

PRILOG POZNAVANJU AKTINOMICETA
IZ RENDZINE ZAGREBAČKE GORE

With Summary in English

ZLATKO PAVLETIĆ i BOŽIDAR STILINOVIĆ

(Institut za botaniku Sveučilišta u Zagrebu)

Primljeno 28. 2. 1969.

U v o d

Istraživanja aktinomiceta u različitim tipovima tala postaju sve aktualnija, jer još uvijek nije dovoljno ispitano pod kojim uvjetima žive ovi važni mikroorganizmi na svojim prirodnim staništima. Isto tako nije još utvrđena povezanost aktinomiceta s pojedinim tipovima tala. Ako izuzmemo radove sovjetskih autora (Gauze 1960, Tepljakova 1961, Kuznecov 1962, Krasiljnikov et al. 1965, Naumova 1966, Pakusin 1966, Timofeev 1966, Egorova 1966 i dr.) može se reći da postoji vrlo malo radova koji obrađuju aktinomicete u prirodnim staništima. U našoj zemlji tek posljednjih godina istražuju se aktinomiceti s ekološkog i horološkog aspekta. U tom pogledu objavljeno je nekoliko radova (Starč 1941, Todorović 1953, Pavletić i Stilinović 1962, 1967, 1968, 1969), Piljac 1964, Tešić et al. 1967, Milošević 1967, i dr.), ali u većini slučajeva ne obrađuju se samo aktinomiceti, već i ostale grupe mikroorganizama.

U našim istraživanjima obradili smo rendzinu na južnim obroncima Zagrebačke gore, koju je pedološki ispitao Gračanin (1941). Na to nas je ponukala i činjenica da su rendzine u mikrobiološkom polgedu još uvijek nedovoljno ispitane, a osobito to vrijedi za aktinomicete.

Istraživanja su vršena u jesen 1967. god., a laboratorijska obrada je provedena u mikrobiološkom laboratoriju Instituta za botaniku Sveučilišta u Zagrebu.

Područje istraživanja i metodika rada

Istraživanja su vršena na području iznad sela Gračana, gdje se prema Gračaninu (1941) iznad uskog pojasa donje pontijskih sedimenata nalazi uži pojas miocenskog litavca. Na tom području razvila se rendzina na kojoj raste rijetka sađena šuma bora, a pored nje i prirodna asocijacija *Quercu-Ostryetum*. Visina nad morem istraživanog područja je oko 300 m, a prosječne godišnje oborine iznose oko 900 mm uz srednju godišnju temperaturu od 10° C. Reakcija na karbonate je u čitavom profilu pozitivna, a sadržaj karbonata raste prema dubini. Probe su uzimane do dubine od 40—45 cm, što odgovara početku prelaznog horizonta AC. Na taj način ispitane su populacije aktinomiceta u pothorizontima A₁, A₂ i A₃.

Uzorci su uzimani u sterilne bočice, koje su čuvane nakon toga 2—3 mjeseca na sobnoj temperaturi, kako bi većina vegetativnih oblika aktinomiceta uginula i ostale uglavnom spore. Nakon toga određivan je metodom ploča broj aktinomiceta i gljivica. Kao podloga za izolaciju i brojenje aktinomiceta upotrebljen je Czapekov modificirani agar, a za gljivice Waksmanov kiseli glukoza-pepton agar.

Antagonistička svojstva izoliranih aktinomiceta određivana su metodom agarnih pločica, a kao testni mikroorganizmi upotrebljene su bakterije *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Escherichia coli* i gljivica *Candida albicans*. Kao testna podloga poslužio je glukoza-pepton agar.

Izolirani sojevi antagonisti determinirani su prema sistemu Gauze-a (1958). U većini slučajeva svrstani su sojevi aktinomiceta u serije, a kada je to bilo moguće određene su i pojedine vrste.

Pri obradi uzoraka mjereno je također i pH ispitivanog tla.

Pregled i tumačenja dobivenih rezultata

Od velikog broja podataka i izvršenih mjerenja u ovome radu donosimo samo srednje vrijednosti broja prisutnih aktinomiceta i gljivica u istraženom području (tabela 1).

Tabela 1 — Srednje vrijednosti broja aktinomiceta i gljivica u tlu rendzine pod različitom vegetacijom

Pothorizont	Tip vegetacije	Broj u 1 gr.		pH
		aktinomiceti	fungi	
A ₁	Šuma bora	967.000	82.500	7,21 — 7,42
A ₂	„	356.000	10.000	„
A ₃	„	200.000	7.500	„
A ₁	<i>Quercu-Ostryetum</i>	1.254.000	171.000	7,33 — 7,62
A ₂	„	845.000	98.000	„
A ₃	„	320.000	32.000	„

Kao što se iz tabele vidi, ovo je tlo razmjerno bogato aktinomicetima. Njihov najveći broj ustanovljen je u površinskom podhorizontu A₁, a prema dubini opada. Isto tako postoji razlika u broju aktinomiceta pod različitim tipovima vegetacije. Tako je u šumi bora nađen u rendzini smanjen broj aktinomiceta, a također i gljivica. Zanimljivo je da se mi-

jenja i pH vrijednost tla pod različitim tipovima vegetacije, pa je pod zajednicom *Quercu-ostryetum* pH nešto povišen, što također može biti u vezi s povećanjem broja aktinomiceta pod spomenutom vegetacijom.

Posebno je izvršena analiza svih izoliranih aktinomiceta prema pigmentaciji vegetativnog micelija, kako bi se utvrdilo da li vegetacija utječe i na rasprostranjenje pojedinih sojeva. Kod toga smo uzeli u obzir 7 tipova pigmentacije, a budući da su mjerenja bila samo orijentacijskog karaktera, analiza je vršena u površinskom sloju (pothorizont A_1). Rezultati ovih ispitivanja prikazani su u postocima u tabeli 2.

Tabela 2 — Srednje vrijednosti postotaka aktinomiceta prema boji vegetativnog micelija u pothorizontu A_1

Tip vegetacije	Boja vegetativnog micelija						
	crna	ljubičasta	smeđa	plava	žuta	crvena bezbojan	
Bor	—	0,6	11,8	4,5	38	2,6	42,5
<i>Quercu-Ostryetum</i>	—	12,3	4,9	3,6	37,2	1,7	40,3

Iz rezultata je vidljivo da u svim uzorcima dominiraju sojevi s bezbojnim vegetativnim micelijem, a također su brojno zastupljeni i sojevi sa žutim vegetativnim micelijem. Sojevi s ljubičastom bojom vegetativnog micelija zastupljeni su više pod zajednicom *Quercu-Ostryetum*, a smeđi sojevi pod šumom bora.

Između svih izoliranih aktinomiceta izdvojeni su antagonistički sojevi i određen je njihov postotak prisutnosti pod različitom vegetacijom (tabela 3).

Tabela 3 — Postotak prisutnosti antagonističkih aktinomiceta pod različitom vegetacijom

Pothorizont	Tip vegetacije	Postotak antagon. sojeva
A_1	Bor	38,5
A_2	"	27,8
A_3	"	16,2
A_1	<i>Quercu-Ostryetum</i>	45,2
A_2	" "	38,9
A_3	" "	22,4

Pored smanjivanja broja aktinomiceta prema dubini smanjuje se i postotak antagonističkih sojeva. Isto tako se može zapaziti i veći postotak antagonista u tlu pod zajednicom *Quercu-Ostryetum*.

Izolirani antagonistički sojevi određeni su do serija prema sistemu Gauze-a (tabela 4). Pod vegetacijom bora utvrde no je samo 7 serija aktinomiceta, a pod zajednicom *Quercu-Ostryetum* 12 serija. Sve serije utvrđene pod borom nalazimo i pod zajednicom *Quercu-Ostryetum*, dok je 5 serija utvrđeno samo pod vegetacijom *Quercu-Ostryetum*. U toku ovih istraživanja mogli smo ustanoviti da se u ovom području najčešće javljaju bez obzira na tip vegetacije sojevi koji pripadaju serijama *Nigres-*

cens, *Coerulescens* i *Violaceus*, a zanimljiva je i pojava predstavnika serije *Ruber*, koja, prema našim zapažanjima, nije tako česta u kontinentalnim tlima Hrvatske.

Tabela 4 — Antagonistički aktinomiceti prema pripadnosti serijama po Gauze-u

Seriya	Bor	Quercu-Ostryetum
<i>Lavendulae-roseus</i>	—	—
<i>Fradiae</i>	+	+
<i>Fuscus</i>	—	+
<i>Roseoviolaceus</i>	—	+
<i>Ruber</i>	+	+
<i>Helvolus</i>	—	+
<i>Albus</i>	—	+
<i>Albosporeus</i>	—	—
<i>Coerulescens</i>	+	+
<i>Griseus</i>	+	+
<i>Nigrescens</i>	+	+
<i>Aureus</i>	—	+
<i>Chrysomallus</i>	—	—
<i>Chromogenes</i>	+	+
<i>Violaceus</i>	+	+

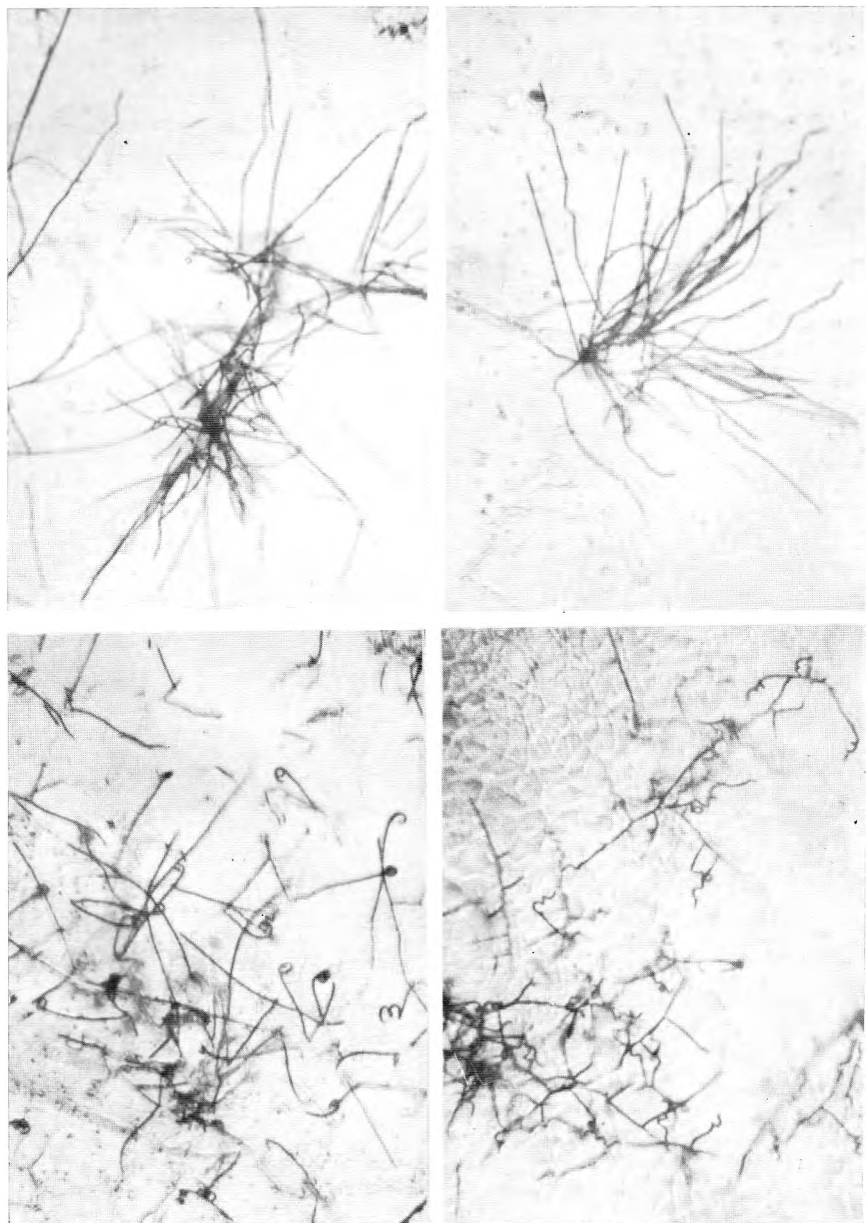
Zanimljivo je također spomenuti da u istraživanoj rendzini nisu zastupljeni predstavnici serija *Lavendulae-roseus*, *Albosporeus* i *Chrysomallus*.

Osim određivanja serija nastojali smo odrediti i vrste aktinomiceta antagonista. Tako smo pod šumom bora utvrdili ove vrste: *Actinomyces bicolor*, *A. longispororuber*, *A. violaceorectus*, *A. nigrescens*, *A. chromogenes*. Sve navedene vrste utvrđene su i pod zajednicom *Quercu-Ostryetum* pod kojom su nađene još i vrste: *A. globisporus*, *A. candidus*, *A. viridochromogenes*, *A. albidoflavus*, *A. griseus* i *A. cylindrosporus*.

Također su ispitana i morfološka svojstva sporofora, pa je s tim u vezi utvrđeno da prevladavaju sojevi sa spiralnim sporoforima. Među svim ispitanim antagonistima ima 68% sojeva sa spiralnim sporoforima. Ostatak čine sojevi sa više ili manje ravnim sporoforima. Zanimljivo je zapažanje da svi predstavnici serije *Coerulescens* posjeduju isključivo spiralno savijene sporofore. Na slici 1 su prikazani neki oblici sporofora aktinomiceta iz ispitane rendzine.

Ispitivanjem antimikrobnog spektra izoliranih antagonističkih sojeva zapaženo je da na vrstu *Escherichia coli* djeluje 20% sojeva, a dalje na *Bacillus subtilis* 90%, *Bacillus mycoides* 86%, *Staphylococcus aureus* 85% i na gljivicu *Candida albicans* 68% sojeva.

Iz svega izloženog proizlazi da u istraživanom tlu rendzine postoji dosta bogata i raznolika flora aktinomiceta. Posebno treba istaknuti da među njima ima visoki postotak antagonističkih sojeva. Glavna je karakteristika ove mikroflore da na nju znatno utječe tip vegetacije koja je razvijena na ispitanoj tlu. To se očituje kako u kvantitativnom, tako i u kvalitativnom pogledu.



Sl. 1. Oblici sporofora aktinomiceta antagonista iz rendzine Zagrebačke gore

Zaključak

Istraživani su aktinomiceti u rendzini Zagrebačke gore iznad sela Gračani.

Ispitivanja srednjih vrijednosti aktinomiceta i gljivica u rendzini su pokazala da postoje razlike u broju ovih mikroorganizama pod različitim tipovima vegetacije. Tako je u šumi bora ustanovljen manji broj aktinomiceta i gljivica nego pod šumskom zajednicom *Quercus-Ostrya*.

Najveći broj aktinomiceta je ustanovljen u površinskim horizontima.

U svim uzorcima dominiraju sojevi s bezbojnim vegetativnim micelijem. Također se mogu uočiti razlike u pigmentaciji vegetativnog micelija pod raznim tipovima vegetacije, što se očituje u brojnosti pigmentiranih sojeva.

Prema dubini opada također i postotak antagonističkih sojeva. Broj antagonističkih sojeva aktinomiceta je veći u tlu pod zajednicom *Quercus-Ostrya*.

Pod vegetacijom bora utvrđeno je 7 serija antagonističkih aktinomiceta, a pod zajednicom *Quercus-Ostrya* 12 serija. Najčešće su prisutne serije *Nigrescens*, *Coerulescens* i *Violaceus*. Zapaženi su i predstavnici serije *Ruber* koja nije tako česta u kontinentalnim tlima Hrvatske.

Pod šumom bora utvrđene su vrste: *Actinomyces bicolor*, *A. longispororuber*, *A. violaceorectus*, *A. roseoviolaceus*, i *A. nigrescens*. Sve navedene vrste utvrđene su i pod zajednicom *Quercus-Ostrya* pod kojom su nađene još *A. globisporus*, *A. candidus*, *A. viridochromogenes*, *A. albidoflavus*, *A. griseus* i *A. cylindrosporus*.

Od ispitanih antagonističkih sojeva aktinomiceta 68% imaju spiralno savinute sporofore, a ostali imaju ravne sporofore.

Na vrstu *Escherichia coli* djeluje 20%, na *Bacillus subtilis* 90%, *Bacillus mycoides* 86%, *Staphylococcus aureus* 85% i na gljivicu *Candida albicans* 68% antagonističkih sojeva aktinomiceta.

Literatura

- Egorova, C. V., 1966: Mikroflora tamno-kaštanovih počv. Mikroflora počv južnoi česti SSSR, 78—92. Moskva.
- Gauze, G. F. et al., 1958: Zur Klassifizierung der Actinomyceten. Jena.
- Gauze, G. F., 1960: The search for new antibiotics. New Haven.
- Gračanin, M., 1941: Prilog morfologiji i genezi rendzina Hrvatske. Poljodjelska znanstvena smotra, 4, 22—43.
- Krasiljnikov, N. A. i Asem Husein, 1965: Količestvenoe rasprostranenie aktinomicetov v egipetskih počvah. Biologija odeljnih grup aktinomicetov, 356—370. Moskva.
- Kuznecov, D. S., 1962: Rasprostranenie aktinomicetov v genetičeskih gorizontah nekotarih počv Baškirii. Mikrobiologija (Moskva), 31, 301—306.
- Milošević, R., 1967: Mikroflora i njena dinamika na različitim staništima Deliblatske peščare, I. Mikrobnno naselje neobrasle peščane dine. Mikrobiologija (Beograd), 4, 79—96.
- Milošević, R., 1967: Mikroflora i njena dinamika na raznim staništima Deliblatske peščare. II. Mikrobnno naselje u pesku peščarskog tipa vegetacije. Mikrobiologija (Beograd), 4, 175—197.
- Naumova, A. N., 1966: Mikroflora serozemnih počv. Mikroflora počv južnoi časti SSSR, 25—48. Moskva.
- Pakusin, A. G., 1966: Mikroflora počv Azerbaidžana. Mikroflora počv južnoi časti SSSR, 49—77. Moskva.
- Pavletić Z. i Stilinović B., 1967/68: Antagonistički sojevi streptomiceta iz termalnog mulja Tuheljskih toplica u Hrv. Zagorju. Acta botanica Croatica, 26/27, 9—16.
- Pavletić, Z. i Stilinović B., 1968: Utjecaj pedoloških i fitocenoloških faktora na raspored aktinomiceta u tlima Zagrebačke gore. Referat na I. Kongresu mikrobiologa Jugoslavije, Beograd, 25. 11. — 28. 11. 1968.
- Pavletić Z. i Stilinović B., 1969: Rasprostranjenost aktinomiceta antagonista u nekim kontinentalnim tlima Jugoslavije. Referat na Simpozijumu iz ekologije, Beograd, 12. 2. — 14. 2. 1969.
- Piljac, G., 1964: Morfološko-fiziološke studije streptomiceta iz nekih tala kontinentalnog i primorskog dijela Jugoslavije. Doktorska disertacija.
- Starč, A., 1941: Mikrobiološka studija nekih podzolastih tala Hrvatske. Poljodjelska znanstvena smotra, 4, 83—192.
- Stilinović, B. i Pavletić, Z., 1962: Antagonističko djelovanje nekih oblika roda Streptomyces iz zemlje crvenice s otoka Prvića u Dalmaciji. Acta botanica Croatica 20/21, 39—46.
- Tepljakova, Z. F., 1961: Aktinomiceti gornih i podgornih počv Zailijskogo Altau. Fiziologija i ekologija mikroorganizmov. Alma-Ata., Akad. Nauk Kozahskoj SSSR.
- Tešić, Ž. et al., 1967: Prilog poznavanju mikroflore u dolomitskim i serpentinским staništima pod raznim stadijima biljne sukcesije u Bosni i Hercegovini. Mikrobiologija (Beograd), 4, 1—19.
- Timofeev, V. A., 1966: Aerobnaja mikroflora počv vertikalnogo rjada Čuiskoi vpadini. Mikroflora počv južnoi časti SSSR, 118—148. Moskva.
- Todorović, M., 1953: Prilog proučavanju *Actinomyces Spp.* iz naših zemljišta. Zemljište i biljka 2, 439—468.

SUMMARY

A CONTRIBUTION TO KNOWLEDGE OF THE ACTINOMYCETES IN RENDZINA OF ZAGREBAČKA GORA

Zlatko Paveltić and Božidar Stilinović

(Botanical Institute University of Zagreb)

This is a study of *Actinomycetes* in the rendzinas of the Zagrebačka gora mountain occurring in localities above the village of Gračani.

An analysis of the mean frequencies of *Actinomycetes* and *Fungi* has proved that there exist differences in the number of these organisms under varied types of vegetation. Thus, for instance in a *Pine* forest was established a smaller number of *Actinomycetes* than under the cover of the forest association *Quercus-Ostryetum*.

Most of *Actinomycetes* were established in surface soil horizons, while they decrease with soil depth. In all samples prevail strains with colourless vegetative mycelium. There are also conspicuous differences in the pigmentation of the vegetative mycelium under varied types of vegetation, which is exhibited by the frequencies of the pigmented strains.

Parallel with soil depth decreases also the percentage of antagonistic strains. The number of antagonistic strains of *Actinomycetes* is higher in a soil covered by the forest community *Quercus-Ostryetum*.

In a soil under *Pine* forest were established 7 series of antagonistic *Actinomycetes*, under the *Quercus-Ostryetum* association 12 series. Most frequently were present the series *Nigrescens* (Blackish), *Coerulescens* (Bluish), and *Violaceus* (Violet-coloured). Noticed were also representatives of the series *Ruber* (Red), which is not so frequent in the continental soils of Croatia.

In a soil under *Pine* forest the following species were found: *Actinomyces bicolor*, *A. longispororuber*, *A. violaceorectus*, *A. roseoviolaceus*, *A. nigrescens*, and *A. chromogenes*. All the mentioned species were also established under the association *Quercus-Ostryetum*, under which were also found *A. globisporus*, *A. griseus* and *A. cylindrosporus*.

Out of the analysed antagonistic strains of *Actinomycetes* 68% possess sporophores curved into spirals and the rest possess rectilinear sporophores.

The species *Escherichia coli* is affected by 20%, the *Bacillus subtilis* by 90%, the *Bacillus mycoides* by 86%, the *Staphylococcus aureus* by 85%, and the yeastlike microorganism *Candida albicans* by 68% of antagonistic *Actinomycetes* strains.