomicin (20 µg)     | 0                     | 0    | 6                                   | 18,2 | 27                              | 81,8 | 0                              | 0    |
| Tetraciklin (30 µg)      | 0                     | 0    | 0                                   | 0    | 21                              | 63,6 | 12                             | 36,4 |
| Neomicin (100 µg)        | 0                     | 0    | 33                                  | 100  | 0                               | 0    | 0                              | 0    |
| Gentamicin (20 µg)       | 0                     | 0    | 32                                  | 97   | 1                               | 3    | 0                              | 0    |
| Ampicillin (20 µg)       | 0                     | 0    | 0                                   | 0    | 15                              | 45,5 | 18                             | 54,5 |
| Linkomicin (10 µg)       | 1                     | 3    | 32                                  | 97   | 0                               | 0    | 0                              | 0    |
| Cefalosporin (10 µg)     | 0                     | 0    | 7                                   | 21,2 | 21                              | 63,6 | 5                              | 15,2 |
| Polimixin-B (15 µg)      | 0                     | 0    | 33                                  | 100  | 0                               | 0    | 0                              | 0    |
| Eritromicin (10 µg)      | 0                     | 0    | 0                                   | 0    | 26                              | 78,8 | 7                              | 21,2 |
| Szuperszeptil (400 µg)   | 31                    | 93,9 | 2                                   | 6,1  | 0                               | 0    | 0                              | 0    |
| Nitrofurantoin (300 µg)  | 0                     | 0    | 0                                   | 0    | 30                              | 90,9 | 3                              | 9,1  |
| Klórtetraciklin (30 µg)  | 0                     | 0    | 0                                   | 0    | 28                              | 84,8 | 5                              | 15,2 |
| Kolisztin (20 µg)        | 0                     | 0    | 33                                  | 100  | 0                               | 0    | 0                              | 0    |
| Spiramicin (30 µg)       | 0                     | 0    | 21                                  | 63,7 | 11                              | 33,3 | 1                              | 3    |
| Kanamycin (30 µg)        | 0                     | 0    | 30                                  | 90,9 | 3                               | 9,1  | 0                              | 0    |
| Oxitetraciklin (30 µg)   | 0                     | 0    | 0                                   | 0    | 32                              | 97   | 1                              | 3    |
| Prisztinamicin (10 µg)   | 0                     | 0    | 28                                  | 84,8 | 5                               | 15,2 | 0                              | 0    |
| Karbenicillin (50 µg)    | 0                     | 0    | 9                                   | 27,2 | 19                              | 57,6 | 5                              | 15,2 |
| Szumetrolim (25 µg)      | 29                    | 87,8 | 2                                   | 6,1  | 2                               | 6,1  | 0                              | 0    |
| Vankomicin (50 µg)       | 0                     | 0    | 16                                  | 48,5 | 16                              | 48,5 | 1                              | 3    |
| Nisztatin (100 NE)       | 33                    | 100  | 0                                   | 0    | 0                               | 0    | 0                              | 0    |
| Paromomicin (50 µg)      | 0                     | 0    | 33                                  | 100  | 0                               | 0    | 0                              | 0    |
| Novobiocin (30 µg)       | 0                     | 0    | 22                                  | 66,7 | 11                              | 33,3 | 0                              | 0    |
| Nalidix-sav (30 µg)      | 2                     | 6,1  | 31                                  | 93,9 | 0                               | 0    | 0                              | 0    |

\* A gátló zóna és a Resistest korong sugarának különbsége

lisztin és paromomicin jelentéktelen gátlóhatást fejt ki; szuperszeptil és szumetrolim a törzsek mintegy 90%-ánál nem eredményez gátlást, néhány törzsre azonban közepesen hat; kismértékben szenzitívek neomicinre, gentamicinre, linkomicinre, novobiocinra, nalidix-savra; viszonylatukban kis és közepes mértékű gátlást hoz létre a streptomycin, oleandomicin, spiramicin, kanamicin, prisztinamicin, vankomicin; közepesen és erősen gátló hatású az oxitetraciklin, klóramfenikol, meticillin, tetraciklin, ampicillin, eritromicin, nitrofurantoin, klórtetraciklin; a penicillin és oxacillin esetében a törzsek mintegy 60%-ánál csak csekély hatás mutatkozik, a többi törzs jóval szenzitívebb; karbenicillinnel szemben az érzékenység mértéke igen különböző, és hasonló a cefalosporin hatása is.

33. Savtermelés szénhidrátokból: a már említett glukózon és manniton kívül a törzsek savképzése volt észlelhető még szacharóz, fruktóz, trehalóz,

glicerín, továbbá 70%-uknál az inulin, 85%-uknál a raffinóz és cca 50%-uknál a szorbit és cellobióz esetében is.

34. Szénforrás értékesítés  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -nak, mint N-forrásnak a jelenlétében a glukóz, mannit, szacharóz, fruktóz, maltóz, dextrin, szalicin, glicerín és inulin esetében pozitív; a törzsek 85%-a felhasználja a szorbitot, 60%-a a ramnózt és raffinózt, a törzsek fele pedig a mannózt.

35. Arginin hidrolízis negatív.

36. Eszkulin hidrolízis a törzsek 80%-ánál pozitív.

37. Peptonvízből ammónia termelés negatív.

38. Lipolitikus aktivitás pozitív.

39. Fenilalanin deamináz termelés negatív.

40. Cellulóz- és kitinbontás negatív.

41. DN-áz és RN-áz termelés pozitív.

42. Hippurát aktivitás pozitív.

43. Foszfataz teszt pozitív.

### Az eredmények megbeszélése

Amint a fentebb ismertetett adatokból és a 6. táblázaton bemutatott összehasonlításból is kitűnik, a síkfőkúti barna erdőtálajból elkülönített és dominánsnak minősített *Bacillus* törzs-csoport nagyfokú megegyezést mutat a különböző szerzők által a *Bacillus megaterium* fajjal azonosított szervezetekkel. A síkfőkúti *Bacillus megaterium* populáció tulajdonságspektruma azonban bizonyos mértékig el is tér a diagnosztikai bélyegek azon aspektusától, amellyel az irodalomban általánosságban a *Bacillus megaterium* tipikus alakjait jellemzik. Így pl. ezt a szervezetet általában, mint citráthasznosítót jelölik meg, bár pl. GORDON és mtsai (1973) autentikus törzsei között az ATCC 89 jelzésű törzset e tekintetben negatívnak, az ATCC 12138 jelölésű *B. megaterium* törzset pedig kérdésesnek találták. A síkfőkúti talaj *Bacillus megaterium* populációjában az egyébként az irodalom szerint nem gyakori, de mégis előforduló, citrát negatív törzsek aránya feltűnően nagy, így 70%-át teszik ki az összes izolált *B. megaterium* törzsnek.

A Bergey's Manual leírása (1974) a *Bacillus megaterium* savtermelését arabinózból változóznak minősíti. Ezt a tulajdonságot GORDON és mtsai (1973) is variábilisnak találták. SZABÓ (1974) 2 autentikus *Bacillus megaterium* törzse (NCTC 7581, RIPP A-112) közül is az egyik arabinóz negatívnak mutatkozott. A síkfőkúti *Bacillus megaterium* populációt képviselő törzskollekció 97%-a arabinózból nem képes savat termelni.

A *Bacillus megaterium* növekedésének hőmérsékleti maximumát az irodalmi adatok egybehangzóan 35 °C és 45 °C között jelölik meg. E faj általunk izolált törzsei azonban, igen gyengén bár, de még 50 °C-on is szaporodtak.

6. tábl-

A „Sikfőkút-Project” barna erdőtalajából kitenyésztett *Bacillus mega-*diagnosztikai bélyegeinek egybevetése a vonatkozó

|                                    | <i>B. megaterium</i><br>(Berger's Manual, 1974) | <i>B. megaterium</i> -badius<br>csoport<br>(BONDE 1973) | <i>B. megaterium</i><br>(GORDON és mtsai 1973) |
|------------------------------------|-------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Sejtátmérő                         | 1,2—1,5 $\mu$                                   | 0,9 $\mu$ fölött (96%)                                  | 1,2—1,5 $\mu$                                  |
| Sejt hossz méret                   | 2—5 $\mu$                                       | 7 $\mu$ alatt (21%)                                     | 2—5 $\mu$                                      |
| Festődés Gram szerint              |                                                 | pozitív (29%)                                           | pozitív (3,3% variábilis)                      |
| Spóra alakja                       | rövid-oválistól<br>megnyúltig                   | ovális (83%)                                            | elliptikus (néha kerek)                        |
| Spóra helyzete                     |                                                 | centrális (50%)                                         | centrális vagy para-<br>centrális              |
| Keményítő hidrolízis               |                                                 | pozitív (79%)                                           | pozitív                                        |
| Voges-Proskauer reakció            |                                                 | pozitív (8%)                                            | negatív                                        |
| Metilvörös teszt                   |                                                 | pozitív (29%)                                           | változó                                        |
| Indolképzés                        |                                                 | pozitív (4%)                                            |                                                |
| Citráthasznosítás                  |                                                 | pozitív (79%)                                           | pozitív (1,7% negatív,<br>1,7% kérdéses)       |
| NaCl tolerancia                    |                                                 | 10% NaCl:<br>pozitív (0%)                               | 7% NaCl (a törzsek<br>15%-a negatív)           |
| Kataláz                            |                                                 |                                                         | pozitív                                        |
| Glicerín értékesítés               |                                                 | pozitív (100%)                                          |                                                |
| Savtermelés (oxidatív)             |                                                 |                                                         |                                                |
| glukózból                          | pozitív                                         | pozitív (96%)                                           | pozitív                                        |
| arabinózból                        | változó (pozitív<br>11—89%)                     | pozitív (71%)                                           | változó                                        |
| xilózból                           | változó (pozitív<br>11—89%)                     | pozitív (46%)                                           | változó                                        |
| mannitból                          | változó (pozitív<br>11—89%)                     | pozitív (67%)                                           | pozitív (15% negatív)                          |
| laktózból                          |                                                 |                                                         |                                                |
| Savtermelés (fermenta-<br>tív)     |                                                 |                                                         |                                                |
| glukózból                          |                                                 |                                                         |                                                |
| laktózból                          |                                                 |                                                         |                                                |
| Zselatin elfolyósítása             | pozitív                                         | pozitív (96%)                                           |                                                |
| Nitrátredukció                     | változó (pozitív<br>11—89%)                     | nitritig (67%),<br>N <sub>2</sub> (50%)                 | változó                                        |
| Metilénkék redukció                |                                                 | pozitív (8%)                                            |                                                |
| Ureáz aktivitás                    |                                                 | pozitív (17%)                                           |                                                |
| Növekedés hőmérsékleti<br>maximuma | 35—45 °C                                        | 44 °C pozitív<br>(88%)                                  | 35—45 °C                                       |

## lázat

*terium* törzsek főbb  
irodalmi adatokkal

| <i>B. megaterium</i> , NCTC 7581       | <i>B. megaterium</i> , RIPP A-112<br>(SZABÓ 1974) | A vizsgált <i>Bacillus megaterium</i> törzsek átlagadatai |
|----------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| 1,2—1,5 $\mu$                          | 1,1—1,5 $\mu$                                     | 1,05—1,40 $\mu$                                           |
| 1,5—2,5 $\mu$                          | 1,4—2,5 $\mu$                                     | 2,49—8,06 $\mu$                                           |
| variábilis                             | variábilis                                        | variábilis                                                |
| ovális                                 | ovális                                            | ovális                                                    |
| centrális                              | centrális                                         | centrális                                                 |
| pozitív                                | erősen pozitív                                    | pozitív                                                   |
| negatív                                | (pozitív)                                         | negatív                                                   |
| negatív                                | negatív                                           | negatív                                                   |
| negatív                                | negatív                                           | negatív                                                   |
| gyengén pozitív                        | pozitív                                           | negatív (70%),<br>pozitív (30%)                           |
| 3,5% NaCl pozitív,<br>10% NaCl negatív | 3,5% NaCl erősen pozitív,<br>10% NaCl negatív     | 3% NaCl pozitív,<br>7% NaCl negatív                       |
| erősen pozitív                         | erősen pozitív                                    | erősen pozitív (kb. 80%),<br>gyengén pozitív (20%)        |
| gyengén pozitív                        | kétséges vagy negatív                             | pozitív                                                   |
| (pozitív)                              | negatív                                           | pozitív                                                   |
| pozitív                                | negatív                                           | negatív                                                   |
|                                        |                                                   | pozitív (22%)                                             |
| pozitív                                | negatív                                           | pozitív                                                   |
| negatív                                | negatív                                           | negatív                                                   |
| negatív                                | pozitív                                           | pozitív                                                   |
| (pozitív)                              | negatív                                           | negatív                                                   |
| erősen pozitív                         | erősen pozitív                                    | pozitív (90%)                                             |
| negatív                                | nitritig                                          | nitritig                                                  |
| negatív                                | erősen pozitív                                    | negatív                                                   |
| erősen pozitív                         | negatív                                           | pozitív (50%)                                             |
| 37 °C erősen pozitív,<br>45 °C pozitív | 37 °C erősen pozitív,<br>45 °C gyengén pozitív    | 37 °C erősen pozitív,<br>50 °C gyengén pozitív            |

A *B. megaterium* törzsek, a leírások szerint, 7% NaCl jelenlétében általában még növekednek. GORDON és mtsai (1973) azonban egy egész sor törzset találtak, melyek e koncentrációnál már fejlődésképtelenek. A síkfőkúti *Bacillus megaterium* populáció általános jellemző tulajdonsága, hogy 7% NaCl jelenlétében egyetlen törzse sem képes szaporodni.

Kénhidrogént, az irodalmi adatok szerint, a *Bacillus megaterium* laboratóriumi körülmények között nem termel. Törzseink egy részénél igen gyenge  $H_2S$  képzést lehetett megfigyelni. Megjegyzendő, hogy Hugh- és Leifson-féle táptalajban, anaerob körülmények között, hosszú idő után savképzés is tapasztalható volt, noha anaerob agarban a törzsek nem növekedtek. KNIGHT és PROOM (1950), valamint GORDON és mtsai (1973) a *Bacillus megaterium* kazeáz aktivitását általában pozitívnak találták; törzseink ilyen aktivitást csak 60%-ban mutattak.

A következőkben felsorolt tulajdonságok megítélésénél figyelembe kell vennünk, hogy ezekre nézve gyakran ellentmondó vagy nem teljesen egyértelmű irodalmi utalásokat találhatunk. Az egyik ilyen karakterisztika pl. a Gram-festődés. GORDON és mtsai (1973) e fajt Gram pozitívnak jelölik, noha törzslistájukon 2 Gram variábilis *B. megaterium* törzs is szerepel. WHITE (1972) autentikus *B. megaterium* törzseket tanulmányozva, többségüket Gram variábilisnek minősítette. SZABÓ (1974) a *B. megaterium* NCTC 7581 és RIPP A-112 jelzésű törzseit Gram variábilisnak találta. PRIETO (1977) *B. megaterium* izolátumai között ugyancsak szerepeltek Gram variábilisak. A *Bacillus megaterium* Gram pozitivitását több szerző is beható vizsgálat tárgyává tette (SCHERRER 1963, BARTHOLOMEW és CROMWELL 1965, SMITH, 1970 stb.). SMITH különböző baktériumfajok Gram szerinti festődésének mértékét standard körülmények között vizsgálta, és a festékvisszatartás intenzitását illetően kvantitatív skála-beosztást adott meg. Megállapítása szerint a relatív maximális (100%) Gram pozitivitású *Staphylococcus aureus*-sal szemben a vizsgálatba vont *Bacillus megaterium* törzs Gram pozitivitása mindössze 59%-nak adódott. A síkfőkúti *Bacillus megaterium* populáció törzseire a tipikus Gram variabilitás a jellemző.

Amíg KNIGHT és PROOM (1950) e faj ureáz aktivitását variábilisnak, addig OTTOW (1972) határozottan pozitívnak minősítette, és a genuszon belüli faji differenciálás műveletéhez mint kulcsbélyeget javasolta alkalmazni. A síkfőkúti *Bacillus megaterium* törzsek 50%-a bizonyult ureáz negatívnak. Ugyancsak ureáz negatív a SZABÓ (1974) által vizsgált *Bacillus megaterium* Ripp A-112 törzs is. Így ez a tulajdonság semmiképpen sem sorolható a *B. megaterium*-ot a *Bacillus* genuszon belül faji szinten differenciáló, megkülönböztetett diagnosztikai fontosságú, „kulcsbélyegek” közé.

Törzseink fentebb tárgyalt biokémiai jellemvonásainak a típusos *B. megaterium* törzsek standard leírásától némileg elütő konstellációi még semmi esetre sem zárják ki a síkfőkúti mintaterületen dominánsnak talált *Bacillus* populáció tagjait e faj taxonjából. Az azonosítást a vizsgált nagyszámú és

jórészt a *B. megaterium*-nál éppen kulcsbéllyegnek minősített karakterisztika terén észlelt megegyezés teszi kifogástalanná. Már MISHUSTIN és MIRZOEVA (1968) is rámutatott, hogy más *Bacillus* fajokhoz hasonlóan, a *B. megaterium*-nak is különböző lokális ökotípusai léteznek. Ilyen ökotípusnak tekinthető a síkfőkúti populáció is.

MISHUSTIN és MIRZOEVA (1968), akik különböző talajtípusokban a *Bacillus megaterium* horizontális megoszlását tanulmányozták, tapasztalták, hogy ez a szervezet tömegesen elsősorban a felszínhez közelebbi horizontokban, így legfőképpen az A szint (humusz-horizont) különböző mélységeiben (szubhorizontjaiban) fordul elő. A *B. megaterium* populációja a síkfőkúti barna erdőtalajban is ezt a profil szerinti megoszlást mutatja; az izolátumok 24%-a származik az A<sub>F</sub>, 70%-a az A<sub>H</sub> és csak 6%-a a B horizontból. Feltehetően e faj a B horizontban az átiszapolódási folyamatokkal passzívan behurcolt, idegen mikroflóraelem lehet.

Ami a *Bacillus megaterium* elterjedését illeti, a már a bevezetésben ismertett adatokból is kiviláglik, hogy ez a faj az „északi” talajokból jórészt hiányzik, noha (az azokban is megtalálható) komplex szerves anyagokat egyébként intenzíven képes hasznosítani. MISHUSTIN (1968) véleménye szerint a geográfiai elterjedés e sajátossága az egyes földrajzi övezetek talajtípusainak eltérő fiziko-kémiai, biológiai dinamikájára vezethető vissza. Feltételezése szerint a *B. megaterium*-ra jellemző, hogy az északi régiók klimatikus viszonyaihoz nem képes alkalmazkodni. E kérdéshez csatlakozva, a liverpooli talajbakteriológiai szimpozion egyik vitájában WOLF (1968) kifejtette, hogy a spórák csírázásához szükséges aktiváló és kezdeményező környezeti feltételek a különböző *Bacillus* fajok esetében lényegesen eltérőek (pl. a *B. megaterium* a csírázásához glukózt igényel). A különféle talajtípusok pedig a csírázás számára ugyancsak eltérő ökológiai feltételeket nyújtanak. Az is előfordulhat, hogy egy *Bacillus* bizonyos talajtípusokból vagy miliókból azért pusztul ki, mert ezek körülményei között nem képes spórát létrehozni. E vitában részt vevő BARKER (1968) szerint kedvezőtlen hőmérsékleti viszonyok esetén, amikor a bacillusok egy talajban növekedésre nem képesek, akkor abban csak spórák alakjában vannak jelen. Ha ilyen feltételek között, pl. a téli időszak alatt valamilyen hatásra mégiscsak megindul és végbemegy a spórák csírázása, úgy a kialakult vegetatív sejtek elpusztulnak, mivel számukra hiányzanak elengedhetetlenül szükséges faktorok a növekedéshez és szaporodáshoz. Ily módon a *B. megaterium* az északi talajokból, pl. a tundráról lassan teljesen kivesz.

Igen valószínű azonban, hogy az „északi” és „déli” talajokban észlelt jelentős *B. megaterium* szám-differenciák még korántsem tükrözik vissza e faj sajátos elterjedési dinamikáját. Ezt igazolják SZABÓ (1974) adatai, aki egy magyarországi, már mediterrán flóraelemeket is tartalmazó terület rendzina-talajában *B. megaterium*-ot gyakorlatilag nem talált. Ezzel szemben e rendzina-

baktérium populációjában egy másik bacillusnak, a *B. subtilis*-nak domináns frakcióját lehetett kimutatni.

Sajnálatos módon a szakirodalomban a *B. megaterium* ökológiájára vonatkozó adatok sokszor csak nagyon nehezen értékelhetőek, mivel a rendszertani identifikálást nem mindig elegendő mennyiségű diagnosztikai bélyeg vizsgálatára alapították. Ezért az irodalmi adatok értékelésénél bizonyos óvatosságra van szükségünk.

Az általunk végrehajtott részletes tulajdonságanalízis eredményei felvilágosítással szolgálnak arra nézve is, hogy a *B. megaterium* populáció milyen ökofiziológiai potenciállal rendelkezhet a síkfőkúti, erdei ökoszisztéma tápanyag-regenerációs szintjében, így milyen anyagok bontásában, transzformációjában vehet részt, és hogy bizonyos ökológiai faktorok milyen skáláját képes tolerálni. Az adatokból kitűnik, hogy a populációra jellemző az erőteljes extracelluláris proteolitikus (zselatináz, kazeáz) aktivitás, ami nagy előnyt jelent a talajba beépült natív szervesanyagok elsődleges kolonizációjánál. A törzsek fele degradálja az ureát. Rendelkeznek a különböző lipidek lebontásához igényelt enzimmapparáttal, mely fontos jellemvonása a zymogén talajmikroflóra invázió képességű, primér domináns alakjainak. A szénhidrátok, cukoralkoholok széles skáláját tudják hasznosítani, így a glukózt, szacharózt, eszkulint, mannitot, keményítőt, fruktózt, szorbitot, raffinózt, trehalózt, cellobiózt, glicerint, szalicint, dextrint, maltózt, ramnózt. Ez a tény meggyőzően igazolja a *B. megaterium* fokozott biokémiai potenciálját, aminek viszont a talajban gyakran észlelhető nagy populációs denzitása a következménye. Törzsei degradálják az inulint. Egyedüli szénforrásként a hippurátokat, a törzsek egy része pedig a citrátokat is értékesíti. Az utóbbi arra utal, hogy a *B. megaterium* speciális növekedési anyagokat nem igényelve, a komplex szerves szénforrások kimerülése után a talajban még versenyképes maradhat a legegyszerűbb C-források hasznosítása terén is. Izolátumaink képesek voltak szervesen nitrogénforrás —  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  — jelenlétében is növekedni, és ez a másik kiemelkedően fontos ökológiai jellemvonásuk, mely a talaj természetes körülményei között számukra, a konkurrencia viszonyok közepette, megkülönböztetett előnyt jelent.

Extracelluláris DN-áz és RN-áz aktivitásuk révén nukleotid szükségletüket a talaj mikromilióiban dezintegrálódó és kolloidális méretű talajrézecskeken adszorbeálódó mikrobiális sejtek nukleinsav készleteiből szerezhetik be. Foszfátáz pozitivitásuk ugyancsak ökológiai jelentőségű, mivel a talaj szervesen foszforsavkészletének fogytán elélyes mobilizálói lehetnek a szerves kötésben található foszfornak. A *B. megaterium* törzsek sem kitint, sem cellulózt nem bontanak. Ez is jellemző tulajdonsága a zymogén mikroflóra tagjainak, melyek a szervesanyagok elsődleges inváziója, kolonizációja és a könnyen degradálható frakció kimerítése után a kitint és a cellulózt a specializáltabb degradatív képességekkel rendelkező autochton (benszülött) mikroflóra-

elemeknek hagyják hátra. Feltehetően a nitrátokat, legalábbis potenciálisan, terminális elektron-akceptorként használhatják, miközben azokat nitráttá redukálják szerves vegyületek egyidejű eloxidálásával. Mindemellett az a tény, hogy a síkfőkúti mintaterület talajszelvényében a *B. megaterium* vertikális megoszlása gyakorlatilag az  $A_F$ , továbbá az  $A_H$  horizontra összpontosul, míg e faj a B horizonban legfeljebb szórványos, természetsszerűleg állítható párhuzamba törzseinek obligát aerob voltaival, amit Bacto Anaerob Agarban növekedésük teljes hiánya is igazol. Figyelemre méltó tény, hogy a törzsek több mint 50%-a még  $pH = 5,0$ -nál is közepes, illetve gyenge növekedést mutat, ami szignifikáns ökológiai jellemvonás az erdőtalajok humuszhorizontjában végbemenő kilúgzási folyamatok szempontjából. A humuszsavakban gazdag, savanyú csurgaléklé az  $A_H$ -ban nemcsak a szabad  $CaCO_3$ -ot bontja meg, és mérsztelenítést előidézve a kalciumot a mélybe transzportálja, hanem a kolloidális komplexumba becserélődött Ca ionokat is hidrogén ionokra cseréli ki. Így a humuszhorizont vagy lokuszonként, vagy teljes egészében elsavanyodhat, amit a mikroflóra tagjainak tolerálnia kell. Abban a talajszelvényben, melyből izolátumaink származnak, a kalciumionok valamennyi horizont adszorpciós komplexusában dominálnak, bár a felülről lefelé haladó átnedvesedés hatására az A és B szintek komplexusában bizonyos mérvű telítetlenség tapasztalható, és ugyanezekben a szabad  $CaCO_3$  %-a is csak 0,5 körül van, szemben az anyakőzet (C-szint) 34,1%-ával. Vagyis a kilúgzás erősen hat, és döntő ökológiai tényezőként szerepel (SCHMIDT 1978a).

Törzseink a víz felületi feszültségének változásaival szemben toleranciát mutatnak: epesók jelenléte nem gátolja növekedésüket. Igen tág hőmérsékleti intervallumban ( $3-50^\circ C$  között) képesek szaporodni, és a száraz hőkezelést figyelemre méltó mértékben tolerálják. A hőszigetelő avartakaróval borított erdőtalaj humuszhorizontjában az évi dinamika keretében ritkán vagy sohasem emelkedik a talajhőmérséklet  $20-25^\circ C$  fölé. Ezért a *B. megaterium* populáció tagjai, melyek gyengén még  $50^\circ C$ -on is növekedésre képesek, viszonylag könnyen tolerálják a talajhőmérséklet felső termikus értékeinek ingadozását. Feltétlenül említést érdemel, hogy törzseink viszonylag alacsony hőmérsékleten, így  $3-5^\circ C$  között is, erőteljesen növekednek. Ez határozottan igazolja, hogy a *B. megaterium* geográfiai elterjedésében csupán a hideg klíma és az alacsony hőmérsékleti viszonyok kizárólagos szabályozó szerepével nem lehet számolni. E faj elterjedését sok más faktor komplex és a talajtípus sajátosságaiban manifesztálódó módon befolyásolhatja. A *B. megaterium*-nak a síkfőkúti miliőben is észlelhető, lokálisan kialakuló hatalmas populációs denzitásait sejtjeinek aktív mozgásképesége is érthetővé teszi, ugyanis laboratóriumi körülmények között a vizsgált törzsek közel 60%-a tanúsított aktív csillómozgást. Sajnos jelenleg még nincsenek konkrét adataink a bacillus sejtek in vivo mozgássebessége, a talajrézecskéket borító vízfilm vastagsága és a talaj pF értéke közötti összefüggésekről. Mindenesetre a síkfőkúti erdőtalaj

jellemző vízháztartása (SCHMIDT 1978a) optimális miliőt kell, hogy teremtsen a *B. megaterium* sejtek gyors szóródásához. Sótűrő képességük alacsony ugyan (3%), de a kilúgzásra hajlamos, erősen áteresztő, és a csurgaléklé hatásának kitett barna erdőtalajok felső szintjeinek ( $A_F$ ,  $A_H$ ) általános sódinamikáját figyelembe véve, még mindig érdemes mértekkü.

Amint azt az 5. táblázat adatai tanúsítják, a vizsgált *B. megaterium* törzsek túlnyomó többsége kifejezett szenzibilitást mutat számos antibiotikummal és antibakteriális anyaggal szemben. Ez az érzékenység különben alapvetően jellemző a *Bacillus* genusz tagjaira, és a feltételezések szerint ennek is tulajdonítható, hogy a talajban a gyors szaporodásukat biztosító, könnyen bontható szerves anyagok degradálása után a másodlagos invázióban részt vevő, lassú növekedésű és antibiotikumot termelő aktinomiceszekkel szemben már nem konkurrálhatnak.

Az a tény, hogy a tanulmány tárgyát képező barna erdőtalaj  $A_F$  és  $A_H$  horizontjaiban a *B. megaterium* kiemelkedő fontosságú, csíraszám tekintetében is domináns, illetve kodomináns tagja a tápelemregenerációt megvalósító mikrobiális közösségnek, arra utal, hogy igen kedvező biodinamikájú talajjal állunk szemben. Ezt igazolja többek között az  $A_H$ -szint mikrostruktúrája is, mely gyakorlatilag valódi szivacs struktúrájú, földigilisztá ürülék-mull, magas szintű aggregátstabilitással, kiterjedt mikroüregjáratrendszerrel és jó aeráltsággal. A *B. megaterium* csíraszám nemcsak a mezőgazdaságilag művelt talajokban nő, hanem bizonyos meghatározott genetikai típusú, kedvező biológiai dinamikájú, erdő alatt álló (eutróf vagy mezotróf) barna erdőtalajokban is. Itt kell megemlíteni, hogy talán összefüggés lehet a földigilisztáknak a kedvező talajdinamikát jelző aktivitása és a *B. megaterium* előfordulási gyakorisága között is. Igen kevés adatunk van a *B. megaterium* viselkedésére a földigiliszták emésztő traktusában, jóllehet, e szervezetek bélcsatornájában a talajmikroflóra mind faji szinten, mind totál populációs denzitását tekintve lényeges változáson megy keresztül, amint arra nemrég MÁRIALIGETI (1978) mutatott rá kitűnő összefoglalójában.

A *B. megaterium* populációnak denzitása több szerző szerint is (MISHUSTIN és MIRZOEVA 1968, PRIETO 1977 stb.) az egyenlítő irányába eső (tegyük hozzá: bizonyos genetikai talajtípusokhoz tartozó!), relatíve „déli” talajokban határozottan fokozódik, ami viszont egyértelműen párhuzamba állítható azzal a ténnyel, hogy a „déli” talajok mineralizációs aktivitása, általában és jelentősen meghaladja a viszonylag északiakét. A *B. megaterium* bizonyos meghatározott genetikai talajfejlődési sorok fokozott biológiai aktivitású talajtípusai mikrobiotájában nagy gyakorisággal szerepel domináns elemként.

A jövőben vizsgálatainkat a MAB-mintaterület *B. megaterium* populációjának évi mennyiségi fluktuációjára, in vivo biokémiai aktivitására és közösségi funkciójának felderítésére szándékozunk összpontosítani.

## Összefoglalás

A síkfőkúti MAB-mintaterület barna erdőtalajának  $A_F$ ,  $A_H$  és B horizontjait összehasonlító kvalitatív és kvantitatív bakteriológiai vizsgálatnak alávetve, a baktériumközösség domináns frakcióját reprezentáló 143 *Bacillus* törzset különítettünk el. E törzsek biokémiai-élettani és kulturális-morfológiai tulajdonságanalízise taxonómiai identitásukat igazolta a *B. megaterium* fajjal, melyet bizonyos genetikai talajtípusok relációjában a kedvező biológiai dinamika indikátor szervezetének is tekinthetünk. Ez a szervezet a síkfőkúti mintaterület barna erdőtalajának  $A_F$  és  $A_H$  horizontjaiban a tápanyagregenerációs és mineralizációs folyamatok első, a natív szervesanyagokra ható szakaszának egyik legfontosabb bioaktivátora lehet.

## IRODALOM

1. BARKER, A. N.: In Gray, T. R. G., Parkinson, D. eds: The ecology of soil bacteria. Liverpool Univ. Press 627 (1968).
2. BARRITT, M. M.: The intensification of the Voges-Proskauer reaction by the addition of  $\alpha$ -naphthol. J. Path. Bact. **42**, 441–454 (1936).
3. BARTHOLOMEW, J. W., CROMWELL, T.: Relative contribution of the cell wall, cytoplasmic membrane, and cytoplasm to the Gram-positive characteristic of *Bacillus megaterium*. J. Bact. **90**, 643–647 (1965).
4. Bergey's Manual of determinative bacteriology. (Buchanan, R. E., Gibbons, N. E. eds) Eighth edition. The Williams and Wilkins Co., Baltimore (1974).
5. BOHÁČEK, J., KOCUR, M., MARTINEC, T.: DNA base composition and taxonomy of some Micrococci. J. gen. Microbiol. **46**, 369–376 (1967).
6. BONDE, G. J.: The Genus *Bacillus*. An examination of 460 mesophilic strains. ISS Research Council's Series, 2. Copenhagen (1973).
7. CHRISTENSEN, W. B.: Urea decomposition as a means of differentiating *Proteus* and paracolon cultures from each other and from *Salmonella* and *Shigella*. J. Bact. **52**, 461 (1946).
8. COWAN, S. T., STEEL, K. J.: Manual for the identification of medical bacteria. Cambridge, Univ. Press (1965).
9. EWING, W. H., DAVIS, B. R., REAVIS, R. W.: Phenylalanine and malonate media and their use in enteric bacteriology. Publ. Health Lab. **15**, 153–167 (1957).
10. GORDON, R. E., HAYNES, W. C., HOR-NAY PANG, C.: The Genus *Bacillus*. Agriculture Handbook, 427. U. S. Dep. of Agriculture, Washington (1973).
11. GORDON, R. E., MIHM, J. M.: A comparative study of some strains received as *Nocardiae*. J. Bact. **73**, 15–27 (1957).
12. GRIMONT, P. A. D., GRIMONT, F., DULONG DE ROSNAY, H. L. C., SNEATH, P. H. A.: Taxonomy of the Genus *Serratia*. J. gen. Microbiol. **98**, 39–66 (1977).
13. HARE, R., COLEBROOK, L.: The biochemical reactions of haemolytic streptococci from the vagina of febrile and afebrile parturient women. J. Path. Bact. **39**, 429 (1934).
14. HASTINGS, E. G.: Milchagar als Medium zur Demonstration der Erzeugung proteolytischer Enzyme. Zbl. Bakt. II. **10**, 384 (1903).
15. HASTINGS, E. G.: The action of various classes of bacteria on casein as shown by milkagar plates. Zbl. Bakt., II. **12**, 590 (1904).
16. HUGH, R., LEIFSON, E.: The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various Gram negative bacteria. J. Bact. **66**, 24–26 (1953).
17. JAKUCS, P.: „Síkfőkút Project”, egy tölgyes ökoszisztéma környezetbiológiai kutatása a bioszféra-program keretében. MTA Biol. Oszt. Közl. **16**, 11–25 (1973).
18. JEFFRIES, C. D., HOLTMAN, D. F., GUSE, D. G.: Rapid method for determining the activity of microorganisms on nucleic acids. J. Bact. **73**, 590–591 (1957).
19. KLOOS, W. E., TORNABENE, T. G., SCHLEIFER, K. H.: Isolation and characterization of micrococci from human skin, including two new species: *Micrococcus lylae* and *M. kristinae*. Int. J. Syst. Bacteriol. **24**, 79–101 (1974).

20. KNIGHT, B. C. J. G., PROOM, H.: A comparative survey of the nutrition and physiology of mesophilic species in the Genus *Bacillus*. J. gen. Microbiol. **4**, 508—538 (1950).
21. KOVÁCS, N.: Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. Nature, Lond. **178**, 703 (1956).
22. LINGAPPA, Y., LOCKWOOD, J. L.: Chitin media for selective isolation and culture of Actinomycetes. Phytopathology **52**, 317—323 (1962).
23. MÁRIALIGETI, K.: Adatok a földigiliszták bakteriológiájához I. Vizsgálatok az *Eisenia lucens* (Waga, 1857) bélflóráján. Állattani közl. **64**, 129—141 (1977).
24. MISHUSTIN, E. N.: In: Gray, T. R. G., Parkinson, D. eds: The ecology of soil bacteria. Liverpool, Univ. Press 626 (1968).
25. MISHUSTIN, E. N., MIRSOEVA, V. A.: Sporeforming bacteria in the soils of the USSR. In: Gray, T. R. G., Parkinson, D. eds: The ecology of soil bacteria. Liverpool, Univ. Press 458—473 (1968).
26. MORSE, M. L., WEAVER, R. H.: Rapid microtechnics for identification of cultures. III. Hydrogen sulfide production. Amer. J. clin. Path. **20**, 481 (1950).
27. OTTOW, J. C. G.: Pectinolytic-, ureolytic- and lecithinolytic activity as a diagnostic aid in the identification of species classified in the Genus *Bacillus* Cohn. Zbl. Bakt. II. **127**, 301—312 (1972).
28. PRIETO, D. A.: Investigaciones sobre la poblacion bacteriana de un suelo latosolico plastico cultivado con caña de azucar. La Habana, kézirat. (1977).
29. Report: Report of the Enterobacteriaceae Subcommittee of the Nomenclature Committee of the International Association of Microbiological Societies. Int. Bull. bact. Nom. Tax. **8**, 25—70 (1958).
30. RHODES, M. E.: The citology of *Pseudomonas* spp. as revealed by a silverplating staining method. J. gen. Microbiol. **18**, 639—648 (1958).
31. SCHAEFFER, A. B., FULTON, M.: A simplified method of staining endospores. Science **77**, 194 (1933).
32. SCHERRER, R.: Cell structure and quantitative Gram stain of *Bacillus megaterium*. J. gen. Microbiol. **31**, 135—145 (1963).
33. SCHLIEFER, K. H., KLOOS, W. E.: Isolation and characterization of Staphylococci from human skin. I. Int. J. Syst. Bacteriol. **25**, 50—61 (1975).
34. SCHMIDT, K.: A síkfőkúti MAB-mintaterület barna erdőtalajának *Bacillus* és coryneform populációi. Doktori értekezés. ELTE, TTK (1978 a.).
35. SCHMIDT, K.: A tápanyagregenerációs szint (MAB-mintaterület, Síkfőkút) baktériumközösségének összehasonlító komputer analízise. Kézirat. (1978 b.).
36. SIERRA, G.: A simple method for the detection of lypolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. Antonie van Leeuwenhoek. **23**, 15—22 (1957).
37. SMITH, D. G.: A simple technique for the quantitative assessment of Gram positivity. J. appl. Bact. **34**, 361—367 (1971).
38. SZABÓ, I. M.: Microbial communities in a forest-rendzina ecosystem. The pattern of microbial communities. Akadémiai Kiadó, Budapest (1974).
39. THIRST, M. L.: Hippurate hydrolysis in *Klebsiella-Cloaca* classification. J. gen. Microbiol. **17**, 390—395 (1957).
40. WAKSMAN, S. A.: The Actinomycetes. I—II. The Williams and Wilkins Co., Baltimore (1961).
41. WHITE, P. J.: The nutrition of *Bacillus megaterium* and *Bacillus cereus*. J. gen. Microbiol. **71**, 505—514 (1972).
42. WOLF, J.: In: Gray, T. R. G., Parkinson, D. eds: The ecology of soil bacteria. Liverpool, Univ. Press 626—627 (1968).
43. WOLF, J., BARKER, A. N.: The Genus *Bacillus*: aids to the identification of its species. In: Gibbs, B. M., Shapton, D. A. eds: Identification methods for microbiologists. 2, part B. 93—109. Acad. Press London (1968).