

O ZNAČAJU MORFOLOŠKIH SVOJSTAVA  
PRI KLASIFIKACIJI STREPTOMICETA

VERA JOHANIDES, ZLATA JURIĆ i GORAN PILJAC

(Iz Zavoda za mikrobiologiju Tehnološkog fakulteta, Zagreb)

Klasifikacija aktinomiceta, osobito roda *Streptomyces*, danas se intenzivno ispituje jer se zbog njihovog velikog značaja u proizvodnji antibiotika i citostatika izolira vrlo velik broj sojeva. Mnogi autori (G a u z e 1945, K r a s i l j n i k o v 1959) ukazuju na važnost rane klasifikacije izoliranih sojeva, što u mnogome olakšava identifikaciju poznatih vrsta i racionalno odabiranje novih antagonističkih sojeva.

Dobar pregled klasifikacionih sistema aktinomiceta i prijedlog novog racionalnog sistema za njihovu klasifikaciju dao je nedavno Tešić (1960).

Svakako da su aktinomiceti po mnogim svojstvima slični bakterijama, kamo ih svrstava većina autora, ali stvaranje micelija i sporofora određenih oblika čini ih sličnim gljivama. Zbog toga morfološka svojstva imaju određeni značaj pri klasifikaciji aktinomiceta.

Pri određivanju rodova i vrsta treba, međutim, odabrati svojstva koja su toliko postojana da mogu poslužiti kao osnova klasifikaciji. Odlike koje se koriste pri klasifikaciji aktinomiceta jesu morfološke, uzgojne i biokemijske. Dok se pri odvajanju rodova unutar reda *Actinomycetales* koriste morfološka svojstva, pri klasifikaciji pripadnika roda *Streptomyces* različiti autori prihvaćaju različita svojstva kao najvažnija pri odvajanju pojedinih »vrsta«. Većina mikrobiologa prihvaća načelo nekog redosljeda tih svojstava, ali se obično ne slažu u poretku pojedinih svojstava po važnosti za sistematiku. Može se reći da većina autora koja se bavi sistematikom streptomiceta smatra da su neke morfološke odlike prilično stabilne, osobito oblik sporofora zračnog micelija, pa oblik spora i fina struktura površine spora pod elektronskim mikroskopom.

Ako se pregledaju taksonomski sistemi za rod *Streptomyces* historijski od W a k s m a n a i K r a s i l j n i k o v a do E t t l i n g e r a, onda se primjećuje da se morfološkim odlikama pridaje sve veća važnost. Tako W a k s m a n (1916) u početku uzima proteolizu i stvaranje topivog pig-

menta, kasnije fiziološke i ekološke karakteristike (1943), ali u svom posljednjem prijedlogu sistematike u *Bergeyevom* priručniku (1957) poklanja nešto veću pažnju morfološkim odlikama. *Waksmanov* sistem klasifikacije (1943, 1953, 1958, 1959, 1960) je najpoznatiji, jer je prihvaćen u *Bergeyevom* priručniku. Premda se *Waksman* bavi ovim mikroorganizmima već dugi niz godina, njegov sistem, zasnovan na fiziološkim odlikama i ekološkim odnosima, podvrgnut je u posljednje vrijeme ozbiljnoj kritici, jer su te odlike promjenljive (*Preobraženskaja et al.* 1960; *Rautenštein*, 1961).

Osim *Waksmana* još i *Prévot* (1953) bazira svoj sistem klasifikacije aktinomiceta na fiziološkim svojstvima.

*Krasiljnikov* (1959, 1960) osobito ističe važnost stvaranja antibiotika kao stabilnog biokemijskog svojstva pogodnog pri klasifikaciji i identifikaciji streptomiceta. Drugi autori (*Gauze* 1957, *Baldacci* 1959) smatraju to samo kao korisnu dopunu drugim, stabilnijim svojstvima.

Međutim, većina autora svoje sisteme klasifikacije zasniva uglavnom na morfološkim odlikama (*Krasiljnikov* 1938, 1949, 1959, *Baldacci* 1927, 1953, 1958, *Ettlinger* 1958, *Kutzner* 1956, *Henssen* 1957, *Negrone* 1953, *Okami* 1958, *Shinobu* 1958, *Nishimura* 1960, *Nomi* 1960). Mnogi od ovih autora smatraju da je oblik sporofora zračnog micelija dobra odlika, dok je *Ettlinger* stavio na prvo mjesto finu strukturu površine spora snimljenih pod elektronskim mikroskopom. *Krasiljnikov* smatra da su građa sporofora i oblik spora najkorisnije morfološke odlike pri klasifikaciji i na osnovu toga dijeli *Streptomyces* vrste u grupe i serije.

Neki autori (*Welsch* 1957 i 1959, *Rautenštein* 1959) smatraju specifičnost prema aktinofagima dodatnim svojstvom korisnim u sistematici aktinomiceta.

U posljednjih nekoliko godina detaljno su opisane strukture zračnog micelija, osobito u rodu *Streptomyces* (*Pridham*, *Ettlinger*, *Okami*, *Baldacci*, *Nomi*).

Premda su opisi tih struktura i prijedlozi grupiranja pojedinih morfoloških oblika različiti prema pojedinim autorima, ipak se može zaključiti da će iz tih radova izrasti pogodan sistem za razlikovanje rodova i vrsta koji će se moći općenito usvojiti. To pažljivo proučavanje morfologije streptomiceta omogućit će da se rod *Streptomyces* razdvoji prema morfologiji sporofora u više rodova. Takve prijedloge su već dali *Baldacci* (1959) i *Tešić* (1960), dok *Nomi* (1960) ističe da će dobro poznavanje morfologije zračnog micelija i reproduktivnih dijelova omogućiti podjelu roda *Streptomyces* u više novih rodova.

U suradnji na klasifikaciji aktinomiceta koju je organizirala međunarodna mikrobiološka organizacija odabrana su ova svojstva kao osobito važna: građa sporofora i spora, boja supstratnog i zračnog micelija i stvaranje melanoidnog pigmenta. Ova su svojstva uporedo ispitana u velikom broju laboratorija, i rezultati tog rada sada se publiciraju.

Waksman je svoj sistem klasifikacije zasnovao na ekološkim osnovama i biokemijskim svojstvima, a što se tiče građe sporofora predlaže samo 5 grupa s obzirom na uspravnost sporofora, stvaranje spirala i oblik spirala i s obzirom na grupiranje sporofora. Waksman smatra da oblik sporofora ne može služiti kao glavna odlika pri klasifikaciji streptomiceta jer se kod iste vrste na različitim podlogama mogu zapažiti jedanput spiralne, a drugi put uspravne sporofore.

Krasiljnikov uzima građu sporofora i oblik spora kao najvažnije odlike, pa je streptomicete podijelio na dvije velike skupine, već prema tome da li se sporofore granaju monopodijalno ili se nalaze u pršljenovima. Svaku je grupu podijelio u dvije podgrupe i to sa spiralnim i ravnim, odnosno valovitim sporoforama. U sporoforama Krasiljnikov razlikuje okrugle, ovalne i cilindrične spore. Krasiljnikov tvrdi da je oblik sporofora nasljedna oznaka vrste i da se ne mijenja pri određenim uvjetima uzgoja, ali da ta odlika ne može poslužiti za razlikovanje vrsta, jer se kod različitih vrsta javlja jedan te isti oblik sporofora.

Veliku je pažnju u posljednje vrijeme izazvala podjela streptomiceta na osnovu oblika sporofora koju su objavili Pridham i suradnici (1958). Nakon što su u prethodnim radovima (Hesseltine 1954) ustanovili da je oblik sporofora stabilan na različitim podlogama, predložili su 7 morfoloških sekcija za oblike sporofora:

1. Skupinu *Rectus-Flexibilis* (RF) koja obuhvaća streptomicete s uspravnim i savijenim sporoforama, kao i streptomicete sa sporoforama grupirane u fascikule.

2. Skupina *Retinaculum-Apertum* (RA) obuhvaća streptomicete kojih sporofore imaju oblik kuka ili razvučenih spirala.

3. Skupina *Spira* (S), obuhvaća streptomicete sa zbijenim kratkim ili otvorenim dugim spiralama.

4. Skupina *Monoverticillus* (MV) obuhvaća streptomicete s primarnim verticilima ili pršljenovima na dugim ravnim zračnim granama; bez spirala.

5. Skupina *Monoverticillus-Spira* (MV-S) obuhvaća streptomicete s primarnim verticilima ili pršljenovima na dugim ravnim zračnim granama; verticila su spiralna.

6. Skupina *Biverticillus* (BIV) obuhvaća streptomicete sa sporoforama u obliku kompaktnih verticila ili pršljenova koji se nalaze na dugačkim ravnim zračnim granama; nema spirala.

7. Skupina *Biverticillus-Spira* (BIV-S) obuhvaća streptomicete sa sporoforima s kompaktnim verticilima pričvršćenim na dugačke ravne grane; elementi sekundarnih verticila ili pršljenova spiralni su.

Neke od tih sekcija (MV-S i BIV-S) nisu našli prilikom svoga rada, ali su ih opisali, jer se takvi morfološki oblici sporofora nalaze u literaturi.

Gauze (1957) razvrstava aktinomicete (streptomicete) u serije prema boji supstratnog i zračnog micelija, a oblik sporofora uzima kao

primarnu odliku za odjeljivanje vrsta, iako smatra da ima vrsta s postojanom, ali i varijabilnom građom sporofora. Zato pri opisu svake nove vrste navodi oblike sporofora koji se mogu naći na dvije podloge (s mineralnim izvorom dušika i s organskim izvorom dušika).

Ettliger i suradnici (1958) smatraju strukturu površine spora snimljenih pod elektronskim mikroskopom najstabilnijom morfološkom odlikom, zatim stavljaju boju zračnog micelija, dok oblik sporofora stavljaju ti autori na treće mjesto po važnosti, jer se po njihovu mišljenju mogu pod određenim nepovoljnim uvjetima uzgoja naći komplicirane strukture sporofora u streptomiceta. Pri ispitivanju više hiljada sojeva *Streptomyces* vrsta ovi su autori pronašli 15 različitih tipova sporofora. Mnogi autori sumnjaju da se svi ti oblici mogu razlikovati, jer su međusobno i suviše slični.

Gottlieb i suradnici (1961) provjeravajući korisnost većine odlika koje su koristili pri klasifikaciji streptomiceta, ustanovili su da se oblik sporofora ne mijenja na različitim podlogama koje su predložili Pridham i suradnici (1957). Ovi autori misle da je oblik sporofora najvažnija odlika pri klasifikaciji streptomiceta. Mnogi drugi autori (Preobraženskaja 1960, Andrejuk 1960) smatraju da je oblik sporofora stabilnija odlika od uzgojnih i biokemijskih odlika, ali misle da je boja micelija ipak najvažnija.

Rautenštein (1960) tvrdi, da oblik sporofora zavisi od sastava podloge i uslova uzgajanja, te da ne može poslužiti za svrstavanje streptomiceta u skupini iz serije, niti za odjeljivanje vrsta unutar roda.

Okami i Suzuki (1938) ispitali su 58 sojeva na 5 različitim podloga sa 5 različitim pH vrijednosti i predložili 6 različitih morfoloških oblika sporofora pogodnih za grupiranje streptomiceta:

1. uspravne hife,
2. savijene kukaste hife,
3. zatvorene spirale,
4. verticila ili pršljenovi,
5. pršljenovi i spirale,
6. ostale specifične strukture.

Nishimura i suradnici (1960) su ispitujući 849 različitih *Streptomyces*-sojeva predložili klasifikaciju sa 5 sekcija i 14 serija. U svim sekcijama sporofore izlaze iz jedne zajedničke osi ili se granaju paštasto.

Nomi (1960) je predložio 8 morfoloških tipova pri klasifikaciji *Streptomyces*-vrsta uzimajući u obzir i završne i ostale dijelove zračnog micelija. Po njemu je kod nekih vrsta zaokret spirala konstantan, a kod nekih nije, pa je na temelju toga 4 morfološka tipa podijelio u podsekcije, a ta se podjela zasniva na morfološkim odlikama spirala i sporednih grana koje izlaze iz dugih osi micelija. Nomi smatra da je morfologija sporofora vrlo dobra odlika, ali je nepotpuni razvoj na nekim podlogama uzrok prividne varijabilnosti morfologije. On zato predlaže da se za svaki izolirani soj nade pogodan izvor ugljika i optimalna pH vrijednost, da bi se sporofore mogle potpuno razviti.

S obzirom na ta protivurječna mišljenja autora u pogledu promjenljivosti morfoloških odlika, izvršili smo ispitivanje morfologije sporofora

kod 11 različitih sojeva *Streptomyces*-vrsta na 5 podloga različitog sastava.

Kako se iz radova nekih autora vidi, struktura sporofora promatrana je direktno mikroskopom na Petrijevim pločama (Pridham i dr. 1958, Ettlinger i dr. 1958). Međutim, neki su autori (Okami 1958; Nomi 1960) upotrijebili preciznije tehnike za promatranje tih struktura. Dobar pregled takvih tehnika dao je Okami (1958) i opisao jednu novu interesantnu metodu koja mu je omogućila dobro promatranje sporofora.

### Materijal i metode rada

Uspoređivanje morfologije sporofora i spora izvršeno je u 11 sojeva *Streptomyces*-vrsta iz Zbirke Zavoda za mikrobiologiju Tehnološkog fakulteta u Zagrebu. Sojevi s oznakom 1042, 1043, 1045, 1046, 1080, 1081 i 1084 izolirani su iz vrtnje zemlje. Soj 1012 dobijen je kao *Streptomyces aureofaciens* iz ATCC-10762, soj 1014 kao *Streptomyces rimosus* iz ATCC-10970. Soj s oznakom 1029 je *Streptomyces aureofaciens* izoliran iz zemlje, a soj 1041 je *Streptomyces coelicolor* iz Istituto Superiore di Sanità, Rim.

Morfologija sporofora promatrana je na Petrijevim zdjelicama i u vlažnoj komorici iz spužvaste plastične mase tipa Johaničević (1960). Prije prenošenja na podloge za izučavanje morfologije sojevi su uzgojeni na tripton-kvasnom ekstraktu ovog sastava: Difco-tripton 5 g; Difco-kvasni ekstrakt 3 g; Difco-agar 30 g; destilirane vode 1000 ml. Nakon 14-dnevnog uzgoja na toj podlozi pri 28° C priređena je suspenzija spora ispitivanih sojeva sa po 5 ml destilirane vode. Sa po 0,2 ml suspenzije spora inokulirane su Petrijeve zdjelice koje su sadržavale 15 ml odgovarajućih čvrstih podloga.

Za usporedna ispitivanja korištene su ove podloge:

1. Čapek-agar mod. Gottlieb:  $\text{NaNO}_3$  3 g;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,5 g;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1 g; KCl 0,5 g;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,01 g; saharoze 30 g; Difco-agar 15 g; destilirana voda 1000 ml.
2. Organski izvor dušika po Gauzeu: Hottingerov bujon (700 mg % amino-dušika) 30 ml; pepton 5 g; NaCl 5 g; glukoze 10 g; agar 30 g; vodovodna voda do 1000 ml. Sterilizirati 15 min. na 120° C.
3. Mineralni izvor dušika po Gauzeu:  $\text{KNO}_3$  1 g;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0,5 g;  $\text{MgSO}_4$  0,5 g; NaCl 0,5 g;  $\text{FeSO}_4$  0,01 g; škroba 20 g; agar-agar 30 g; vodovodna voda do 1000 ml. Sterilizirati 15 min. na 120° C.
4. Krompir-agar Masa od 100 g oguljenih krompira isitni se i pomiješa 300 ml vodovodne vode, te ostavi više sati na hladnom mjestu (frižider). Ovo se sve filtrira kroz krpu i sterilizira pri 120° C 1 sat. Na 230 ml ove tekućine doda se 20 g glukoze, 770 ml vodovodne vode i 20 g agara. Sterilizirati 15 min. na 120° C.
5. Koncentrat rajčica-zobeno brašno agar: Otopina I: zobeno brašno 20 g (tvornica Knorr); koncentrat rajčice 20 g (Fructal-Ajdovščina); vruće

vodovodne vode 500 ml. Otopina II: Difco-agar 15 g; vodovodne vode 500 ml; dvije vruće otopine se izmiješaju i kuhaju kroz 10 minuta, a nakon toga drže 15 minuta, na 121° C; pH vrijednost bez prilagođavanja 6,8—7.

Priređivanje za rast *Streptomyces*-sojeva u vlažnim komoricama izvršeno je ovako: komorica i odgovarajuća pokrovna stakla steriliziraju se u Petrijevim zdjelicama, a na pokrovno staklo komorice stave se dvije do tri kapi odgovarajuće rastaljene agarne podloge. Prije skrutnjavanja agara stavi se kap suspenzije spora na podlogu, a sa drugim sterilnim pokrovnim staklom priredi se razmaz da bi se dobio što tanji film. S tako priređenim pokrovnim staklom poklopi se vlažna komorica, učvrsti vazelinom na spužvasti okvir i inkubira u Petrijevoj zdjelici; tokom uzgoja dokapava se sterilna voda tako da se kultura ne bi osušila.

Morfologija sporofora promatrana je direktno na Petrijevim zdjelicama mikroskopski pri povećanju 100 puta, a u vlažnim komoricama pod fazno-kontrastnim mikroskopom pri povećanju 765 puta.

Da bi se mogla pratiti promjena morfologije sporofora, vršilo se je fotografsko snimanje kultura s Petrijevih zdjelica i s komorica od 3. do 14. dana.

Svi su sojevi razvili zračni micelij sa sporama na svih 5 podloga. Sporulacija je bila osobito obilna na Gauzeovoj podlozi s mineralnim izvorom dušika i na Pridhamovoj podlozi sa zobenim brašnom i rajčicom. Vrijeme stvaranja sporofora bilo je različito i ovisilo je o soju i sastavu podloge kod ispitivanih streptomiceta.

Među ispitivanim sojevima primijećeni su različiti morfološki oblici sporofora: 6 sojeva je imalo uspravne i valovite sporofore (po Pridhamu tip RF), 3 soja imala su spiralne sporofore s pojedinačnim uspravnim i valovitim sporoforama (po Pridhamu tip RA), a 2 soja imala su spiralne sporofore koje su izlazile iz dugih grana zračnog micelija (po Pridhamu tip S). Pregled morfoloških oblika sporofora kod pojedinih sojeva vidi se iz tabele 1.

Sporofore streptomiceta s uspravnim i valovitim sporoforama javljale su se na jednoj te istoj podlozi pojedinačno ili u obliku čuperaka.

Duljina sporofora varira i ovisi o ispitivanom soju. Tako sojevi s oznakom 1080 i 1081 imaju pretežno dulje, a sojevi s oznakom 1043, 1084, 1029 i 1042 većinom kraće sporofore.

Sojevi s oznakom 1045 i 1046 imali su i izrazito spiralne sporofore koje su izlazile iz dubljih grana zračnoga micelija. Broj navoja na spiralama varira na svim podlogama.

Ovaj oblik zračnog micelija sa spiralama također je bio stabilan na svim podlogama. Nigdje nije zapaženo da bi spirale izlazile neposredno iz supstratnog micelija.

Sojevi s pretežno spiralnim sporoforama (1041, 1012, 1014) pokazivali su također uspravne i valovite sporofore. Omjer između spiralnih i valovitih sporofora nešto je varirao s obzirom na soj i podlogu, ali su se na različitim podlogama javljali i jedni i drugi oblici.

TABELA 1

Oznaka u Zbirci Zaveda za mikrobiol. Tehnol. fak. Zagreb	Vrsta	Porijeklo	Oblik sporofora sa simbolima po Fridhamu
1029	<i>Str. aureofaciens</i>	zemlja	uspravne i valovite sporofore (RF)
1042	<i>Streptomyces</i> sp.	"	"
1043	<i>Streptomyces</i> sp.	"	"
1084	<i>Streptomyces</i> sp.	"	"
1081	<i>Streptomyces</i> sp.	"	"
1080	<i>Streptomyces</i> sp.	"	"
1012	<i>Str. aureofaciens</i>	ATCC-10762	spiralne sporofore s pojedinačnim uspravnim i valovitim sporoforama (RA)
1014	<i>Str. rimosus</i>	ATCC-10970	"
1041	<i>Str. coelicolor</i>	Instituto Superiore di Sanita	"
1045	<i>Streptomyces</i> sp.	zemlja	spiralne sporofore koje su izlazile iz dugih grana zračnog micelij (S)
1046	<i>Streptomyces</i> sp.	"	"

Usporedna ispitivanja su pokazala da je oblik sporofora, ako se uzmu morfološke sekcije po Fridhamu, jednak na različitim podlogama. To se vidi iz sl. 1, 2 i sl. 3, gdje *Streptomyces* sp. 1042 uzgojen u komoricama na Gauzeovoj podlozi s mineralnim izvorom dušika, na Čapekovoj podlozi i na podlozi sa zobenim brašnom i rajčicom ima jednak oblik sporofora.

Spiralni oblici sporofora koji su zapaženi na Petrijevoj zdjelici kod soja *Streptomyces* sp. 1045 nepromijenjeni su i pri uzgoju u vlažnoj komori, što se vidi iz sl. 4 i sl. 5.

Oblik spora promatran je u vlažnim komoricama na tankom filmu agara određene podloge. Na sporoforama su se mogle lijepo razlikovati okrugle, ovalne i cilindrične spore. Međutim, na jednoj te istoj podlozi, pa čak i na istoj sporofori, nailazi se katkada na sva tri oblika, samo, omjer je različitih i zavisi od soja i sastava podloge. Tako u sojeva s ozna-

kom 1080 i 1043 pretežu ovalni oblici, a u sojeva s oznakom 1081 i 1012 cilindrični oblici. Različiti oblici spora na istoj sporofori jasno se vide na slici 6, kao i na snimkama s elektronskim mikroskopom kod soja *Streptomyces* sp. 1084 (sl. 7).

Zahvaljujemo prof. dru Z. Devidèu koji je snimio slike spora elektronskim mikroskopom u Institutu Ruđer Bošković.

## Diskusija o rezultatima

Ispitivanje građe sporofora različitih sojeva streptomiceta pokazalo je da su oblici spora na različitim podlogama koje predlažu različiti autori prilično stabilni.

Vjerojatno je tačna tvrdnja N o m i j a da su različiti oblici morfologije sporofora za iste sojeve posljedica uzgoja na podlogama nepogodnog sastava ili uzgoja pri nepovoljnim ekološkim uvjetima. Osim toga, nije uvijek lako promatrati građu sporofora, pa je važno da se upotrijebi pogodna mikroskopska metoda. Premda je opisan veći broj komorica pogodnih za mikroskopsko promatranje razvoja mikrobnih kultura, poteškoće se javljaju pri opskrbi kultura zrakom i potrebnom vlagom. Komorica s okvirom iz plastične spužvaste mase, koju smo koristili u ovom radu, omogućuje normalnu aeraciju i vlaženje. Pri uzgoju streptomiceta u takvoj komorici razvijale su se sporofore s jednakim oblikom, kao i pri uzgoju u Petrijevim zdjelicama. Prednost je komorice u lakšem promatranju strukture sporofora i mogućnosti fotografskog snimanja. Oblici spora u sporoforama kod ispitivanih sojeva različiti su u istoj kulturi, katkad čak i u istoj sporofori, pa smatramo da oblik spora nije najpogodnija odlika pri klasifikaciji.

Od mnogobrojnih sistema za svrstavanje streptomiceta prema građi sporofora čini nam se pogodan P r i d h a m o v sistem i donekle N o m i j e v sistem, dok smatramo da sistem E t t l i n g e r a i suradnika daje neke morfološke oblike koji se ne mogu međusobno razlikovati.

## S a d r ž a j

Taksonomija *Streptomyces*-vrsta izazivlje sve veće zanimanje zbog važnosti tih mikroorganizama u proizvodnji antibiotika. Zbog njihove velike varijabilnosti traže se pogodna morfološka i fiziološka svojstva koja bi mogla poslužiti pri klasifikaciji.

Izvršena su uporedna ispitivanja morfoloških oznaka 11 sojeva *Streptomyces*-vrsta na podlogama različitog sastava. Ispitivanja su pokazala da je oblik sporofora povoljna oznaka koja na određenim podlogama ostaje stabilna. Oblik spora manje je pogodna oznaka, jer se na jednoj te istoj podlozi mogu razviti različiti oblici spora.



## L I T E R A T U R A

- Andrejuk, E. I.**, 1960: Sravniteljnaja ocenka različnih pitateljnih sredija vjavlenija morfoložičeskikh i kulturaljnih priznakov aktinomocetov, u Rautenstein: O sistematike aktinomocetov k itogam sovješćanija po probleme klasifikaciji aktinomocetov, *Mikrobiologija*, XXIX, 926—935.
- Baldacci, E.**, 1953: General criteria for the systematics of genera and species of Actinomyces (= Streptomyces) and Microspora. *Actinomycetes Symposium*, Roma, 20—29.
- Baldacci, E.**, 1958: Development in the classification of Actinomycetes. *Giorn. Microbiol.*, 6, 10—27.
- Baldacci, E.**, 1959: Rassširenje klasifikaciji aktinomocetov. *Mikrobiologija*, XXVIII, 274—286.
- Bergey's Manual of determinative bacteriology (Actinomycetales)**, 1957: The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- Ettlinger, L. et al.**, 1958: Zur Systematik der Actinomycetes: 4. Eine Artenteilung der Gattung Streptomyces. *Arch. f. Mikrobiol.*, 31, 2, 326—358.
- Gauze, G. F.**, 1955: Nekatorie voprosi sistematiki aktinomocetov. *Mikrobiologija*, XXIV, 103—113.
- Gauze, F. G.**, 1957: Voprosi klasifikaciji aktinomocetov-antagonistov. *Medgiz*, Moskva.
- Gottlieb, D.**, 1953: The phylogeny of the Actinomycetes. *Actinomycetales Symposium*, Roma, 122—136.
- Gottlieb, D.**, 1959: Agenda for round table evolution of criteria for taxonomy of Actinomycetes. *Intern. Bull. Bact. Nom. et Tax.*, 9, 13—14.
- Gottlieb, D.**, 1961: An evolution of criteria and procedures used in the description of the Streptomyces. *Appl. Micro.*, 9, 55—65.
- Henssen, A.**, 1957: Beiträge zur Morphologie und Systematik der thermophilen Actinomyceten. *Arch. f. Mikrobiol.*, 26, 373—414.
- Hesseltine, C. W. et al.**, 1954: Useful criteria for species differentiation in the genus Streptomyces. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 60, 136—151.
- Johanides, V. i Alačević-Grlić, M.**, 1960: Parasekualna rekombinacija kod *Aspergillus niger* vrsta. *Publ. Jug. mikrobiol. društva* 1, 375—382.
- Krasiljnikov, N. A.**, 1957: Guide to the identification of bacteria and Actinomycetes. Chas. Pfizer Co., Inc.
- Krasiljnikov, N. A.**, 1949: Opređelitelj bakterii i aktinomocetov. Moskva.
- Krasiljnikov, N. A.**, 1959: O vidovoj značimosti antibiotičeskikh veščestv u aktinomocetov. *Mikrobiologija*, XXVIII, 179—186.
- Krasiljnikov, N. A. et al.**, 1960: Actinomycetes synthesizing antiviral antibiotics. *Jour. Antibiotics (Japan)*, A, XIII, 1, 1—5.
- Krasiljnikov, N. A.**, 1961: O taksonomičkoj značimosti nekotorih priznakov u aktinomocetov. *Mikrobiologija*, XXX, 745—753.
- Kutzner, H. J.**, 1956: Beiträge zur Systematik und Ökologie der Gattung Streptomyces, D-r Thesis, Hohenheim, 1—189.
- Negróni, P.**, 1953: Morfologia microscopica y sistemática de los actinomycetes. *Actinomycetales Symposium*, Roma, 13—19.
- Nishimura, H. et al.**, 1960: Distribution of Streptomyces in soil. *Jour. of Antibiotics (Japan)*, A, XIII, 4, 228—230.

- Nomi, R.**, 1960: On the classification of *Streptomyces*. *Jour. of Antibiotics* (Japan), XIII, 4, 236—247, 1960.
- Okami, Y.**, 1952: Taxonomical study on antibiotic *Streptomyces*. *Nation. Inst. Health* (Tokyo).
- Okami, Y. et Suzuki M.**, 1958: A simple method for microscopical observation of *Streptomyces* and critique of *Streptomyces* grouping with reference to aerial structure. *Jour. of Antibiotics* (Japan), VI, 11, 250.
- Preobraženskaja, T. P. et al.**, 1960: O diagnostičeskom značenii različnih priznakov dlja klassifikacii predstavitelj roda *Actinomyces*. *Mikrobiologija*, XXIX, 455—462.
- Prevot, A. P.**, 1953: Morphologie, physiologie, pouvoir pathogène et systématique des Actinomycetales. *Actinomycetales Symposium*, Roma, 40—68.
- Pridham, T. G. et al.**, 1957: A selection of media for maintenance and taxonomic study of *Streptomyces*. *Antibiotics Ann.*, 1956/57., 947—953. *Medical Encyclopedia Inc.*, New York.
- Pridham, T. G. et al.**, 1958: A guide for the classification of streptomycetes according to selected groups: placement of strains in morphological sections. *Appl. Microb.*, 6, 52—71.
- Rautenštein, I.**, 1960: O sistematike aktinomicetov k itogam sovješčanja po probleme klassifikacii aktinomicetov, *Mikrobiologija*, XXIX, 6, 926—935.
- Rautenštein, I.**, 1961: K itogam diskussii po probleme sistematiki aktinomicetov. *Mikrobiologija*, XXX, 4, 753—758.
- Shinobu, R.**, 1958: Physiological and cultural study for the identification of soil Actinomycetes species. *Mem. Osaka Univ.*, B. *Natur. Sci.*, 7, 1—76.
- Tešić, Z.**, 1959: Contribution to an essay on the more rational classification of Actinomycetes. *Intern. Bull. Bact. Nom. Tax.*, 2, 93—96.
- Tešić, Z.**, 1960: Problem racionalne klasifikacije aktinomiceta. *Publik. Jug. mikrobiol. društva*, 1, 395—408.
- Waksman, S. A.**, 1916: Bacteria, actinomyces and fungi in soils. *J. Bacteriol.*, 1, 101.
- Waksman, S. A.**, 1940: On the classification of Actinomycetes. *J. Bact.*, 39, 549—558.
- Waksman, S. A. et Henrick, A.**, 1943: The nomenclature and classification of the Actinomycetes. *J. Bact.*, 46, 337—341.
- Waksman, S. A. et Lechevalier, H.**, 1953: Guide to the classification and identification of the Actinomycetes and their antibiotics. *Baltimore*.
- Waksman, S. A.**, 1957: Species concept among the Actinomycetes with special reference to the genus *Streptomyces*. *Bact. Rev.*, 21, 1—29.
- Waksman, S. A.**, 1958: The classification of Actinomycetes with special reference to antibiotic production. *Rept. IV Intern. Cong. Biochem.*, Vienna, 5, 1—14.
- Waksman, S. A.**, 1959: *The Actinomycetes Vol. I*, Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- Waksman, S. A.**, 1959: Klasifikacija aktinomicetov v osobnosti *Streptomyces griseus*. *Mikrobiologija*, XXVIII, 789—793.
- Welsch, M. et al.**, 1957: Phage typing of *Streptomyces*. *Schweiz. S. Pathol. Bakterie.*, 20, 454—458.
- Welsch, M.**, 1959: Ob ispolzovanii javljanija bakteriofagl dlja identifikacii i klassifikacii aktinomicetov. *Mikrobiologija*, XXVIII, 451—459.

## ZUSAMMENFASSUNG

### UBER DIE WICHTIGKEIT DER MORPHOLOGISCHEN MERKMALE FÜR DIE SYSTEMATIK DER STREPTOMYZETEN

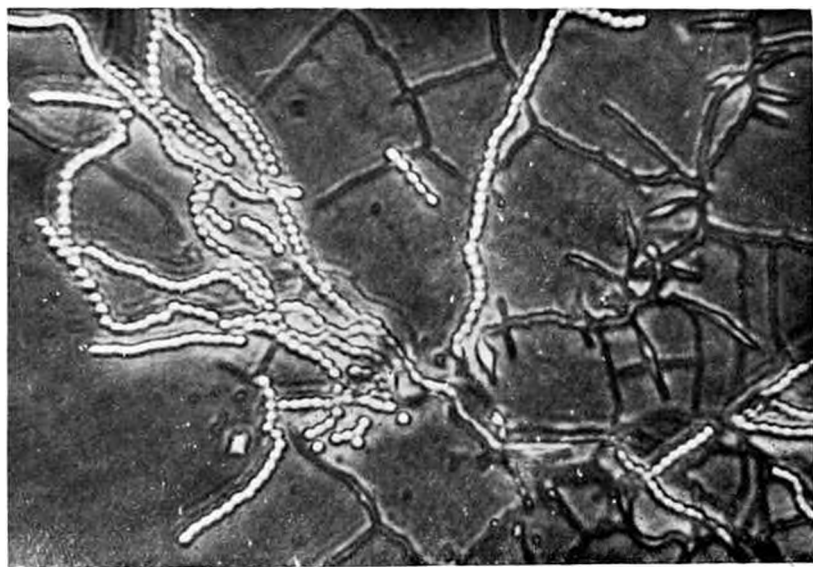
*Vera Johanides, Zlata Jurić u. Goran Piljac*

Die Wichtigkeit der Streptomyces Arten in der Antibiotikaproduktion hat grosses Interesse für die Taxonomie dieser Arten erweckt. Wegen der grossen Variabilität der Streptomyzeten wird nach solchen morphologischen und physiologischen Merkmalen gesucht, die für die Systematik geeignet sind.

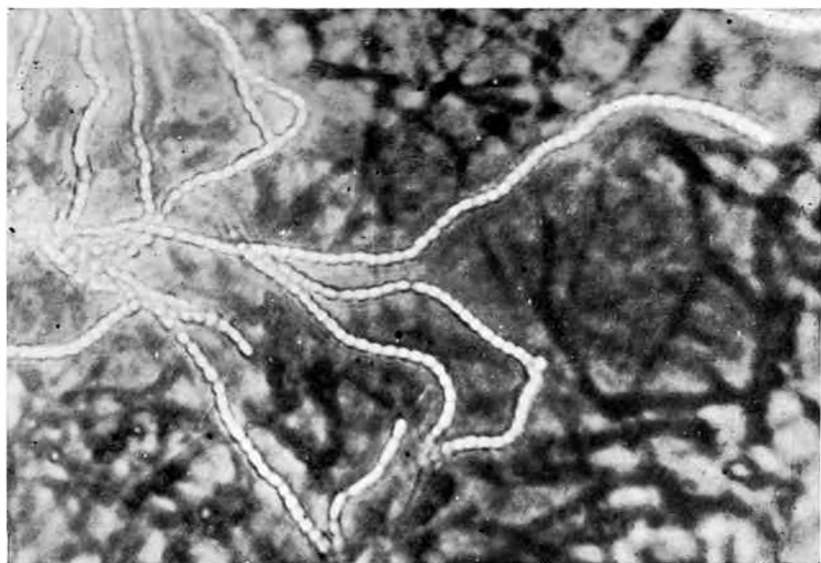
Es wurden vergleichend die morphologischen Merkmale bei 11 Streptomyces Arten geprüft, die an fünf verschiedene Nährböden gezüchtet wurden. Die Untersuchungen zeigten, dass die Form der Sporophoren ein geeignetes Merkmal ist, das sich an verschiedenen Nährböden nicht ändert. Die Form der Sporen ist ein weniger geeignetes Merkmal, da auch auf demselben Nährboden verschiedene Formen von Sporen entstehen können.

## SLIKE U PRILOGU — BILDERBESCHREIBUNG

- Sl. 1. *Streptomyces* sp. 1042 uzgojen u vlažnoj komorici na Gauzeovoj podlozi s mineralnim dušikom, pov. 2000 ×.
- Abb. 1. *Streptomyces* sp. 1042 in feuchter Kammer an Gauzes Nährboden mit mineralischen Stickstoff gezüchtet, Vergr. 2000 ×.
- Sl. 2. *Streptomyces* sp. 1042 uzgojen u vlažnoj komorici na Čapekovej podlozi, pov. 2000 ×.
- Abb. 2. *Streptomyces* sp. 1042 in feuchter Kammer an Tschapeks Nährboden gezüchtet, Vergr. 2000 ×.
- Sl. 3. *Streptomyces* sp. 1042 uzgojen u vlažnoj komorici na podlozi s rajčicom i zobnim brašnom, pov. 2000 ×.
- Abb. 3. *Streptomyces* sp. 1042 in feuchter Kammer an Tomaten und Hafermehlnährboden gezüchtet, Vergr. 2000 ×.
- Sl. 4. *Streptomyces* sp. 1045 na Gauzeovoj podlozi s organskim izvorom dušika na Petrijevoj zdjelici, pov. 250 ×.
- Abb. 4. *Streptomyces* sp. 1045 an Gauzes Nährboden mit organischen Stickstoff in einer Petri Schale gezüchtet, Vergr. 250 ×.
- Sl. 5. *Streptomyces* sp. 1045 na Gauzeovoj podlozi s organskim izvorom dušika u vlažnoj komorici, pov. 1800 ×.
- Abb. 5. *Streptomyces* sp. 1045 in feuchter Kammer an Gauzes Nährboden mit organischen Stickstoff gezüchtet, Vergr. 1800 ×.
- Sl. 6. Različiti oblik spora kod *Str. coelicolor* uzgojen u vlažnoj komorici na Gauzeovoj podlozi s organskim izvorom dušika, pov. 2500 ×.
- Abb. 6. Verschiedene Formen von Sporen bei *Str. coelicolor* in feuchter Kammer an Gauzes Nährboden mit mineralischen Stickstoff gezüchtet, Vergr. 2500 ×.
- Sl. 7. Različiti oblici spora kod *Streptomyces* sp. 1084, snimak elektronskim mikroskopom, pov. cca 20.000 ×.
- Abb. 7. Verschiedene Formen von Sporen bei *Streptomyces* sp. 1084, elektronenmikroskopische Aufnahme, Vergr. cca 20.000 ×.



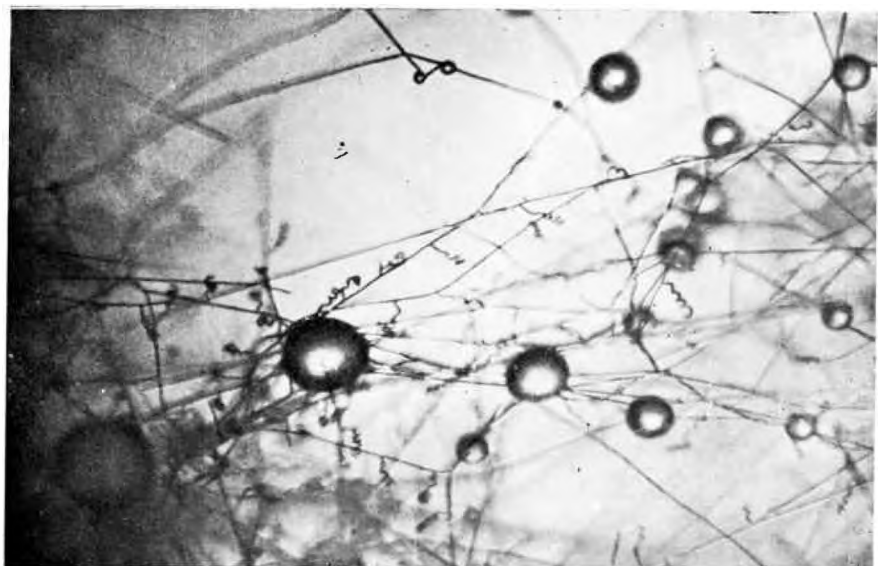
1



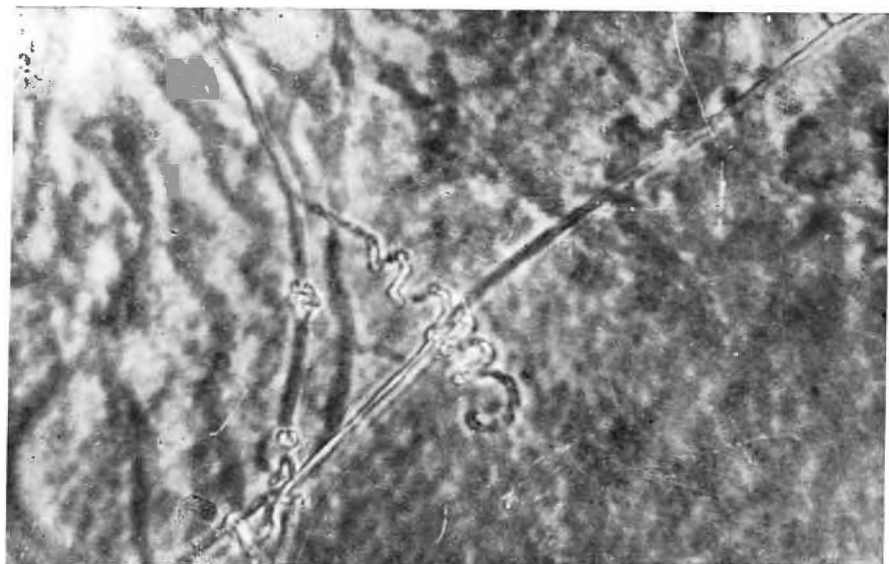
2



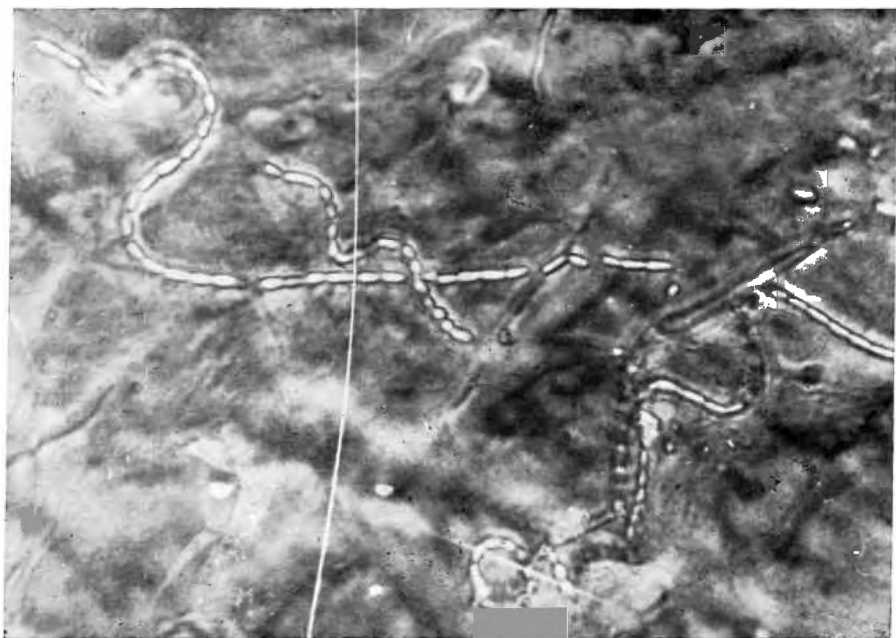
3



4



5



6

