

STREPTOMYCETEN - MIKROORGANISMEN AUS DEM BODEN

Die Zahl der Mikroorganismenkeime in 1 g fruchtbarem Ackerboden kann mehr als 100 Millionen, nach neueren Untersuchungen mit dem Fluoreszenzmikroskop sogar einige Milliarden, betragen. Diese verteilen sich auf die drei großen Gruppen: Bakterien, Actinomyceten und Pilze. Das Verhältnis dieser drei Gruppen zueinander ist gewissen Schwankungen unterworfen, wobei als Regel gilt, daß die Bakterien mehr in neutralen und alkalischen, die Pilze besonders zahlreich in sauren Böden auftreten. Jedoch auch andere Eigenschaften des Bodens, wie z. B. die Bodenstruktur, der Wasserhaushalt und die Vegetation, üben einen Einfluß auf die Zusammensetzung der Mikroflora aus. Von den Actinomyceten ist es besonders die Gattung *Streptomyces*, die eine weite Verbreitung besitzt — trägt doch der Anteil allein dieser einzigen Mikroorganismengattung an der Gesamtmikroflora in den meisten Böden 5 bis 25 %. Trotz dieses zahlreichen Vorkommens blieben diese Mikroorganismen — besonders wegen ihres im Vergleich zu den Bakterien langsameren Wachstums — lange Zeit unbeachtet. Das große Interesse, das ihnen heute entgegengebracht wird, verdanken sie in erster Linie den zahlreichen Antibiotica, die bisher als deren Stoffwechselprodukte gefunden wurden und von denen man als erstes das Streptomycin 1943 entdeckte. Seitdem wurden viele Tausende von Kulturen aus den verschiedensten Böden isoliert und auf antibiotische Eigenschaften hin untersucht. Bis 1955 sind, einer Aufstellung von LINDNER und WALLHÄUSSER zufolge, 95 Streptomyceten-Antibiotica bekannt geworden, von denen 8 in der Medizin Verwendung finden (1).

Haben die Streptomyceten heute somit als Produzenten dieser für den Menschen bedeutungsvollen Therapeutika eine große Bedeutung erlangt, so erfüllen sie in ihrem natürlichen Lebensraum, dem Boden, eine zwar weniger auffallende, jedoch eben-

falls sehr wichtige Aufgabe: Als in erster Linie saprophytisch lebende Organismen sind sie an der Mineralisation der abgestorbenen organischen Substanz maßgeblich beteiligt. Darüber hinaus spielen sie aber auch bei der Bildung huminsäureähnlicher Stoffe eine Rolle, wie auch in verschiedenen Arbeiten unseres Instituts gezeigt werden konnte (2, 3, 4). Als es sich im Rahmen dieser Arbeiten als notwendig erwies, die verwendeten *Streptomyces*-Stämme zu identifizieren, ergab es sich, daß, im Gegensatz zu den zahlreichen Untersuchungen an einzelnen Streptomyceten-Stämmen, besonders im Hinblick auf die Bildung von Antibiotica, Arbeiten systematischer Art sehr vernachlässigt worden waren und eine eindeutige Bestimmung der Kulturen nach den vorhandenen Bestimmungsschlüsseln nur in den wenigsten Fällen gelang. Der Mangel eines umfassenden Bestimmungsschemas machte sich in noch stärkerem Maße bemerkbar, als im Rahmen einer Arbeit über die Ökologie der Streptomyceten rund 1500 Stämme aus verschiedenen Böden isoliert wurden. Aus diesem Grunde mußten wir zunächst auf eine Bestimmung unserer Kulturen verzichten und uns auf eine Charakterisierung unserer Stämme, zu denen wir noch weitere 400 von anderen Instituten erhielten, beschränken. Die sich in den festgestellten

Bild 1: Unterschiedliche Hemmung von *Azotobacter chroococcum* durch 4 verschiedene *Streptomyces*-Stämme.

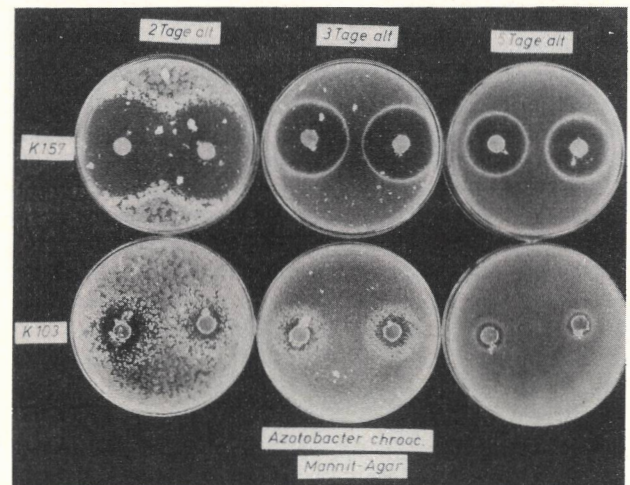
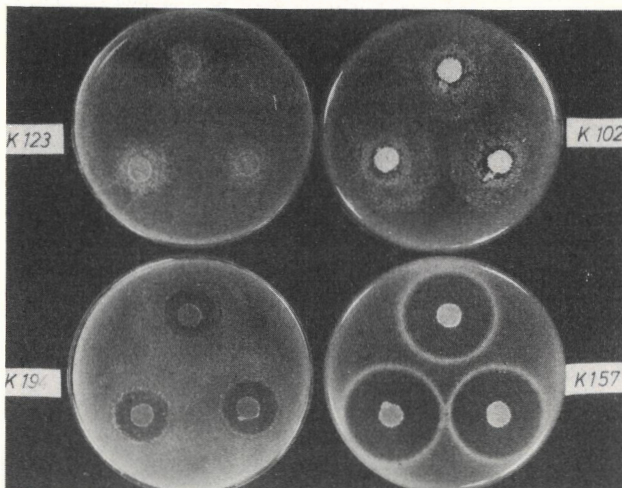


Bild 2: Abhängigkeit der Empfindlichkeit des Testorganismus gegen Hemmstoffe von 2 *Streptomyces*-Stämmen vom Alter der Ausgangskultur.

Merkmale als gleich erweisenden Stämme wurden zu Untergruppen zusammengestellt, die eingehend beschrieben und in der Art eines Bestimmungsschlüssels geordnet wurden. Über die Ergebnisse dieses Teiles unserer Untersuchungen sowie über die ökologische Auswertung wird an anderer Stelle berichtet.

Von Bedeutung bei diesen Untersuchungen war die Prüfung der Stämme auf antibiotische Wirksamkeit gegen verschiedene Testorganismen. Dabei kam es einmal darauf an, festzustellen, ob Stämme, die sich

in morphologischen Merkmalen und der Erscheinungsform auf verschiedenen Nährböden gleich waren, auch in ihrem antibiotischen Spektrum übereinstimmen, zum anderen, ob in bestimmten Böden antibiotisch besonders stark wirksame Streptomyceten häufiger vorkommen als in anderen. Man muß natürlich immer im Auge behalten, daß die auf künstlichen Nährböden antibiotisch wirksamen Mikroorganismen an ihrem natürlichen Standort vielleicht kein Antibioticum bilden, bzw. daß der im Boden gebildete Hemmstoff von Bodenkolloiden adsorbiert bzw. von irgendwelchen Mikroorganismen abgebaut werden kann, so daß er dort keine Wirksamkeit zeigt. Somit wird die antibiotische Aktivität von Mikroorganismen im Boden wohl gerin-

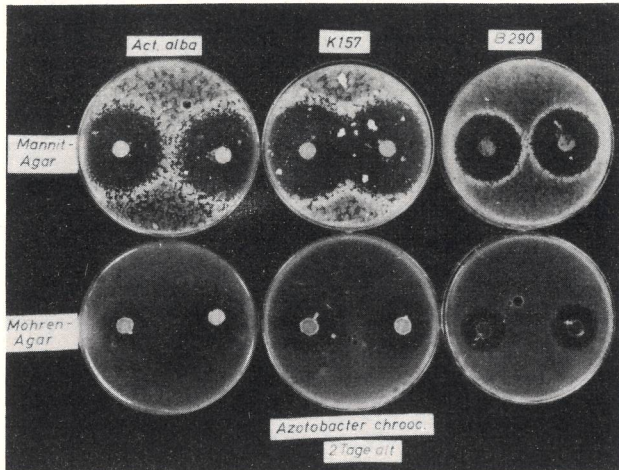


Bild 3: Abhängigkeit der Empfindlichkeit des Testorganismus gegen Hemmstoffe von 3 Streptomyces-Stämmen vom Nährboden.

ger sein als auf künstlichen Nährböden, aber sicher hat sie trotzdem bei der „Einstellung“ des Mikroorganismengleichgewichtes im Boden eine Bedeutung.

All den Untersuchungen über die antibiotische Wirksamkeit von Mikroorganismen bzw. über eine Hemmwirkung von Antibiotica im Boden geht eine Suche nach Antibioticabildnern voraus, die nach verschiedenen Methoden vorgenommen werden kann. Wir benutzten den Blöckchen-Test, bei dem aus mehrere Tage alten Streptomyceten-Agar-Kulturen in Petrischalen ausgestanzte Scheibchen auf einen Nährboden gesetzt werden, der mit dem betreffenden Testorganismus vorher beimpft worden war. An Hand einiger Bilder soll gezeigt werden, wie genau die Versuchsbedingungen eingehalten werden müssen, um zu vergleichbaren Ergebnissen zu gelangen. Als Testorganismus diente in diesem Falle *Azotobacter chroococcum*, der als freilebender Stickstoffbinder in Ackerböden vorkommt. 27% der geprüften rund 1800 Streptomyceten-Stämme zeigten eine antibiotische Wirksamkeit, davon etwa ein Fünftel Hemmzonen von einem über 8 mm großen Radius.

Bild 1 zeigt vier verschieden stark wirksame Streptomyceten, wie aus dem unterschiedlichen Durchmesser der Hemmzonen ersichtlich ist. Aus Bild 2 geht hervor, daß die Empfindlichkeit von *Azotobacter* gegen Hemmstoffe vom Alter der Ausgangskultur abhängig ist, die zum Beimpfen der Testplatte ver-

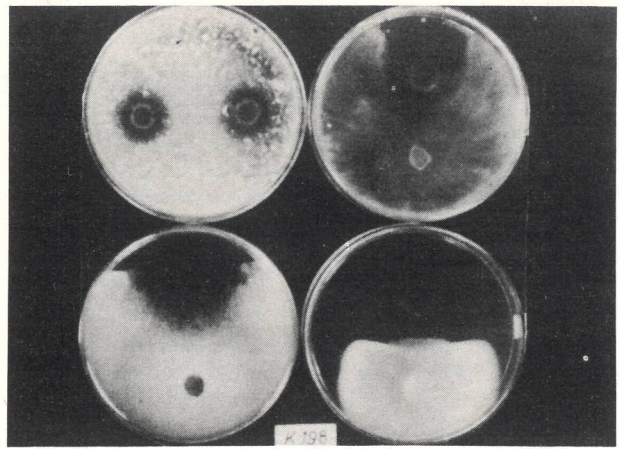


Bild 4: Antibiotische Wirksamkeit eines Streptomyces-Stammes gegen 4 verschiedene Bodenpilze; oben: *Aspergillus flavus* (links), *Pythium spec.* (rechts); unten: *Fusarium spec.* (links), *Ophiobolus graminis* (rechts).

wendet wurde. Bei der zwei Tage alten *Azotobacter*-Kultur wurden größere Hemmzonen beobachtet als bei der fünf Tage alten. Und Bild 3 zeigt schließlich die Abhängigkeit der Empfindlichkeit gegen Antibiotika vom Nährboden, der sowohl zur Vorkultivierung als auch zur Prüfung selbst für den Testorganismus verwendet wurde. Auf Mannit-Agar wurden größere Hemmzonen beobachtet als auf Möhren-Agar. Andererseits ist die Antibiotica-Produktion der Streptomyceten aber auch nährbodenabhängig, und wenn mehrere Nährböden auf ihre diesbezügliche Eignung geprüft werden, kann man häufig beobachten, daß auf einem Nährboden starke Hemmstoffbildung stattfindet und auf einem anderen keine.

Als Beispiel für eine antibiotische Wirksamkeit gegen verschiedene Pilze diene Bild 4. Nur bei *Aspergillus flavus* (oben links) wurde der Test in der schon beschriebenen Weise durchgeführt, bei den anderen drei Pilzen wurden Streptomyceten- und Pilzscheibchen auf unbeimpftem Nährboden gegenübergelegt. Der Pilz breitet sich meist schnell aus, während der Streptomycet nur langsam weiterwächst. Geht vom Streptomyceten eine antibiotische Wirkung aus, so kommt es zu den aus dem Bild ersichtlichen Hemmzonen. Besonders das letzte Beispiel zeigt, in welcher Weise antibiotisch aktive Streptomyceten auch im Boden eine sehr nützliche Rolle spielen können, nämlich in der Hemmung pflanzenpathogener Pilze.

Schrifttumsnachweis

- LINDNER, F. u. K.H. WALLHÄUSSER: Die Arbeitsmethoden der Forschung zur Auffindung neuer Antibiotica. Arch. Mikrobiol. **22**, 219—234 (1955).
- FLAIG, W.: Biochemische Beiträge zur Bildung von Huminsäuren durch Streptomyceten. Z. Pflanzenernähr., Düng., Bodenkunde **56**, 63—67 (1952).
- FLAIG, W., H. BEUTELSPACHER, E. KÜSTER u. G. SEGLER-HOLZWEISSIG: Beiträge zur Physiologie und Morphologie der Streptomyceten. Plant and Soil **4**, 118—127 (1952).
- FLAIG, W., E. KÜSTER, G. SEGLER-HOLZWEISSIG u. H. BEUTELSPACHER: Zur Kenntnis der Huminsäuren. V. Über die Bildung von huminsäureähnlichen Stoffen aus Streptomycetenkulturen. Z. Pflanzenernähr., Düng., Bodenkunde **57**, 41—51 (1952).