

Č E S K O S L O V E N S K Á A K A D E M I E V Ě D

ČESKOSLOVENSKÁ  
MIKROBIOLOGIE

ROČNÍK

1

ČÍSLO

2



ČS. MIKROBIOL.

PRAHA, DUBEN 1956 - STR. 49—96

## Č E S K O S L O V E N S K Á M I K R O B I O L O G I E

Vedoucí redaktor: Akademik IVAN MÁLEK

Členové redakční rady:

KAREL BERAN, LADISLAV BORECKÝ, MIKULÁŠ BURGER, JOSEF DYR, EVA HLAVÁČKOVÁ, CTIRAD JOHN, JÁN KAROLČEK, JIŘÍ MACURA, redakční tajemník, JIŘÍ MÁLEK, JAN NEČÁSEK, člen korespondent SAV PAVOL NEMEC, KAREL RAŠKA, JAROMÍR SEIFERT, JAROSLAV ŠTERZL

---

### O B S A H

Z. Trnka: Vliv nedostatku a nadbytku bílkovin v potravě na imunitní odpověď I. Krátkodobé vystavení dietám . . . . .	49
I. Říha a L. Říhová: Vliv protilátek v kultivačním prostředí na růst <i>Salmonella paratyphi B</i> . . .	59
V. Vinter: Sporulace bacilů II. Proteolytické enzymy v procesu sporulace <i>Bacillus megatherium</i> .	63
J. Stárka a J. Závada: Vztah metafosfátu k tvorbě volutinu u kvasinek. Elektroforetické rozdělení fosforylovaných produktů označených $P^{32}$ . . . . .	70
J. Seifert: Mikrobní procesy a katalytická mohutnost půdy . . . . .	74
Zprávy . . . . .	87

---

*Vychází šestkrát ročně*

\*

*Roční předplatné 30 Kčs*

\*

*Jednotlivé číslo 5 Kčs*

Československá  
M I K R O B I O L O G I E

ročník 1. (1956) — č. 2

Vliv nedostatku a nadbytku bílkovin v potravě na imunitní odpověď. I.

Krátkodobé vystavení dietám

ZDENĚK TRNKA\*)

Československá akademie věd, Biologický ústav, mikrobiologické oddělení, Praha

Ředitel ústavu akademik Ivan Málek

Došlo 14. 10. 1955

Často je studován vliv složení a množství potravin na obranné schopnosti organismu pro svůj závažný praktický a teoretický význam. Řada experimentálních prací jednoznačně ukázala, že kalorický a vitaminový nedostatek v potravě snižuje průkazně obranyschopnost organismu vůči mikrobiální infekci. Význam bílkovinného metabolismu pro obranu organismu byl vyzvednut po zjištění bílkovinné povahy protilátek. Řada prací studuje vliv množství, složení a kvality bílkovin v potravě jak na samotnou tvorbu protilátek, tak i na jiné obranné mechanismy.

Většina autorů studujících tento problém (jako na př. Cannon, Chase a Wissler 1943, Cannon 1945, Berry, Dawis a Spies 1945, Wissler, Woolridge a Steffee 1946, Forni 1952, Veršilová 1954, Klimentová 1954 a jiní) prokázala významné snížení tvorby protilátek a celkové snížení přirozené i získané odolnosti vůči infekci a intoxikaci u experimentálních zvířat krmených nízkobílkovinnou dietou. Naproti tomu, hlavně některé práce starší jako Zilva v roce 1919 (Schneider 1946), Lange a Simmons v roce 1923 (Watson 1937) nebo práce s obtížně analysovatelným klinickým materiálem jako Bieler, Echer a Spies (1947) neprokázaly u proteindeficientních organismů významný pokles tvorby protilátek nebo celkové odolnosti vůči infekci. Guggenheim a Buechler (1946, 1948) ze svých pokusů uzavírají, že humorální obranné mechanismy jsou citlivější na bílkovinný nedostatek nežli celulární. Robertson a Doyle (1936—37) dokázali, že krysy krmené dietou s živočišnými bílkovinami mají podstatně vyšší odolnost vůči bakteriální infekci oproti krysám krmeným rostlinnými bílkovinami.

Dosavadní práce se však zabývaly pouze vlivem nedostatku bílkovin a úplně opomíjely otázku vlivu vysokého, nadměrného množství bílkovin v dietě. U nás se touto otázkou zabývá Poupá se svými spolupracovníky a studuje vlivy isokalorických nízkobílkovinných, bílkovinami vyvážených a vysokobílkovinných diet na různé fyziologické reakce. Zjistil (Poupá 1954), že krysy, obzvláště v období nejprudšího růstu, rostou nejlépe, jsou-li krmeny dietou se středním podílem bílkovin. Lát a Faltová (1954) ukázali, že regulace příjmu bílkovin co do jejich množství je poměrně přesná a odpovídá tak zvanému bílkovinnému optimu, souhlasícímu s Poupou označeným optimem koncentrace bílkovin pro růst. Faltová, Poupá a Servít (1955) zjistili, že jak příliš vysoký tak příliš nízký podíl bílkovin v dietě zvyšuje křečovou pohotovost u myši na elektrický a sluchový podnět proti myším, krmeným dietou se středním podílem bílkovin, odpovídajícím podmínkám optimálního růstu. Lát a Faltová (1955) nalézají shodně optimum koncentrace bílkovin pro diferenční schopnost centrálního nervového systému, zatím co vysokobílkovinná dieta působí zesílení procesu útlumu a nízkobílkovinná dieta zesílení procesu podráždění.

Navazujeme na tyto pokusy; úkolem naší práce je sledovat změny některých imunologických reakcí krys živěných dietami s nízkým, pro růst optimálním a vysokým podílem bílkovin v dietě.

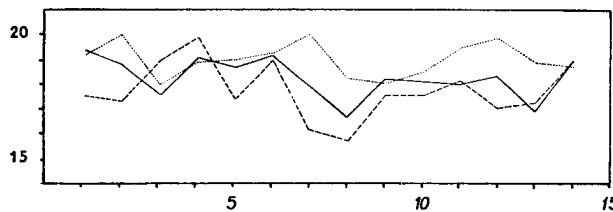
\*) Statisticky zpracoval František Zítek, Matematický ústav ČSAV, Praha.

### Materiál a metody

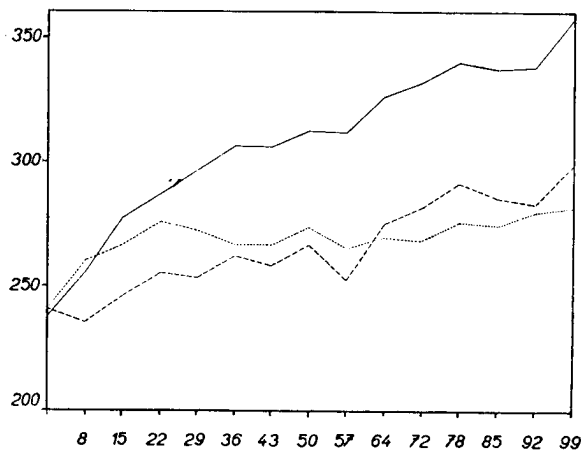
Do pokusu jsme vzali 90 rostoucích kryších samců kmene Wistar (chov farmy ČSAV) ve stáří 3 měsíců o průměrné váze 240 g. Od odstavení až do nasazení pokusných diet byly krysy krmeny standardní Larsenovou dietou. Krysy jsme rovnoměrně rozdělili do tří skupin a chovali v akváriích po šesti zvířatech. Jednotlivé skupiny kryš byly krmeny třemi různými prakticky isokalorickými dietami s konstantním základem a vzájemně se pouze lišícími poměrem živočišných bílkovin (kaseinem) a glycidů (pšeničného škrobu), takže výsledné procento bílkovin v jednotlivých dietách bylo 6,7, 23,2 a 42,9.

Tabulka 1. Složení diet

Označení diety	Na 1000 gramů										V % celkového objemu		
	kasein	pšeničný škrob	pšeničný šrot	sušené mléko	vojtěška	sušené droždí	margarin	rybí tuk	CaCO <sub>3</sub>	NaCl	bílkoviny	glycidy	tuky
L <sub>15</sub>	240,-	500,-	60,-	3,-	30,-	50,-	88,-	7,-	16,5	5,5	23,2	48,1	8,8
L <sub>16</sub>	490,-	250,-	60,-	3,-	30,-	50,-	88,-	7,-	16,5	5,5	42,9	27,1	8,9
L <sub>19</sub>	35,-	705,-	60,-	3,-	30,-	50,-	88,-	7,-	16,5	5,5	6,7	65,3	8,7



Obr. 1. Příjem diet u jednotlivých skupin. Osa y udává průměrný příjem v gramech u jednotlivých diet, rozpočteno na 1 krysu. Osa x udává dobu podávání diet v týdnech. L<sub>15</sub> (23,2 % bílk.) — značeno plně, L<sub>16</sub> (42,9 % bílk.) — čárkované, L<sub>19</sub> (6,7 % bílk.) — tečkované.



(Převzali jsme diety používané Poupou, jejich složení je uvedeno v tab. 1.) Diety a voda byly podávány kryšám ad libitum. Přísun potravy, vody a ošetřování kryš se dále pravidelně, tak aby zvířata byla co nejméně rušena. Denně jsme sledovali množství přijaté potravy po celou dobu pokusu (obr. 1). Spotřeba jednotlivých diet ukazuje, že nebylo značnějších rozdílů v jejich příjmu, což znamená, že kalorický přísun u jednotlivých kryš všech skupin můžeme považovat v průměru za stejný. Růstové a jiné rozdíly mezi jednotlivými skupinami kryš jsou tedy výsledkem rozličeného složení diet. Krysy jsme pravidelně jednou týdně vážili, sledovali jejich váhové přírůstky a sestavili růstové křivky (obr. 2).

Obr. 2. Růstové křivky jednotlivých skupin. Na ose y jsou průměry vah v gramech. Na ose x počet dnů od počátku podávání diet. Statistické zhodnocení jednotlivých skupin na konci 99. dne podle Studentova t testu ukázalo, že rozdíly vah mezi skupinou se středním podílem bílkovin a skupinami vysokobílkovinnou a nízkobílkovinnou je vysoce významný ( $P < 1/100$ ), zatím co rozdíl mezi vysokobílkovinnou a nízkobílkovinnou skupinou se ukázal jako nevýznamný ( $P > 10\%$ ). L<sub>15</sub> (23,2 % bílk.) — značeno plně, L<sub>16</sub> (42,9 % bílk.) — čárkované, L<sub>19</sub> (6,7 % bílk.) — tečkované.

Měsíc po začátku podávání pokusných diet jsme všem krysám z ocasní veny po odstřížení konečku ocasu odebrali krev k stanovení hladiny komplementu a k provedení kontrolních aglutinací před imunisací. Všechny kontrolní aglutinace byly bez výhrady ve všech ředěních negativní. Současně v seru této krve jsme stanovili celkové bílkoviny pomocí refraktometrické metody. Průměrná hodnota serových bílkovin byla u skupiny se středním podílem bílkovin 7,00 %, u vysokobílkovinné skupiny 5,98 % a u nízkobílkovinné skupiny 5,58 %. Snížení celkového množství bílkovin krevního sera u nízkobílkovinných diet je v plném souhlasu s literárními údaji (Krebs 1946, Bieler, Echer a Spies 1947, Metcoff, Favour a Stare 1945 a další). Dále jsme polovinu pokusných krys imunisovali intraperitoneálně 6 dávkami ve dvou denních intervalech teplem inaktivovanou suspensí *Salmonella paratyphi* B ( $5 \cdot 10^8$  mikrobů na 1 imunizační dávku). Po skončení imunisování jsme 4., 7., 10., 14., 21., 28. a 35. den odebírali krysám z ocasní veny krev na stanovení aglutinujících protilátek. Ve 4. měsíci po začátku podávání pokusných diet jsme provedli infekční pokusy se stanovením bakteriémie a přežívání.

Titraci komplementu jsme stanovili pomocí komerčního hemolytického amboceptoru obvyklým způsobem. Pro větší přesnost jsme jej ředili v klesající řadě po 0,03 ml zkoumaného sera ředěného 1 : 10. Intensitu hemolysy jsme zjišťovali v supernatantu po centrifugaci pomocí kolorimetru při použití zeleného filtru vlnové délky 530 m $\mu$ . Výsledná čísla jsme odečítali v procentech hemolysy na křivce sestavené vždy z proměřené, procentuálně ředěné hemolytické řady užitého hemolytického systému v daném pokusu.

Aglutinující protilátky jsme zjišťovali ledničkovým aglutinačním testem při 2 až 4 °C a odečítali je po 2, 4 a 6 dnech.

K infekčnímu pokusu jsme použili *S. paratyphi* B suspendované v roztoku 0,2% agaru, jejíž DL 100 jsme vytirovali na 100 g normálních krys (odpovídalo  $5 \cdot 10^8$  mikrobů na 100 g). Krysy jsme infikovali intraperitoneálně. Pokusné imunisované i neimunisované krysy jsme zpracovali v 9 skupinách, ve kterých jsme podle potřeby měnili infekční dávky. U krys jsme sledovali bakteriemi, která nám udávala přestup bakterií z peritoneální dutiny do krve a rychlost očišťování krve. Krev jsme odebrali z ocasní veny v 1, 3. a 6. hodině po infekci v množství 0,4 ml do 0,1 ml 5% roztoku natrium citratu; ředili jsme 1 : 50, 500 a 5000 a kultivovali na Endově půdě. Počet mikrobů jsme určovali vždy z průměru 4 kultivací. Počty mikrobů udané v tabulce jsou přepočteny na 1 ml krve. Hynutí krys jsme sledovali po 7 dní.

Spontánní hynutí krys bylo v průběhu dietního pokusu nevýznamné. Za celou dobu trvání pokusu uhynula z každé skupiny jedna krysa.

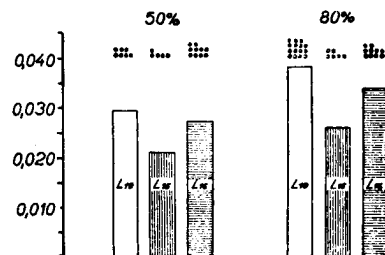
### Výsledky

Hladina komplementu po 1 měsíci podávání pokusných diet (obr. 3) ukazuje, že největší množství komplementu je u krys krmených dietou se středním podílem

Obr. 3. Množství komplementu v průměrech ze 30 krys udané v absolutních množstvích sera, potřebných pro 50% a 80% hemolysy. Kroužky udávají počet případů, ve kterých ani nejvyšší množství sera, použitého v pokusech (0,045 ml), nevyvolalo uvedené % hemolysy. Do výpočtu pro sestavení grafu bylo u těchto případů bráno množství nejbližší vyšší (0,05 ml). Statisticky zhodnoceno Wilcoxonovým  $\beta$ -testem.

50% hemolysa: L<sub>10</sub> (prázdný sloupec) 0,029; L<sub>15</sub> (svisle čárkovaný) 0,021; L<sub>16</sub> (vodorovně čárk.) 0,027;

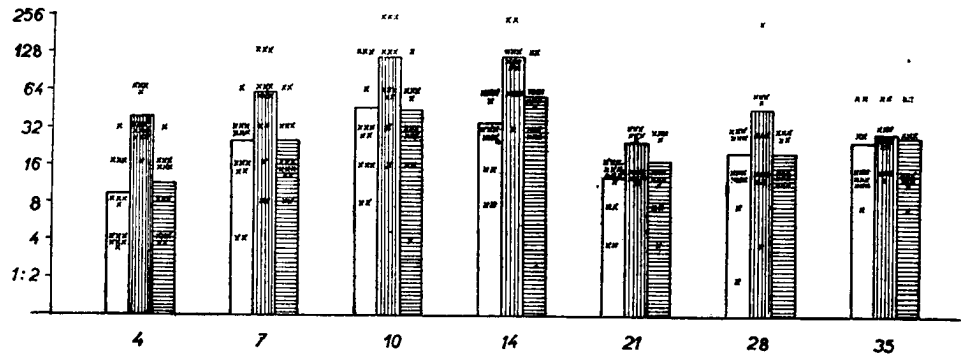
80% hemolysa: L<sub>10</sub> (prázdný sloupec) 0,038; L<sub>15</sub> (svisle čárk.) 0,026; L<sub>16</sub> (vodorovně čárk.) 0,034.



bílkovin, menší množství u krys krmených vysokobílkovinnou dietou a nejmenší množství u krys s nízkobílkovinnou dietou. Statistickým zhodnocením jsme zjistili významnosti rozdílů mezi skupinami krys krmenými jednotlivými dietami: mezi skupinami se středním podílem bílkovin a nízkobílkovinnou dietou u 50% hemolysy mírně významný rozdíl a u 80% hemolysy významný rozdíl. Rozdíly obou skupin od skupiny vysokobílkovinné nebyly významné.

Hladina aglutinujících protilátek všech třech skupin pokusných krys v časovém rozložení (obr. 4) ukazuje, že krysy krmené dietou se středním podílem bílkovin odpovídají na imunisaci ve srovnání s nízkobílkovinnou a vysokobílkovinnou dietou významně vyšším titrem. Mezi titry krys krmených nízkobílkovinnou a vysokobílkovinnou dietou není prokazatelný rozdíl.

Rozdíly v počtu bakterií v krevním oběhu v 1., 3. a 6. hodině po infekci ukazuje tabulka 2. V soulahu se Šterzlem (1954, 1955), který ukázal, že přestup bakterií z peritoneální dutiny do krevního oběhu a mizení bakterií z krve se řádově liší



Obr. 4. Tvorba aglutinujících protilátek. Na ose y jsou průměry titerů aglutinujících protilátek jednotlivých skupin. Na ose x dny odběrů po skončené imunisaci. Křížky udávají individuální titry jednotlivých krys. Statisticky zhodnoceno Wilcoxonovým  $\beta$ -testem. Rozdíly titerů mezi skupinou vysokobílkovinnou a středním podílem bílkovin jsou až do 21. dne významné; mezi skupinou nízkobílkovinnou a středním podílem bílkovin až do 28. dne opět významné. Mezi skupinou vysokobílkovinnou a nízkobílkovinnou jsou v celém průměru rozdíly nevýznamné. Čísla označují numerickou hodnotu průměrů titerů.

L<sub>19</sub> (prázdný sloupec): 9,3 — 24,5 — 48,0 — 6,1 — 13,13 — 21,2 — 24,5  
 L<sub>15</sub> (svisle čárk.): 40,0 — 61,7 — 116,8 — 125,7 — 24,0 — 49,9 — 32,0;  
 L<sub>16</sub> (vodorovně čárk.): 11,4 — 24,5 — 43,0 — 59,7 — 17,8 — 21,1 — 30,8.

Tabulka 2. Průměry bakteriémie u imunisovaných a neimunisovaných krys 1, 3 a 6 hodin po infekci

		% bílkovin	1 hodina	3 hodiny	6 hodin
imun.	L <sub>15</sub>	23,2 %	3 053	53	912
	L <sub>16</sub>	42,9 %	2 471	147	80
	L <sub>19</sub>	6,7 %	14 192	31 512	162
neimun.	L <sub>15</sub>	23,2 %	247 719	419 678	88 988
	L <sub>16</sub>	42,9 %	234 660	719 517	75 961
	L <sub>19</sub>	6,7 %	545 342	202 812	65 729

Uvedené hodnoty znamenají počet mikrobů v 1 ml krve.

u krys imunisovaných a neimunisovaných, nacházíme v našem pokusu mezi krysami imunisovanými a neimunisovanými zásadní rozdíl, který je statisticky podle Wilcoxonova  $\beta$ -testu vysoce významný. Nevýznamné rozdíly jsou pak mezi jednotlivými dietními skupinami krys.

Výsledky přežívání infekčního pokusu (tabulka 3) ukázaly v odolnosti vůči infekci jako méněcennou skupinu krys krmenou nízkobílkovinnou dietou. Tato snížená odolnost vyjádřená zvětšením a zrychlením hynutí po infekci je u krys imunisovaných statisticky vysoce významná (opět podle Wilcoxonova  $\beta$ -testu), zatím co

u neimunizovaných kryš je větší hynutí pouze na hranici významnosti. Skupiny kryš krmených vysokobílkovinnou dietou a bílkovinami vyváženou dietou se ukázaly v odolnosti vůči infekci rovnocennými.

Tabulka 3. Přežívání infekce

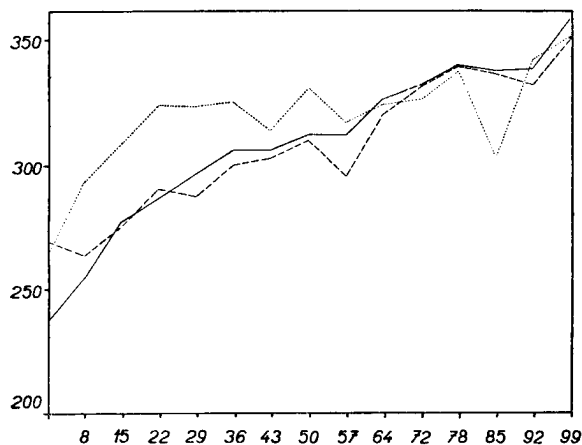
Označení skupiny	Počet kryš	Dávka	Uhynutí v hod. po infekci								Počet přežitých
			6	24	48	72	96	128	144	168	
L <sub>15</sub> (23,2 % bílk.) imunizované	3	7 DL 100		1	1	1					0
	3	7 DL 100		1	1						1
	4	7 DL 100		2							2
	4	7 DL 100									4
L <sub>16</sub> (42,9 % bílk.) imunizované	3	7 DL 100					2				1
	3	7 DL 100		1	1						1
	4	7 DL 100									4
	4	7 DL 100									4
L <sub>19</sub> (6,7 % bílk.) imunizované	3	7 DL 100		3							0
	3	7 DL 100		3							0
	4	7 DL 100	1	3							0
	4	7 DL 100	1	2							1
L <sub>15</sub> (23,2 % bílk.) neimunizované	3	1 DL 100		3							0
	3	$\frac{3}{4}$ DL 100		2	1						0
	3	$\frac{2}{3}$ DL 100		1							2
	2	$\frac{2}{3}$ DL 100									2
	3	$\frac{2}{3}$ DL 100		1							2
L <sub>16</sub> (42,9 % bílk.) neimunizované	3	1 DL 100	1	2							0
	3	$\frac{3}{4}$ DL 100		2							1
	3	$\frac{2}{3}$ DL 100		1							2
	2	$\frac{2}{3}$ DL 100				1					1
	4	$\frac{2}{3}$ DL 100		2		1					1
L <sub>19</sub> (6,7 % bílk.) neimunizované	3	1 DL 100	1	2							0
	3	$\frac{3}{4}$ DL 100		3							0
	3	$\frac{2}{3}$ DL 100		3							0
	2	$\frac{2}{3}$ DL 100								1	0
	3	$\frac{2}{3}$ DL 100		3					1		0

Jednotlivé řádky znamenají skupiny postupně brané do pokusu.

### Diskuse

V podstatě souhlasně s většinou prací jsme prokázali u proteindeficientních kryš nižší hladinu komplementu, sníženou schopnost tvorby protilátek a zmenšenou přirozenou a získanou odolnost vůči infekci *S. paratyphi* B než u kontrolních zvířat. Při hodnocení výsledků pokusů s proteindeficientními živočichy je nutno vždy přihlížet k celkovému množství bílkovin v dietách a zároveň k druhu použitých živočichů. Postižení deficientních živočichů je úměrné klesajícímu množství bílkovin v potravě. Ve svých pokusech jsme se snažili zachovat potřebné minimum bílkovin,

aby sám nedostatek bílkovin krysy nezabíjel. Volili jsme množství bílkovin mezi 6 a 7 %, neboť 9 % bílkovin v dietě podle Guggenhaima a Buechlera (1948) již nepůsobilo značnějších rozdílů v baktericidní a fagocytární aktivitě proti normálně (18 % bílkovin) živěným kryšám. Proto srovnáváme-li naše výsledky s výsledky autorů, kteří použili v pokusných dietách velmi nízkých množství bílkovin jako Guggenhaim a Buechler (1948) 3 %, Cannon, Chase a Wissler (1943) 1 %, Cannon, Wissler, Woolridge a Bendit (1944) 2 %, Wissler, Woolridge, Steffee a Cannon (1946) 0,9 % a 1,9 %, ukazuje se samozřejmě mnohem větší potlačení tvorby protilátek i celkové obranyschopnosti, neboť tyto živočichové jsou těžce celkově postiženi a jsou na hranici možné existence. Tak veliký nedostatek bílkovin v dietě zde nevyčerpává pouze proteinové zásoby, ovlivňující tvorbu protilátek (Cannon 1942), ale těžce postihuje i všechny funkce organismu a vede k významnému hynutí pokusných zvířat. Chybou většiny prací o vlivu výživy na obranyschopnost organismu je především to, že obecně neuvádějí růstové nebo váhové křivky a dokonce ani ve většině prací nenacházíme údaje o spontánním hynutí pokusných zvířat, naznačující jejich celkové postižení dietou, což je podle našeho názoru pro srovnávání výsledků jednotlivých prací velmi významné. Další nevýhodou některých prací je používání řady rozličných diet, vzájemně se málo lišících (Schneider a Webster 1945, Forni 1952, Berry, Davis a Spies 1945), takže výsledky vázané na velké množství faktorů těžko mohou přinést jasnost do samé podstaty vlivu jednotlivých složek výživy a opět znemožňují přesné srovnání výsledků. Velmi málo je věnována pozornost též otázce délky podávání pokusné diety. Ve většině pokusů byly pokusné diety podávány 1., 2. a 3. měsíce, ojediněle déle. Pokusy Metcoffa, Darlinga, Scanlona a Stareho (1948) ukázaly, že po krátkodobém bílkovinném nedostatku v potravě



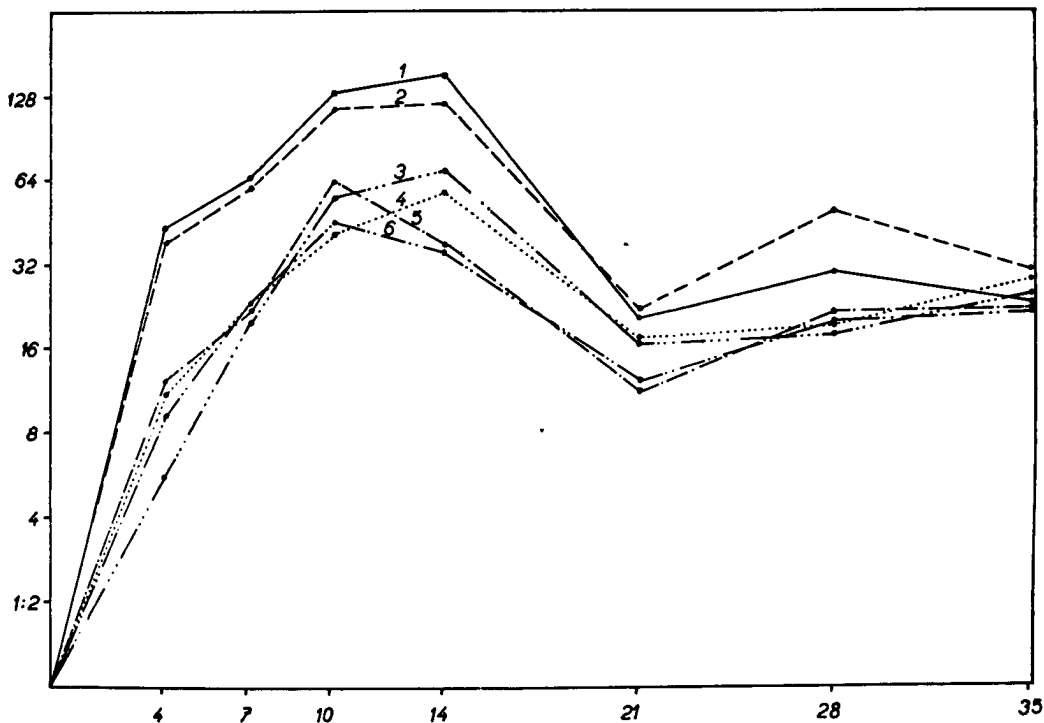
Obr. 5. Vztah mezi tvorbou specifických protilátek a růstovou prosperitou. Průměrná váhová křivka skupiny krmené dietou se středním podílem bílkovin (značeno plně). Průměry vypočtené z 5 nejtěžších kryš ze skupiny nízkobílkovinné (značeno tečkovaně) a vysokobílkovinné (značeno čárkovaně); na ose  $y$  udány váhy v gramech; na ose  $x$  počet dnů od začátku podávání diety.

(10 dní) další podávání této diety během infekčního pokusu nevedlo k potlačení schopnosti tvorby protilátek, i když byl zaznamenán celkový pokles bílkovin sera a tedy i  $\gamma$ -globulinů. Tato práce jakož i práce Bielera, Echase a Spieseho (1947) ukazují, že hladina specifických protilátek není přímo závislá na celkovém množství serových bílkovin.

Zajímavé jsou naše výsledky u kryš krměných vysokobílkovinnou dietou, u kterých dochází k významnému snížení tvorby specifických protilátek na imunizační podnět, ale které jsou na zatížení infekcí stejně resistantní jako kryšy krměné dietou se středním podílem bílkovin, proti skupině nízkobílkovinných kryš, které hynou významně rychleji a ve větším počtu. Optimální tvorba specifických protilátek je u kryš v souladu s výsledky Poupy a spolupracovníků vázána na tak zvané bílkovinné optimum v potravě. U hladiny komplementu je tato skutečnost též naznačena, i když není statisticky významná. Zde však hraje pravděpodobně



určitou úlohu celkové množství bílkovin v krevním seru. Bílkovinné optimum je nejvýznačněji vyjádřeno růstovou prosperitou. Proto jsme se pokusili odkrýt souvislost mezi růstovou prosperitou a tvorbou specifických protilátek. Nejprve jsme porovnali průměrnou růstovou křivku u krys krmených dietou se středním podílem bílkovin s průměry 5 nejtěžších krys z vysokobílkovinné a nízkobílkovinné diety



Obr. 6. Průměrné aglutinační titry srovnány s aglutinačními titry 5 nejtěžších krys v každé skupině. Na ose  $y$  jsou průměrné aglutinační titry srovnány s aglutinačními titry 5 nejtěžších krys v každé skupině, na ose  $x$  jsou dny odběru po skončené imunizaci.

Křivky: 1 — L<sub>15</sub> (23,2 % bílkovin) průměr z 5 nejtěžších krys  
 2 — L<sub>15</sub> (23,2 % bílkovin) průměr z 30 krys  
 3 — L<sub>18</sub> (42,9 % bílkovin) průměr z 5 nejtěžších krys  
 4 — L<sub>18</sub> (42,9 % bílkovin) průměr z 30 krys  
 5 — L<sub>19</sub> ( 6,7 % bílkovin) průměr z 5 nejtěžších krys  
 6 — L<sub>19</sub> ( 6,7 % bílkovin) průměr z 30 krys

(obr. 5), což nám ukázalo, že není u takto uměle vytvořených skupin prakticky rozdílů. Průměry aglutinačních titrů všech skupin s průměry aglutinačních titrů 5 nejtěžších krys z každé skupiny (obr. 6) ukázaly, že nejsou uvnitř dietních skupin v podstatě žádné rozdílů. To ukazuje, že imunologické vlastnosti jednotlivých skupin jsou výrazem kvalitativního rozdílů, který není možno vztáhnout k růstové prosperitě.

Čím se snažíme vysvětlit snížení tvorby protilátek u vysoko a nízkobílkovinných krys? Že není postižen mechanismus tvorby protilátek, ukazují výsledky pokusů Wisslera, Woolridge a Steffeeho (1946) i Wisslera, Woolridge, Steffeeho a Cannona (1946), z kterých je patrné, že krátkodobé podávání diet bohatých na bílkoviny nebo aminokyseliny několik dní před imunizací u krys rozličně dlouho krmených

nízkobílkovinnými dietami podstatně ovlivní tvorbu protilátek ve smyslu zvýšení. Tyto výsledky by naznačovaly, že snížení tvorby protilátek je výsledkem vyčerpání proteinových rezerv v organismu nebo nedostatku přísunu potřebných aminokyselin v potravě, což bývá nejčastějším vysvětlením popisovaného jevu. Proti nedostatku potřebného množství aminokyselin v potravě však jasně mluví výsledky našich pokusů s vysokobílkovinnou dietou, působící na tvorbu specifických protilátek stejně jako nízkobílkovinná dieta. Otázku bílkovinných rezerv je však možno vysvětlit tím, že pohotovost bílkovinné rezervy mají vztah k optimální koncentraci bílkovin v dietě.

Závěrem je nutno podle našeho názoru zvláště upozornit, že rozdíly v resistenci mezi jednotlivými skupinami nejsou příliš veliké a mnohdy je třeba statistického zhodnocení pro odhalení jejich významu. Proti tomu rozdíly mezi imunizovanými a neimunizovanými krysami jsou tak obrovské, a to jak v bakteriemi, tak i v letální dávce, že jejich základní biologický rozdíl je přímo nápadný. Tento rozdíl nemůžeme dietními zásahy překlenout. Proto si musíme znovu uvědomit, že hlavní směr boje za odolnější lidskou populaci proti většině infekcí spočívá na specifickém imunologickém zvýšení obranyschopnosti a ne na předpokladu, že pouze dietní zásahy by mohly vyřešit tento problém.

#### *Souhrn*

1. Rozdíly dosažené vlivem různých podílů bílkovin v dietě se uplatnili pouze uvnitř dvou základních skupin, t. j. skupiny imunizovaných a neimunizovaných krys. Dietní zásahy se však vůbec neuplatnily v základním biologickém rozdílu mezi skupinami zvířat imunizovaných a neimunizovaných.

2. Krysy krmené nízkobílkovinnou dietou ve srovnání s krysami se středním podílem bílkovin v dietě mají významně nižší hladinu komplementu, titer aglutinujících protilátek po imunizaci a menší získanou i přirozenou odolnost vůči infekci *Salmonella paratyphi B*.

3. Krysy krmené vysokobílkovinnou dietou ve srovnání s krysami se středním podílem bílkovin v dietě mají statisticky významně nižší titer aglutinujících protilátek po imunizaci, naznačenou nižší hladinou komplementu (statisticky nevýznamnou) a stejnou přirozenou i získanou odolnost vůči infekci.

4. Zjistili jsme, že tvorba specifických aglutininů je optimální na dietě se středním podílem bílkovin, který je rovněž podmínkou optimálního růstu a odpovídá tak zvanému bílkovinnému optimu.

5. Jsou probírány příčiny snížení tvorby specifických protilátek u organismů krmených vysokobílkovinnou dietou ve vztahu k proteinovým rezervám organismu.

Za technickou spolupráci děkujeme B. Hofmanové a D. Johanovské.

#### *Literatura*

- Berry, L. J., Davis, J., Spies, T. D.: *The relationship between diet and the mechanism for defense against bacterial infections in rats*. J. Lab. Clin. Med. 30 : 684, 1945.
- Bieler, M. M., Echer, E. E., Spies, T. D.: *Serum proteins in hypoproteinemia due to nutritional deficiency*. J. Lab. Clin. Med. 32 : 130, 1947.
- Cannon, P. R.: *Antibodies and the protein reserves*. J. Immunol. 44 : 107, 1942.
- Cannon, P. R., Chase, W. E., Wissler, R. W.: *The relationship of the protein reserves to antibody production. I. The effects of a low protein diet and of plasmaphoresis upon the formation of agglutinins*. J. Immunol. 47 : 133, 1943.
- Cannon, P. R., Wissler, R. W., Woolridge, R. L., Bendit, E. P.: *The relationship of protein deficiency to surgical infection*. Am. Surg. 120 : 514, 1944.
- Cannon, P. R.: *The relationship of protein metabolism to antibody production and resistance to infection*. Advances in Protein Chemistry, New York, 2, 1945.
- Faltová, E., Poupá, O. a Servít, Z.: *Vliv vzájemného poměru glycidů a bílkovin v potravě na křečovou pohotovost u myši*. Fysiol. čs. 4 : 10, 1955.

- Forni, P. V.: *Azoto protidico, accrescimento e resistenza antiinfettiva e antitossi difterica*. Medicina Sperimentale, 23, 1952.
- Guggenheim, K., Buechler, E.: *Nutrition and resistance to infection. Bactericidal properties and phagocytic activity of peritoneal fluid of rats in various states of nutritional deficiency*. J. Immunol., 54 : 349, 1946.
- Guggenheim, K., Buechler, E.: *The effect of quantitative and qualitative protein on the bactericidal properties and phagocytic activity of the peritoneal fluid rats*. J. Immunol. 58 : 133, 1948.
- Klimentova, A. A.: *Vlivanije nedostatočnosti belka v pitaniiji na jestestvennuju ustojčivost krysa k infekcii B. enteritidis Gärtneri*. Trudy AMV SSSR. Voprosy infekcionnoj patologiji i imunologiji. Moskva 1954.
- Krebs, E. G.: *Depression of gamma globulin in hypoproteinemia due to mal nutrition*. J. Lab. Clin. Med. 31 : 85, 1946.
- Lát, J., Faltová, E.: *O činnosti potravového centra. I. Regulace přijímání vody a pevné potrav. II. Regulace přijímání bílkovin, elektrolytů a vody*. Fysiol. čs. 3 : 132, 1954.
- Lát, J., Faltová, E.: *Vliv výživy na vyšší nervovou činnost. I. Vliv různého podílu živočišných bílkovin na vyšší nervovou činnost krysa*. Fysiol. čs. 4 : 171, 1955.
- Metcoff, J., Favour, C. B., Stare, F. J.: *Plasma protein and hemoglobin in the protein deficient rat*. J. Clin. Investigation 24 : 82, 1945.
- Metcoff, J., Darling, D. B., Scanlon, M. H., Stare, J. F.: *Nutritional status and infection response. I. Electroforetic, circulating plasma protein, hematologic, hematopoietic and immunologic response to Salm. tyfi murium. Injection in the protein deficient rat*. J. Lab. Clin. Med. 33 : 1, 1948, 47—67.
- Poupa, O.: *O některých účincích potravy nad jejich fyziologickým optímem*. Referát na plenárním zasedání ČSAV, Praha, duben 1954.
- Robertson, E. C., Doyle, M. E.: *Higher resistance of rats fed casein than those fed vegetable proteins*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 35 : 374, 1936—37.
- Schneider, A. A.: *Nutrition and resistance to infection. The strategic situation. Vitamin and hormones* 4 : 35, 1946.
- Schneider, H. A., Webster, L. T.: *Nutrition of the host and natural resistance to infection. II. The effect of diet on the response of several genotyp of Mus musculus to Sal. enteritidis infection*. J. Exp. Med., 81 : 359, 1945.
- Šterzl, J.: *Imunitní změny u dlouhodobě imunitovaných zvířat*. Referát na pracovní imunologické konferenci v Liblicích 1954.
- Šterzl, J.: *Průkaz a biologické vlastnosti tkáňového prekursoru serových protilátek*. Čs. biologie 4 : 321, 1955.
- Veršilova, P. A.: *Vlivanije belkovej nedostatočnosti v piščevom režime na brucelleznuju infekciju u belych krysa*. Trudy AMV SSSR. Voprosy infekcionnoj patologiji i imunologiji. Moskva 1954.
- Wissler, R. W., Woolridge, R. L., Steffee, C. H.: *Influence of amino acid feeding upon antibody production in protein depleted rats*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 62 : 199, 1946.
- Wissler, R. W., Woolridge, R. L., Steffee, C. H., Cannon, P. R.: *The relationship of the protein reserves to antibody production. II. The influence of protein repletion upon the production of antibody in hypoproteinemic adult white rats*. J. Immunol. 52 : 267, 1946.
- Watson, M.: *Studies on the influence of diet on the resistance to injections II. The effect of various diets on the resistance of mice to bacterial infection*. J. Hyg. 37 : 420, 1937.

## Влияние недостатка или избытка в пище белков на иммунную реакцию. I.

### Кратковременное действие диеты

З. Трка

Резюме

Крысы, получавшие диету с низким содержанием белков, в сравнении с крысами, получавшими в диете средний белковый паёк, отличались значительно более низким уровнем комплемента и титром агглютинирующих антител после иммунизации, а также меньшей естественной и приобретенной устойчивостью по отношению к *Salmonella paratyphi B*. Крысы, получавшие диету с высоким содержанием белков, отличались — в сравнении с крысами со средним содержанием белков в кормах — статистически значимым снижением титра агглютинирующих антител после иммунизации, несколько более (без статистической значимости) низким уровнем комплемента и той же степенью естественной и приобретенной устойчивости по отношению к инфекции. Мы установили, что оптимальное образование специфических агглютининов наблюдается при диете со средним содержанием белков, которая является одновременно условием наиболее благоприятного роста и отвечает т. н. белковому оптимуму. Мы рассмотрели причины снижения способности к образованию специфических антител у организмов, вскармливаемых пищей с высоким или с низким содержанием белка, в связи с вопросом протеиновых резервов в организме.

The Influence of Protein Deficiency and Excess in the Diet  
on Immunity Response. I.

Short-term Administration of Diets

*Z. Trnka*

S u m m a r y

In rats fed on a low protein diet the level of complement is markedly lower as compared with that in rats fed on a diet with a medium protein content. The titre of agglutinating antibodies following immunisation is also much lower and both acquired and natural resistance to *Salmonella paratyphi B* is decreased. In rats fed on a high protein diet, the titre of agglutinating antibodies is (statistically) significantly lower as compared with that in rats on a medium protein diet, the level of the complement is slightly lower (statistically not significant) and natural and acquired resistance to infection is unchanged. It was found that the formation of specific agglutinins is optimal with a medium protein diet, which is also optimal for growth and corresponds to the so-called protein optimum. The causes of the decrease in the formation of specific antibodies in organisms fed on high and low protein diets is discussed in relation to the protein reserves in the organism.

Československá  
M I K R O B I O L O G I E

ročník 1. (1956) — č. 2

Vliv protilátek v kultivačním prostředí na růst *Salmonella paratyphi B*

IVAN ŘÍHA a LUDMILA ŘÍHOVÁ

Československá akademie věd, Biologický ústav, mikrobiologické oddělení, Praha

Ředitel ústavu akademik Ivan Málek

Došlo 28. 9. 1955

Po objevení protilátek, hlavního specifického humorálního faktoru imunity, bylo opakovaně zkoumáno jejich působení na živé bakterie jak v organismu, tak i in vitro. Po objevení baktericidní schopnosti normálního sera byla hledána podobná, ale specifická účinnost i u ser imunních zvířat. Přitom se ukázalo, že baktericidní schopnost mají pouze některá sera, obsahující protilátky proti poměrně malému počtu gramnegativních mikrobů. Zjištěná neschopnost většiny protilátek viditelně ovlivňovat životnost mikrobů na jedné straně a zřetelný baktericidní účinek některých imunních ser na druhé straně se staly důležitými činiteli v boji mečnikovské a humorální teorie protibakterijní imunity.

V pokusech, ve kterých jsme sledovali působení protilátek v organismu, jsme používali jako modelu infekce *Salmonella paratyphi B* a králičího antisalmonellového sera. Abychom znali vztah zkoumaného mikroba a příslušné protilátky, položili jsme si jako první úkol zjistit vliv těchto protilátek na životní pochody a množení *S. paratyphi B*. Proto jsme sledovali růst, virulenci a metabolickou aktivitu kultury *S. paratyphi B* po její opakované kultivaci v tekuté půdě s protilátkami.

*Materiál a metody*

*Antiserum.* V pokusech jsme používali vždy celého králičího sera, získaného smíšením několika ser králiků imunizovaných suspenzí *S. paratyphi B* usmrcenou zahřátím na 70°C po dobu 1 hod. Používali jsme aktivního sera, do doby použití uloženého při -30 °C; jeho aglutinační titr byl 1 : 2560.

*Kultivační půda.* Ke kultivaci jsme používali bujonu s 0,5 % glukosy, s protilátkami v ředění 1 : 50. Za kontrolu sloužil bujon s normálním králičím serem přidaný ve stejném objemu jako imunní serum v pokusech.

*Salmonella paratyphi B.* Výchozí kulturu jsme získali z krevního agaru po pasážování přes bílou myšku. Jednotlivé kultivace jsme přeočkovali vždy po 24 hod. do bujonu s protilátkami a souběžně i kontrolní kultivaci do bujonu s normálním serem; mimo to jsme kulturu vyočkovávali na Endovu půdu a do obyčejného bujonu. Z kultury vyrostlé na Endově půdě jsme připravovali suspenzi mikrobů ve fyziologickém roztoku (2 miliardy/ml) s fosfátovým pufrům o pH 7,1 ke stanovení virulence a metabolické aktivity. Virulenci jsme stanovili na bílých krysách po intraperitoneálním vpravení odstupňovaných dávek suspence *S. paratyphi B* vždy po dvou krysách na každou dávku.

*Metabolickou aktivitu* mikrobů jsme zjišťovali podle spotřeby O<sub>2</sub> manometricky Warburgovou metodou. Hodnoty spotřeby kyslíku jsme zjišťovali po přidání 0,5 ml normálního nebo antisalmonellového sera a 0,5 ml 0,2 M glukosy ke 2 ml suspence bakterií 2 · 10<sup>9</sup>/ml mikrobů v nádobce. Hodnoty jsme odčítali za 1, 2 a 3 hodiny a spotřebu kyslíku přepočítávali na 1 mg sušiny za jednu hodinu.

*Výsledky*

Výchozí kmen *S. paratyphi B* jsme souběžně kultivovali v bujonu s protilátkami a v bujonu s normálním králičím serem. Půda byla rozlita po 5 ml do zkumavek;

přeočkovali jsme vždy po 24 hodinách klíčkovou kulturu, homogenisovanou třepáním, do nové půdy. Současně byla po každé kultivaci kultura přeočkována na Endovu půdu ke zjištění sterility. Fysiologickou aktivitu kultury jsme určovali jednak u výchozího kmene, jednak u mikrobů po 7., 13., 19., 25. a 31. kultivaci v půdě s normálním a antisalmonellovým králičím serem.

Protilátek bylo v půdě dostatečné množství, po 24hodinové kultivaci v půdě s antiserem zůstávaly v bujonu volné protilátky. Protilátky přidané do půdy neovlivňovaly viditelně množení mikrobů. Již v první pasáži rostly mikroby v bujonu s antisalmonellovým serem v hrubě zrnitém sedimentu, zatím co v bujonu s normálním králičím serem rostly zákalem. Po přeočkování na Endovu půdu vyrůstaly mikroby z bujonu s protilátkami v koloniích převážně v R-formě. Tento charakter růstu se udržel i v dalších pasážích. Změna v R-fázi se objevovala i u mikrobů kultivovaných v bujonu s normálním králičím serem, kde se objevovala vedle S-forem řada přechodných stupňů k R-fázi. Po 31. pasáži vyrůstaly mikroby z bujonu s normálním králičím serem na Endově půdě převážně v S-fázi, zatím co v kulturách v bujonu s protilátkami vyrůstaly vedle přechodných a vyslovených R-forem i ojedinělé S-fáze.

U kultur rostoucích v zrnitém sedimentu jsme současně s určením jejich aktivity přeočkovali mikroby na normální bujon, abychom zjistili, zda je růst v sedimentu vázán na přítomnost protilátek. Ukázalo se, že kultura roste v zrnitém sedimentu i za nepřítomnosti protilátek. Mikroby začaly růst zákalem až po 7. až 9. převodu v normálním bujonu.

Virulence (toxicita) mikrobů kultivovaných v protilátkách se podstatně snížila. Výchozí kmen usmrcoval bílou krysou o váze 200 až 250 g v dávce 2 miliardy mikrobů, po 7. kultivaci v protilátkách bylo třeba k zabití krysou 20 miliard mikrobů a tato dávka zůstala zachována bez podstatné změny až do konce pokusu.

Tabulka 1

Převod	Půda		Růst		Virulence	Spotřeba O <sub>2</sub>					
	NKS	APBS	1	2		v APBS			v NKS		
						1 h.	2 h.	3 h.	1 h.	2 h.	3 h.
0	—	—			2	304	418	711	296	397	395
7	+	—	Z		6	233	333	500	186	225	330
	—	+	S	9	20	378	299	130	337	385	106
13	+	—	Z		4	295	373	442	256	359	340
	—	+	S	7	20	370	505	375	310	385	472
19	+	—	Z		2	419	478	560	347	416	403
	—	+	S	7	—	535	765	520	462	508	518
25	+	—	Z		6	346	561	392	275	374	406
	—	+	ZS	8	—	372	552	414	330	490	220
31	+	—	Z		10	420	551	439	283	376	519
	—	+	S	7	20	384	639	406	370	441	422

Převody mikroba *S. paratyphi* B v půdě s protilátkami (APBS) a v půdě s normálním králičím serem (NKS). Vlastnosti mikroba zjišťovány před pokusem a po 7., 13., 19., 25., 31. převodu. Růst udáván jednak přímo v bujonu se serem (1), jednak u kultur s růstem v sedimentu udáván počet kultivací v normálním bujonu nutných k tomu, aby kultura rostla opět zákalem (2): Z - zákal, S - sediment. Virulence zjišťována na bílých krysách, je udávána v miliardách mikrobů. Spotřeba O<sub>2</sub> je vyjádřena v  $\mu$ l na 1 mg sušiny mikrobů za jednu hodinu.

Při určování metabolické aktivity mikrobů mají naše výsledky především hodnotu srovnávací (ve všech pokusech jsme používali stejných ser). Porovnáním aktivity mikrobů výchozí kultury a kultury po 13., 19., 25. a 31. kultivaci lze zjistit, že kultivaci v protilátkách se spotřeba  $O_2$  neutlumovala, naopak proti kulturám z bujony s normálním serem je spotřeba zvýšena.

Přidání imunního sera k suspenzi mikrobů se projevovalo zvýšením spotřeby  $O_2$  ve druhé až třetí hodině po přidání protilátek. Tato reakce na protilátky zůstala zachována po celou dobu převodu kultury v půdě s imunním serem. Odchylně se chovala kultura ze sedmého převodu v protilátkách, kde došlo k poklesu aktivity ve 2. a 3. hodině. Táž kultivace s normálním králičím serem vykazuje prudký pokles aktivity ve 3. hodině. Výsledky jsme shrnuli v tabulce 1.

#### *Diskuse*

Zjištěné výsledky mají význam především v tom, že umožňují při srovnání s dalšími pokusy o působení protilátek v živém organismu názorně si doložit vynikající úlohu organismu při ochranném účinku antibakterijních protilátek.

Sera z imunních zvířat, jak zjistili již Mečnikov v roce 1886 u anthraxu, u streptokoků Denys a Leclef (1895), Bordet (1897) a další, nedovedou zabránit růstu bakterií, i když mohou růst částečně tlumit, a to přes to, že obsahují proti těmto mikrobům protilátky. Výjimku činí protilátky proti některým gramnegativním mikrobům, které sice samy mikroby viditelně nepoškozují, ale které za přítomnosti komplementu bakterie ničí a lysují.

Ve svých pokusech jsme získali obdobné výsledky. Protilátky přidané do půdy nejenže mikroby neničily, ale ani nezabraňovaly jejich růstu. Jediným pozorovaným jevem byla přeměna v R-formu a s tím spojená ztráta virulence. Ovšem tato skutečnost nnesvědčí pro specificky poškozující účinek protilátek, poněvadž k této přeměně dochází za nejrůznějších podmínek nevýhodných pro růst daného mikroba (změna koncentrace solí nebo pH, chudé půdy, vysoká teplota atd.). Možným vysvětlením je, že k této přeměně z S v R-formu dochází vlivem aglutinace mikrobů protilátkami a z toho vznikajícího zhoršení přístupu živin. Tomu by nasvědčovala i práce Oldfeltova (1942), dokazující nepříznivý vliv aglutinace na růst i metabolismus mikrobů.

Pozorované zvýšení metabolické aktivity po přidání protilátek ve 2. až 3. hodině odpovídá výsledkům získaným Follisem a Burnetem (1950). Sevag a Miller (1948) a řada dalších pracovníků nepozorovali zvýšení spotřeby  $O_2$ , Jeney a Váczi (1940) dokonce zaznamenali v prvních 90 min. pokles spotřeby  $O_2$  u ser bez bakteriolytického účinku. Zvýšení metabolické aktivity po přidání protilátek *S. paratyphi* B jak u výchozího kmene, tak i po 31. převodu je dokladem toho, že pod účinkem protilátek nedošlo ke specifickému poškození některých enzymatických pochodů bakterií. V tom případě by se takové poškození musilo projevit změnou metabolické reakce na přítomnost protilátek u mikrobů převáděných v půdě s obsahem imunního sera.

Pozorovaný účinek antisalmonellového sera na kulturu *S. paratyphi* B za podmínek použitých v našem pokuse je nepatrný ve srovnání s účinkem, který má toto serum v živém organismu. Tak bílou myš chrání dávka 0,003 ml téhož sera proti 60 milionům mikrobů, t. j. proti 5 až 10 minimálním smrtelným dávkám. Již z tohoto rozdílu mezi účinkem ve zkumavce a v živém organismu je vidět, jak vynikající úlohu hrají při zneškodnění a odstranění mikrobů obranné pochody probíhající v organismu. Proto studium mechanismu působení protilátek neznamená jen sledovat vlastní vazbu antigenu a protilátky, ale znamená i zjišťovat změny reakce organismu na antigen za přítomnosti protilátek.

### Souhrn

V pokuse jsme sledovali vliv králíčích antisalmonellových protilátek přítomných v kultivační půdě na růst, metabolickou aktivitu a virulenci *Salmonella paratyphi* B. Za podmínek použitých v našich pokusech nedošlo ani po 31. pasáži v půdě s protilátkami k zábraně růstu mikroba, ani ke změně metabolické aktivity. Pokles virulence se objevoval současně s objevením R-fáze mikroba.

Přidání protilátek k suspensi *S. paratyphi* B zvyšovalo metabolickou aktivitu zjišťovanou podle spotřeby O<sub>2</sub>; tato reakce nebyla opětovnou kultivací za přítomnosti protilátek potlačena.

Za technickou spolupráci děkujeme L. Jiroutové.

### L i t e r a t u r a

- Bordet, J.: *Contribution à l'étude du sérum antistreptococcique*. Ann. Inst. Pasteur, 11 : 176, 1897.  
Denys, F., Leclaf, J.: *Sur le mécanisme de l'immunité chez le lapin vacciné contre le streptocoque pyogène*. La Cellule, 11 : 175, 1895.  
Follis, R. H., Burnett, J. M.: *Effect of specific antibody on the metabolism of Serratia marcescens*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 75 : 206, 1950.  
Jeney, A., Váczi, L.: *Die Wirkung des spezifischen Immunserrums auf das Elektropotential und den Sauerstoffverbrauch der Coli- und Proteus-Bakterienstämme*. Zschr. Immunitätsforsch., 98 : 442, 1940.  
Mečnikov, I. I.: *Oslabení bakteridií sněží slezinně v krvi imunních beranů*. Sborník: Otázky imunity, Praha 1955 (str. 45).  
Oldfelt, C. O.: *Oxygen consumption and growth and the effect of immune and normal sera*. Acta Med. Scand. Suppl. 132, 1942.  
Sevag, M. G., Miller, R. E.: *Studies on the effect of immune reactions on the metabolism of bacteria*. J. Bact., 55 : 381, 1948.

### Влияние присутствия антител в культивационной среде на рост *Salmonella paratyphi* B

И. Ржигца и Л. Ржигова

### Резюме

В своих опытах мы исследовали влияние присутствия в культивационной среде кроличьих антисалмонеллезных антител на рост, метаболическую активность и вирулентность *Salmonella paratyphi* B. В условиях наших опытов даже после 31 пассажа в среде, содержащей антитела, не наблюдались ни угнетение роста микроба, ни изменения его метаболической активности. Снижение вирулентности отмечалось одновременно с началом R-фазы микроба.

Прибавление антител к суспензии *Salmonella paratyphi* B повышало ее метаболическую активность, что отражалось на потреблении O<sub>2</sub>. Эта реакция не угнеталась в результате пассажирования в антителах.

### The Influence of Antibodies in the Culture Medium on the Growth of *Salmonella paratyphi* B

I. Řiha and L. Řihová

### Summary

An experimental study was made of the influence of rabbit anti-*Salmonella* antibodies, present in the culture medium, on the growth, metabolic activity and virulence of *Salmonella paratyphi* B. Under the conditions provided in these experiments there was no check in the growth of the micro-organism, nor any change in metabolic activity, even after 31 passages on the medium. A decrease in virulence appeared at the same time as the R-phase of the micro-organism.

The addition of antibodies to a suspension of *Salmonella paratyphi* B increased the metabolic activity ascertained according to the consumption of O<sub>2</sub>. Passaging in antibodies did not bring about suppression of this reaction.



Československá  
M I K R O B I O L O G I E

ročník 1. (1956) — č. 2

Spolurace bacilů. II.\*)

Proteolytické enzymy v procesu sporulace u *Bacillus megatherium*

VLADIMÍR VINTER

Československá akademie věd, Biologický ústav, mikrobiologické oddělení, Praha

Ředitel ústavu akademik Ivan Málek

Došlo 21. 9. 1955

Přechod vegetativní buňky bacilů do klidové formy, spory, je provázen řadou biochemických změn, jejichž analysou můžeme pochopit hlubší fyziologické zákonitosti tohoto procesu. Jednou z takových změn je prudký pokles proteolytické aktivity v mediu, který nastupuje v době logaritmické fáze procesu sporulace. S poklesem proteolytické aktivity jsme se po prvé setkali při studiu sporulace *Bacillus pumilus* (Málek a j. 1953). Později jsme použili jako modelu kmene *Bacillus megatherium*, který je výhodnější vzhledem ke krátkosti svých řetízků a tedy k snadnějšímu výpočtu procenta spor.

Příčin poklesu proteolytické aktivity může být mnoho. Zjišťovali jsme, zda buňky nevyučují v průběhu sporulace nějakou látku, která by mohla enzymy inhibovat. Vyzkoušeli jsme též vliv přidání cysteinu do kultury před sporulací na pokles proteolytické aktivity.

*Materiál a metody*

*Kultura a příprava inokula.* Použili jsme kmene *Bacillus megatherium* ze sbírek Biologického ústavu ČSAV, který na půdě s kaseinovým hydrolysátem vytvářel krátké řetízky. Při přípravě inokula jsme vycházeli z kultur narostlých na půdě ztužené agarem. Pro přípravu suspence spor k očkování jsme použili stejné půdy a stejné kultivační metody, jak je uvedeno níže. Během 13.—18. hodiny kultivační docházelo k vysporulování kultury a během dalších asi 15 hodin k úplnému uvolnění spor z buněk. Jednotlivé baňky v pokusech jsme pak očkovali takto získanou suspensí spor, která byla uchovávána při 5 °C.

*Živná půda.* Použili jsme půdy, která obsahovala 0,3 % kaseinového hydrolysátu (Amigen), 0,1 % glukosy a směs solí o několika důležitých iontech. pH půdy jsme upravili na 7,2.

*Kultivace.* Kultivovali jsme ve 100 ml půdy v 500 ml baňkách. Živnou půdu jsme inokulovali 3,0 ml suspence spor. Baňky jsme umístili na třepačce (96 kmitů/min., výkyv 9,8 cm) při 27 °C.

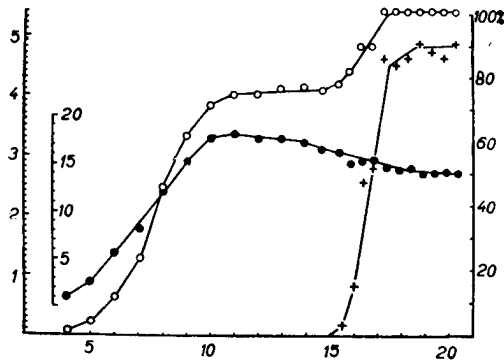
*Stanovení procenta spor.* Procento spor jsme zjišťovali přímým mikroskopickým pozorováním a počítáním jako v dřívější práci (Vinter 1955).

*Stanovení stupně zákalu.* Stupeň zákalu kultury jsme zjišťovali proto, abychom mohli při hodnocení proteolytické aktivity vztáhnout získané hodnoty na jednotku zákalu. Na obr. 1 uvádíme průběh křivky zákalu během růstu i sporulace kultury. Zákal byl měřen u neředěné kultury při filtru 370 m $\mu$  proti čirému supernatantu. Je připojena též křivka množství buněk, které jsme zjišťovali centrifugací vzorku kultury v kyvetě s kapilárou 10 minut při 3000 obr./min. Během sporulace dochází k význačnému zvýšení density, při čemž množství buněk zůstává stejné nebo se dokonce vlivem autolysy zmenšuje. Je zřejmé, že zvýšení optické density souvisí s vytvářením spor v buňkách a proto jsme proteolytickou

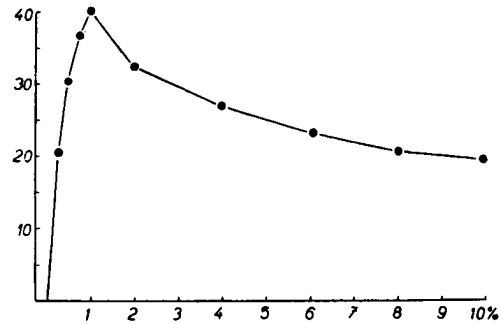
\*) Tato práce navazuje jako druhé sdělení na práci Málek, I.: Sporulace bacilů. Čs. biologie 2:323, 1953

aktivitu vztahovali během sporulace na prvou prodlevu křivky zákalu, která vyjadřuje maximum vegetativního růstu. Při znalosti hodnot obou prodlev křivky je možno podle zákalu v mezidobí usuzovat na přibližné procento spor v kultuře v daném okamžiku.

*Stanovení proteolytické aktivity.* Odebrané vzorky jsme centrifugovali a proteolytickou aktivitu (PA) zjišťovali v supernatantu. Jako substrátu jsme použili 1% roztoku kaseinu, protože enzym na něm vykazoval nejvyšší aktivitu (obr. 2). Pro vlastní stanovení intenzity proteolysy jsme použili biuretově a Ansonovy metody.



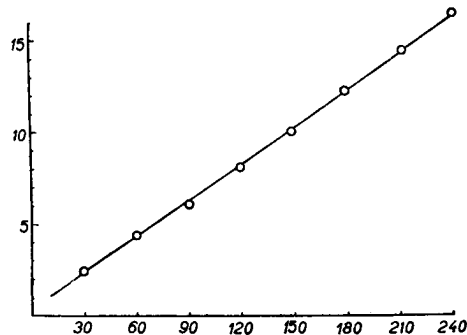
Obr. 1. Křivka zákalu, relativního objemu buněk a procenta spor v průběhu kultivace *B. megatherium*. Na ose  $x$  - stáří kultury v hodinách, na ose  $y$  - vlevo - optická hustota x 10 (o—o—o), vpravo - % spor v kultuře (+ — — — + — — —), uvnitř grafu - výška sedimentu po centrifugování kultury v mm (• — — — • — — —).



Obr. 2. Vliv koncentrace substrátu na rychlost proteolysy. Na ose  $x$  - koncentrace kaseinového substrátu v %, na ose  $y$  - aktivita enzymu, vyjádřená v  $\alpha \cdot 10^{-4}$  miliekvivalentů uvolněného tyrosinu.



Obr. 3. Vliv pH kaseinového substrátu na aktivitu enzymu. Na ose  $x$  - pH 1% kaseinového substrátu, na ose  $y$  - proteolytická aktivita vyjádřená v  $\alpha \cdot 10^{-4}$  miliekvivalentů tyrosinu.



Obr. 4. Stabilita enzymu při 37°C. Na ose  $x$  - délka inkubace v min., na ose  $y$  - PA, vyjádřená v  $\alpha \cdot 10^{-3}$  miliekvivalentů tyrosinu. Enzym u déletrvajících inkubací byl patřičně ředěn.

Biuretová metoda. Základem byla metodika popsaná Slavíkem a Smetanou (1953) upravená podle Chaloupky (1955). Biuretové reakce jsme použili pro pokusy, kde jsme zjišťovali průběh PA při kultivaci *B. megatherium*, její závislost na procentu spor a pro pokusy s cysteinem.

Ansonovy metody jsme používali v úpravě Chaloupkové (1955).

*Optimální pH proteolytických enzymů B. megatherium.* Závislost aktivity enzymu na pH substrátu je vyznačena na obr. 3. Nejvyšší aktivitu vykazuje enzym při pH kolem 7,0. Optimální pH enzymu v daném mediu jsme zjišťovali tak, že jsme jak supernatant ze 7. hodiny kultivace, tak 2 % kaseinový roztok smísili se stejným objemem Michaelisova veronalacetátového ústoje (pH 4,1—8,4) nebo borátového

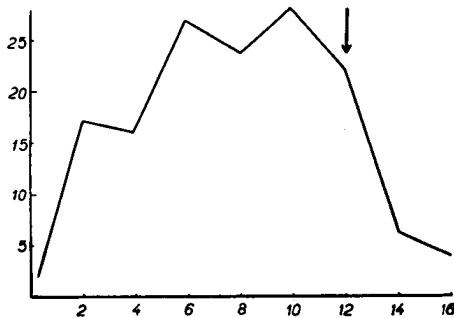
ústoje pro pH vyšší (Haně 1951). Po smísení enzymu a substrátu jsme stanovili pH směsi elektronkovým pH-metrem, paralelní vzorky inkubovali při 37°C a stanovili pak proteolytickou aktivitu. Ve všech pokusech v této práci jsme používali substrátu o pH 7,0.

*Inkubační teplota.* Inkubovali jsme vždy při teplotě 37°C ve vodní lázni. Při této teplotě a výše uvedeném složení media zachovává enzym plně svou aktivitu po dobu nejméně čtyř hodin (obr. 4). Délka inkubace, pokud není označeno jinak, byla 60 minut.

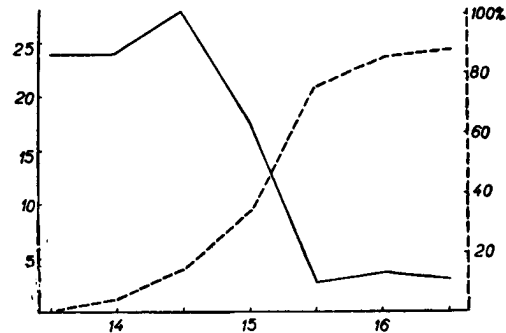
### Výsledky

#### Průběh proteolytické aktivity při sporulaci *B. megatherium*

Proteolytická aktivita klesá během sporulace *B. megatherium* velmi rychle na nepatrnou hodnotu (obr. 5). Křivka poklesu je nejstrmější v době logaritmické fáze procesu sporulace (obr. 6).



Obr. 5. Relativní proteolytická aktivita v průběhu kultivace *B. megatherium*. Na ose  $x$  - stáří kultury v hodinách, na ose  $y$  - počet mg natráveného kaseinu na jednotku zákalu. Začátek sporulace označen šipkou.



Obr. 6. Relativní proteolytická aktivita během sporulace kultury. Na ose  $x$  - stáří kultury v hodinách, na ose  $y$  - vlevo - mg natráveného kaseinu na jednotku zákalu (—————), vpravo - % spor v kultuře (-----).

#### Sledování inhibice proteolytické aktivity v průběhu sporulace.

Při pokusech jsme uvažovali o možnosti, že před sporulací nebo na začátku tohoto procesu by mohly buňky vyloučit takové množství inhibitoru, které může potlačit proteolytickou aktivitu. V tom případě by měla PA samotného, třepaného i v klidu chovaného supernatantu z této doby i u kultury klesnout po určité době stejně. Postupovali jsme takto: sterilně jsme odebírali z kultivačních baněk dvě třetiny obsahu, které jsme centrifugovali a zbytek kultury jsme ponechali v baňce na třepačce. Polovinu supernatantu jsme dali do sterilní baňky stejné velikosti a umístili na třepačce, druhou polovinu pak ponechali při 27°C v klidu. U všech tří paralelních vzorků jsme zjistili proteolytickou aktivitu ihned a po třech hodinách. Tohoto postupu jsme použili jak u kultury před sporulací tak v průběhu sporulace. O postupu sporulace jsme se přesvědčovali počítáním procenta spor v kultuře při odběru (tab. 1). Jestliže jsme takto postupovali u kultury před sporulací (asi 12. až 12,5. hodinu kultivace), zjistili jsme, že PA v kultuře klesla po třech hodinách na nepatrnou hodnotu jako obvykle, u supernatantu z třepačky klesla jen mírně, nebo se dokonce zvýšila a u supernatantu v klidu se zřetelně zvýšila. U odběru ze začátku sporulace (přibližně do 10% spor) probíhal pokles u kultury normálně, u supernatantu došlo většinou jak na třepačce, tak v klidu k mírnému poklesu. U baněk, kde proces sporu-

lace začal přecházet do logaritmické fáze, zvětšoval se postupně rozdíl mezi inaktivací supernatantu uchovávaného v klidu a supernatantu třepaného. I když se hodnoty od sebe u jednotlivých baněk značně lišily, je tato celková tendence zřejmá.

Tabulka 1. Vlastnosti supernatantu odebraného před sporulací a během tohoto procesu. Všechny vzorky byly inkubovány 30 min. Proteolytická aktivita je vyjádřena v  $a \cdot 10^{-4}$  miliekvivalentů tyrosinu, hodnoty ve sloupci „po 3 hodinách“ vyjadřují v procentech pokles nebo zvýšení PA. Za hodnotu 100 % jsme považovali PA supernatantu ihned po odběru

% spor v kultuře v okamžiku odběru	Proteolytická aktivita ihned po odběru	Po 3 hodinách		
		supernatant v klidu	supernatant na třepačce při 27°C	kultura
Před sporulací (stáří kultury 12 hodin)	92,00	+ 14,68	— 17,00	— 98,37
Před sporulací (stáří kultury 12 $\frac{1}{2}$ hodiny)	94,50	+ 28,20	+ 10,10	— 98,42
3,5	97,00	— 26,30	— 28,90	— 99,13
4,2	128,00	— 11,70	— 21,50	— 99,34
4,5	130,00	— 23,10	— 27,00	— 99,39
5,0	115,00	— 8,70	— 20,90	— 99,44
7,8	76,00	0	— 5,29	— 98,95
9,4	71,50	— 4,20	— 13,30	— 99,17
12,2	91,00	— 4,94	— 30,77	— 98,69
14,5	89,00	— 16,86	— 47,75	— 98,32
29,2	22,65	+ 2,70	— 20,51	— 98,02
29,5	82,50	— 12,74	— 16,40	— 99,04
48,7	5,75	0	— 47,83	— 98,61
48,9	31,35	+ 5,40	— 86,43	— 97,29

Možnost produkce inhibitorů proteas jsme si ověřili ještě druhým způsobem. Ředili jsme supernatantem odebraným v průběhu sporulace supernatant z kultury staré 6,5 až 9 hodin, o němž jsme se předem přesvědčili, že se jeho proteolytická aktivita po třech hodinách v klidu při 27°C nemění. Oba supernatanty jsme ředili stejným objemem vody a součet zjištěné proteolytické aktivity obou vzorků jsme

Tabulka 2. Stanovení přítomnosti volného inhibitoru v supernatantu ze sporující kultury. Tento supernatant je v tabulce označen jako „inhibitor“. Jako „enzymu“ bylo použito supernatantu z různě staré kultury. PA je vyjádřena v miliekvivalentech uvolněného tyrosinu  $\cdot 10^{-4}$ . Délka inkubace 30 min. Horní hodnoty vyjadřují aktivitu ihned po smíšení, spodní po třech hodinách stání při 27°C

% spor v kultuře v okamžiku odebrání supernatantu („inhibitor“)	Stáří kultury, ze které byl odebrán supernatant s proteolytickou aktivitou („enzym“)	Proteolytická aktivita		
		„enzym“ ředěný stejným objemem vody	„inhibitor“ ředěný stejným objemem vody	směs stejných objemů „enzymu“ a „inhibitoru“ <sup>68</sup>
62,8 %	9 hod.	44,00	1,35	47,00
65,9 %	7 $\frac{1}{2}$ hod.	40,00	2,05	42,25
		29,75	2,20	34,60
70,6 %	9 hod.	27,10	2,05	29,00
		40,75	1,65	43,60
		36,25	1,70	39,40

porovnávali s aktivitou směsi stejných objemů obou supernatantů. Pro odběr kultivační tekutiny z průběhu sporulace jsme volili ten okamžik, kdy již její proteolytická aktivita byla velmi nízká. Kdyby v tomto supernatantu byl přítomen inhibitor v dosud účinné formě, pak by výsledkem vzájemné reakce mezi ním a aktivním enzymem byl pokles aktivity směsi. Ve skutečnosti nedocházelo po smíšení k poklesu aktivity, ale naopak většinou k nepatrnému zvýšení, které se po třech hodinách interakce při 27 °C vyrovnalo (tab. 2).

Z výsledků můžeme udělat tento závěr: pokles proteolytické aktivity v průběhu sporulace není zřejmě způsoben přítomností volného účinného inhibitoru v kultivačním mediu. V přítomnosti buněk dochází k podstatně rychlejšímu snížení proteolytické aktivity než u supernatantu třepaného nebo chovaného v klidu.

#### Vliv přidání cysteinu do kultury před sporulací

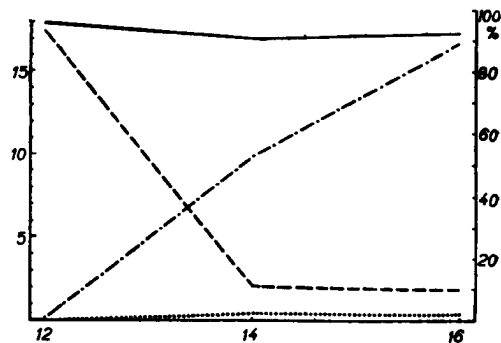
Do baňky s obsahem 90,0 ml kultivačního media jsme po dvanácté hodině kultivace přidávali 10,0 ml 0,01 M roztoku l-cysteinu (pH 7,0), takže konečná koncentrace cysteinu v baňce byla 0,001 M. Proteolytická aktivita byla stanovena ihned po

Tabulka 3. Vliv přidání cysteinu do kultury před sporulací na proteolytickou aktivitu a sporulaci *B. megatherium*. Konečná koncentrace cysteinu v baňce byla  $1 \cdot 10^{-3}$ M. PA je průměrem ze dvou baněk a je vyjádřena v mg natráveného kaseinu

	12. hodina (ihned po smíšení)		14. hodina		16. hodina	
	PA	sporulace	PA	sporulace	PA	sporulace
Kontrola (přidáno 10,0 ml vody)	20,40	0	2,60	53,1 %	2,50	89,3 %
Vzorek (přidán roztok cysteinu)	19,30	0	17,00	0	16,50	0

smíšení a dále po druhé a čtvrté hodině třepání. Do kontrolních baněk jsme přidávali 10,0 ml destilované vody a stanovení provedli jako u vzorků. V uvede-

Obr. 7. Vliv přidání cysteinu do kultury před sporulací na proteolytickou aktivitu a sporulaci *B. megatherium* (koncentrace cysteinu  $1 \cdot 10^{-4}$ M). Na ose *x* - stáří kultury v hodinách, na ose *y* - vlevo - mg natráveného kaseinu (baňky s vodou ———, baňky s cysteinem ———), vpravo — % spor v kultuře (baňky s vodou ———, baňky s cysteinem.....). Hodnoty představují průměr ze dvou baněk.



ných intervalech byl též mikroskopicky kontrolován stav buněk v kultuře. Zatím co u kontrolních baněk, kam byla přidána voda, došlo k obvyklému poklesu PA a k normálnímu vysporulování, u baněk s cysteinem k poklesu proteolytické aktivity nedošlo a během čtyř hodin se spory nevytvořily (tab. 3).

Podobných výsledků jsme dosáhli po přidání cysteinu desetkrát zředěného, kdy jeho konečná koncentrace v kultuře po smíšení byla 0,0001 M (obr. 7). Jediným rozdílem bylo, že se během dvou hodin vytvořilo asi 2 % spor; jejich počet do čtvrté hodiny nevzrostl.

Roztokem l-cysteinu jsme ovlivňovali též samotný supernatant z různého stáří kultury. V tabulce 4 jsou uvedeny hodnoty PA supernatantů ze 7., 13. a 14,5. hodiny kultivace ihned po přidání vody, resp. roztoku cysteinu o různé koncentraci. Tabulka 4 ukazuje, že u supernatantu odebraného během vegetativního růstu kultury cystein aktivitu pouze nepatrně snížil, u supernatantu po poklesu proteolytické aktivity zůstaly hodnoty pod hranicí přesné měřitelnosti.

Tabulka 4. Vliv přidání cysteinu na proteolytickou aktivitu supernatantu ze 7., 13. a 14,5. hodiny kultivace. PA je vyjádřena v mg natráveného kaseinu za 1 hodinu, hodnoty v závorce vyjadřují PA supernatantu při ředění vodou.

Stáří kultury, ze které byl supernatant odebrán	Proteolytická aktivita supernatantu s různou koncentrací cysteinu		
	$5 \times 10^{-3}$	$3 \times 10^{-3}$	$1 \times 10^{-3}$
7 hod.	13,70 (14,90)	14,70 (15,00)	15,00 (15,20)
13 hod.	8,90 (10,50)	10,00 (11,10)	10,36 (10,50)
14 $\frac{1}{2}$ hod. (65 % spor)	1,20 (0,90)	—	1,20 (0,80)

Cystein jsme též přidávali do supernatantu odebraného v průběhu sporulačního procesu a zjišťovali jeho vliv při dalším třepání. Supernatant z celé baňky jsme rozdělili na dvě poloviny do 500 ml baněk (po 40 ml), do jedné přidali cystein a do druhé destilovanou vodu. Proteolytickou aktivitu jsme stanovili ihned a po určité době třepání. Supernatanty jsme ředili tak, aby konečná koncentrace cysteinu v nich byla  $1 \cdot 10^{-4}$  M (tab. 5). Výsledky ukazují, že pokles proteolytické aktivity během třepání je u směsi s cysteinem i u kontrol s vodou téměř shodný a že cystein zde neuplatňuje svůj „ochranný“ vliv.

Tabulka 5. Vliv cysteinu ( $1 \cdot 10^{-4}$  M) na snížení aktivity supernatantu odebraného během sporulace a třepáního při 27 °C. Další vysvětlení v textu.

Procento sporulace	Doba třepání v hod.	Proteolytická aktivita v mg kaseinu natráveného za 1 hodinu			
		ihned po smísení		po skončení třepání	
		voda	cystein	voda	cystein
11,5	6	37,00	36,80	28,00	29,50
13,8	6	52,00	51,00	34,80	34,00
42,0	3	16,70	17,70	3,00	5,60

#### Diskuse

O možnosti produkce inhibitoru proteolytických enzymů při sporulaci jsme uvažovali již proto, že značné biochemické změny buněk při sporulaci včetně nastupující autolysy mohou souviset s uvolňováním řady látek do prostředí. Na příklad ribonukleová kyselina, o které je známo, že nevstupuje všechna do tvořící se spory a při autolyse sporangí může přejít do media, má možná schopnost vázat se s proteolytickými enzymy a inaktivovat je. Tato schopnost ribonukleové kyseliny byla na jiném materiálu již popsána (Slavík a Smetana 1953, Šorm a Hrušešová 1955).

Rychlejší pokles proteolytické aktivity při třepání v kultuře dokazuje, že buňky se zúčastní snižování proteolytické aktivity. Nelze zatím říci, v čem spočívá podstata účinku cysteinu. Přesnější závěry budeme moci učinit až po vyjasnění toho, zda účinek cysteinu je specifický.

V řešení otázky poklesu proteolytické aktivity při sporulaci budeme dále pokračovat, protože je jednou z cest, jak pochopit biochemické změny provázející tvorbu spor.

#### *Souhrn*

1. V průběhu sporulace *Bacillus megatherium* dochází k prudkému poklesu proteolytické aktivity v mediu na nepatrnou hodnotu.
2. V průběhu sporulace ani před ní nelze dokázat v mediu volný inhibitor těchto enzymů.
3. V přítomnosti sporulujících buněk dochází k podstatně rychlejšímu snížení proteolytické aktivity než u samotného supernatantu chovaného v klidu nebo na třepačce.
4. Přidání cysteinu do kultury před sporulací (koncentrace  $1 \cdot 10^{-4}$  M) úplně zabrání poklesu proteolytické aktivity, naruší však schopnost buněk sporulovat.
5.  $1 \cdot 10^{-4}$  M koncentrace cysteinu nezabrání poklesu proteolytické aktivity supernatantu odebraného v době pokročilé sporulace a třepaného na třepačce při 27 °C.

#### Literatura

- Anson, M. L.: *Estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin*. J. Gen. Physiol. 22 : 79, 1938.
- Hanč, O.: *Chemická laboratorní příručka*. Praha 1951.
- Chaloupka, J.: *Proteolytické enzymy aktinomycety Streptomyces griseus*. Čs. biologie 4 : 206, 1955.
- Málek, I.: *Sporulace bacilů*. Čs. biologie 2 : 323, 1953.
- Slavík, K., Smetana, R.: *Stanovení aktivity proteolytických enzymů biuretovou reakcí*. Chem. listy 46 : 649, 1952.
- Slavík, K., Smetana, R.: *O vlivu nukleinových kyselin na proteínasy*. Chem. listy 47 : 253, 1953.
- Šorm, F., Hrubešová, M.: *O bílkovinách XXX. Inhibice pankreatických proteás pankreatickou ribonukleovou kyselinou*. Chem. listy 49 : 115, 1955.
- Vinter V.: *Nerovnocennost buněk Bacillus megatherium v průběhu sporulace*. Čs. biologie 4 : 294, 1955.

#### Спорообразование бацилл

##### II. Протеолитические энзимы в процессе спорообразования у *Bacillus megatherium*

*B. Vinter*

Резюме

В процессе спорообразования *Bacillus megatherium* наблюдается резкое, — вплоть до весьма незначительных величин, — снижение протеолитической активности среды.

Ни в ходе спорообразования, ни до него невозможно бывает доказать присутствие в среде свободного ингибитора этих энзимов.

При наличии спорообразующих клеток наблюдается гораздо более быстрое снижение протеолитической активности, чем в одной только жидкости над осадком, как отстаивающейся в покое, так и на качалке.

Прибавление к культуре до спорообразования цистеина в концентрации  $1 \cdot 10^{-4}$  M совершенно останавливает снижение протеолитической активности, но в то же время нарушает и способность клеток к спорообразованию.

Концентрация цистеина  $1 \cdot 10^{-4}$  M не препятствует снижению протеолитической активности супернатантной жидкости, взятой в период полного развития процесса спорообразования и встряхиваемой на качалке при 27 °C.

#### Sporulation of Bacilli

##### II. Proteolytic Enzymes in the Process of Sporulation of *Bacillus megatherium*

*V. Vinter*

Summary

During the sporulation of *Bacillus megatherium* a sharp fall in the proteolytic activity in the medium occurs down to insignificant values.

Neither prior to nor during sporulation is it possible to demonstrate the presence of free inhibitors of these enzymes in the medium.

A definitely more rapid fall in proteolytic activity occurs in the presence of sporulating cells than in the supernatant alone cultured either at rest or on continuous shaking.

The addition of cysteine to the culture before sporulation (conc.  $1 \cdot 10^{-4}$  M) completely prevents the fall in proteolytic activity; however, it abolishes the ability of the cells to sporulate.

A concentration of  $1 \cdot 10^{-4}$  M of cysteine does not prevent the fall in proteolytic activity of the supernatant collected at the stage of advanced sporulation and subjected to continuous shaking at 27 °C.

Československá  
M I K R O B I O L O G I E

ročník 1. (1956) — č. 2

Vztah metafosfátu k tvorbě volutinu u kvasinek  
Elektroforetické rozdělení fosforylovaných produktů označených P<sup>32</sup>

JIRÍ STÁRKA a JAN ZÁVADA

Karlova universita, biologická fakulta, oddělení obecné mikrobiologie, Praha

Došlo 22. 9. 1955

Chemická povaha i biologická funkce volutinu známého u bakterií, hub a řas, nazývaného též u různých mikroorganismů četnými synonymy (polární granula, Neisserova tělíska, Babes-Ernstova granula, metachromatin, metachromatická granula a j.), je stále předmětem četných studií a rozporů a nelze ji pokládat za zcela objasněnou.

Meyer (1904), který volutin po prvé popsal, se domníval, že obsahuje nukleovou kyselinu, Schumacher (1922, 1926) jej pokládal přímo za volnou nukleovou kyselinu na základě reakce s methylenovou modří a fosfinem. Nukleové kyseliny jsou skutečně snadno extrahovány z kvasinek, obsahujících volutin, nikoli však z buněk bez volutinu (Van Herwenden 1918). Brandt (1941) a Caspersson a Brandt (1941) odlišují volutin (t. j. granula obsahující ribonukleovou kyselinu) jako látku vyskytující se jen v cytoplasmě od metachromatinu, který je v cytoplasmě i ve vakuole. Volutin absorbuje ultrafialové paprsky s maximem v pásmu 2.650 až 2.750 Å; ve vakuolách je jen nepatrně nebo žádný materiál s takovouto absorpcí. Metachromatin je podle těchto autorů polyosulfát. Belozerskij (1945) extrahoval ze *Spirillum volutans* ribonukleovou kyselinu s vyšším obsahem fosforu a uzavírá, že volutin obsahuje jako složku ribonukleovou kyselinu. Nový pohled na problém volutinu přineslo zjištění, že metachromasie je vylučně působena metafosfátem (Wiame 1947b), již dříve známým u hub (Mann 1944a, b) a řas (Sommer a Booth 1938). Metafosfát byl stanoven diferenciální hydrolysou v kvasinkách a bakteriích obsahujících volutin (Schmidt a sp. 1946, Juni a sp. 1948, Ebel 1949) a nedávno byl identifikován jako cyklický trimetafosfát, vyskytující se současně s lineárním tripolyfosfátem (Kornberg a Kornberg 1954). Jejich chromatografické oddělení popsali Ebel a Volmar (1951). Metachromatický efekt vytváří metafosfát rovněž u plísní (Damle a Krishnan 1954). Metafosfát představuje 25 % veškerého fosforu u kvasinek (Ebel 1949), jeho polymér je enzymaticky štěpitelný (Malmgren 1952). Wiame (1946a, 1946b, 1947a) proto uzavírá, že volutin je totožný s metafosfátem.

Řada prací je věnována analýze vnějších faktorů, ovlivňujících vznik volutinových granulí; většinou se shodují ve zjištění těsného vztahu metafosfátu a volutinových metachromatických granulí. Fysiologické okyselování media a nerovnováha ve výživě ovlivňují nahromadění volutinu v buňkách bakterií (Duguid a sp. 1954, Smith a sp. 1954). Podmínkou pro tvorbu metafosfátu a současně volutinu u kvasinek je přítomnost orthofosfátu v živném mediu (Schmidt a sp. 1946, 1949, Juni a sp. 1948).

Při sledování vztahu mezi tvorbou volutinových granulí, přítomností metafosfátu a dalšími biosyntetickými procesy, při nichž fosfor hraje určitou úlohu, jsme nejdříve věnovali pozornost výběru metodiky, která by dovolovala zachytit a rozdělit s nejvyšší možnou citlivostí fosforylované produkty. Protože izolace produktů popsaná na příklad Schmidtem a sp. (1946) vyžaduje velké množství výchozího materiálu a je zdoluhavá, použili jsme elektroforesy na papíře a detekce pomocí radioisotopu P<sup>32</sup>. V tomto sdělení podáváme zprávu o úpravě této metodiky a o výsledcích dosažených její aplikací.

*Materiál a metody*

*Kultivace.* Při sestavení kultivačních pokusů jsme vyšli z pozorování Jeenerových a Brachetových (1943) i Schmidtových a sp. (1946), kteří shledali, že absorpce anorganického fosforu z prostředí je silně zvýšena, je-li před inkubací na půdě bohaté na fosfor kvasinka pěstována na mediu bez fosforu. Jako



pokusný materiál jsme zvolili čerstvé pekařské kvasnice. K inkubaci jsme užili jednak živného roztoku bez fosfátu o složení: glukosa 1 %,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0,5 %, KCl 0,07 %,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  0,035 % v 0,05 M jantaranovém pufru o pH = 5,2, jednak roztoku s fosfátem, v němž byl jantaranový pufr nahrazen 0,1 M fosfátovým pufrům o pH = 5,2 a ostatní sole zůstaly beze změny. Roztoky jsme rozdělili po 100 ml do varných baněk s rovným dnem o obsahu 500 ml a inkubovali na třepacím stroji při 92 kyvech za minutu a délce kyvu 9 cm při teplotě  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ . Každou baňku jsme zaočkovali 2 g lisovaných kvasnic. Fosfátový pufr obsahoval  $\text{P}^{32}$  a byl připraven tak, aby vykazoval aktivitu přibližně  $7 \mu\text{Ci}$  v 1 ml. V určitých případech jsme též použili fosfátového živného roztoku, doplněného  $\text{S}^{35}$  ve formě síranu, aby mohly být označeny frakce obsahující síru, především bílkoviny. Aktivitu jsme měřili nukleárním počítacem Tesla  $\beta$  trubici a vypočítávali srovnáním s původním preparátem  $\text{P}^{32}$  ve formě  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , resp.  $\text{S}^{35}$  jako  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .

*Barvení volutinu.* Metachromatická granula jsme barvili obvyklým způsobem jednak metachromatickou methylenovou modří, jednak podle Alberta (Mackie a Mc Cartney 1950).

*Elektroforetické dělení* jsme prováděli na papíře Whatman č. 4 při napětí 4,1 V/cm jednak v 0,1 M veronalovém pufru při pH = 8,5, jednak v 0,1 M borátovém pufru rovněž při pH = 8,5. Papír byl dlouhý 48 cm a oba konce byly ponořeny 2 cm v nádobkách s pufrům. Vzorek jsme nanášeli blíže ke katodě obvykle ve formě homogenátu, připraveného roztíráním se skleněným prachem v porcelánové misce bez další úpravy přímo na papír v množství asi  $5 \mu\text{l}/1 \text{ cm}$  startu. Teplota při přípravě vzorku a během elektroforezy, která trvala asi 12 hodin, nepřesáhla zpravidla  $+4^\circ\text{C}$ .

*Expozice.* Užili jsme roentgenového filmu Foma Indux XX  $10 \times 40 \text{ cm}$ , který jsme vyvolali vývojkou Agfa 108. Doba expozice pro materiál s aktivitou  $40 \mu\text{Ci/ml}$  byla 24 hodin, většinou jsme však exponovali 3 až 5 dní, aby vyšly i skvrny s malým obsahem  $\text{P}^{32}$ .

### Výsledky a diskuse

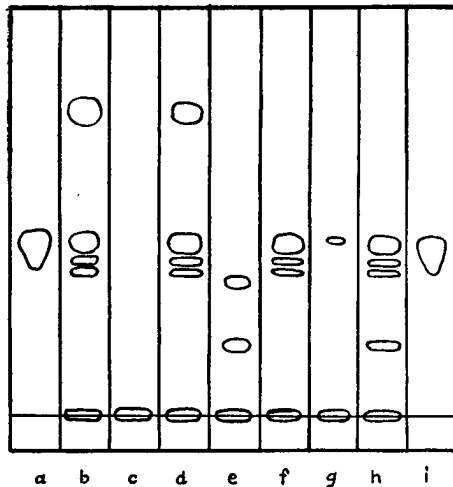
Kvasnice jsme inkubovali 15 hodin na půdě bez fosforu (první inkubace). Po ukončení bylo pH media 4,0. Kvasinky nevykazovaly mikroskopicky ani stopy volutinu, naproti tomu kvasinky inkubované 15 hodin na fosfátovém roztoku obsahovaly značné množství volutinu. Po oddělení centrifugací jsme buňky kultivované na půdě bez fosforu důkladně promyli vodou a přenesli do půdy s fosforem  $\text{P}^{32}$  a opět inkubovali 2 hodiny (druhá inkubace). Za tuto dobu se vytvořilo velké množství volutinu. Kvasinky jsme opět promyli, odcentrifugovali a převedli do půdy bez fosfátu na 24 hodin (třetí inkubace). Paralelně jsme inkubovali kvasinky z první inkubace na půdu s normálním fosfátem, k níž jsme přidali  $\text{S}^{35}$  jako sulfát, takže aktivita tohoto roztoku byla  $12,3 \mu\text{Ci/ml}$ .

Po 2 hodinách inkubace na půdě s  $\text{P}^{32}$  a po odcentrifugování buněk jsme změřili aktivitu odděleného roztoku a kvasinek. Kvasinky za tuto dobu absorbovaly přes 99 % fosforu z media. Podobným způsobem jsme zjistili, že na fosfátovém mediu obsahujícím  $\text{S}^{35}$  bylo absorbováno 31 % síry.

Při vyhodnocování elektroforetogramů jsme shledali, že kvasinky za 2 min. již adsorbovaly z fosfátového media značnější množství fosforu, prokazatelného pouze jako anorganický orthofosfát. Domníváme se, že fosfor je vázán pouze fyzikálně. Naproti tomu za 2 hodiny na téže roztoku je  $\text{P}^{32}$  kromě velké skvrny na startu prokazatelný v dalších 4 skvrnách, uvolněných z homogenátu buněk bohatých na volutinu, zatím co celé buňky zanechávají pouze silnou skvrnu na startu a tytéž buňky eluované varem a nanesené včetně eluátu dávají stejný počet a uspořádání skvrn jako homogenát. Síra  $\text{S}^{35}$  je obsažena především v nepohyblivém podílu, který vytváří silnou skvrnu na startu a přísluší nepochybně bílkovinám. Kromě toho vznikly 2 skvrny slabší, z nichž jedna patří anorganickému síranu. Žádná z těchto dvou skvrn se však nekryje se skvrnami sloučenin obsahujících fosfor. Buňky bez volutinu po 24hodinové inkubaci na půdě bez fosforu nanášené jako homogenát vykazují stejné uspořádání skvrn jako buňky s volutinem, avšak chybí poslední skvrna; celé buňky z téhož media dávají jedině silnou skvrnu na startu a velmi slabou skvrnu pravděpodobně anorganického orthofosfátu. V eluátu varem z buněk bez volutinu se objevuje nová skvrna blíže ke startu, za ní následují další tři skvrny, chybí však poslední skvrna, patrná na preparátech z buněk s volutinem.

Fosfor  $P^{32}$  jako fosfát zanechává skvrnu, odpovídající zhruba třetí skvrně od startu, viditelné na preparátech z buněk bohatých na volutin.

Cytologická pozorování ukázala, že volutin, přítomný v drobných granulích v kvasničných buňkách, zcela vymizí během 15 hod. kultivace na mediu bez fosforu. Po přenesení do media s fosforem se po 2 min. neukázala změna v cytologickém obraze, ačkoli podle elektroforetogramů (a) buňky již absorbovaly velké množství fosforu. Po 2 hodinách inkubace obsahují buňky hojně volutinu. Po další výměně media se projevuje vypuštění fosforu opětovnou ztrátou volutinu (obr. 1).



Z výsledků je patrné, že kvasinky s volutinovými granuly, stanovenými metachromatickou reakcí přímo v buňce, obsahují kromě fosforu vázaného na bu-

Obr. 1. Schema rozložení skvrn, vytvořených látkami obsahujícími  $P^{32}$  na elektroforetogramech. Označení jednotlivých proužků: a) homogenát z kvasinek inkubovaných v roztoku s  $P^{32}$  po 2 min. inkubace, b) po 2 hodinách inkubace, c) celé buňky kvasinek inkubovaných v roztoku  $P^{32}$  po 2 hodinách inkubace, d) buňky kvasinek inkubovaných v roztoku s  $P^{32}$  po 2 hodinách inkubace, eluované varem 2 min. včetně eluátu, e) homogenát z kvasinek inkubovaných ve fosfátovém roztoku s  $S^{35}$ , f) homogenát z kvasinek inkubovaných v roztoku bez fosfátu (třetí inkubace), g) celé buňky kvasinek inkubovaných v roztoku bez fosfátu (třetí inkubace), h) eluát připravený varem z buněk inkubovaných v roztoku bez fosfátu (třetí inkubace), i) standard  $P^{32}$  (jako fosfát).

něčné bílkoviny a stabilně se vyskytujících fosforečných sloučenin elektroforeticky pohyblivých ještě další, specifickou sloučeninu fosforu o značné pohyblivosti. Tato látka není bílkovinné povahy (její skvrna nereaguje s bromthymolovou modří), neobsahuje síru a není prokazatelně přítomna v buňkách bez volutinu. Vodný eluát skvrny dává s roztokem vaječného bílku po mírném okyselení kyselinou octovou sraženinu koagulovaného albuminu. Zjištěné vlastnosti svědčí pro metafosfát. Z uvedených zjištění můžeme uzavřít, že tato substance je metachromatickou složkou volutinových granulí, při čemž se ovšem nevylučuje velmi pravděpodobná účast ribonukleové kyseliny jako další složky při jejich tvorbě.

#### Souhrn

Buňky kvasinek s volutinovými granuly vykazujícími metachromatickou reakci obsahovaly kromě fosforu vázaného v buněčných bílkovinách a kromě stabilně přítomných elektroforeticky pohyblivých sloučenin další specifickou sloučeninu fosforu o vysoké elektroforetické pohyblivosti. Tato nebílkovinná sloučenina, prokazatelně nepřítomná v buňkách bez volutinu, byla oddělena pomocí elektroforesy na papíře a stanovena jako metafosfát. Toto zjištění nevylučuje ovšem možnost účasti ribonukleové kyseliny při tvorbě volutinových granulí.

Děkujeme Ing. V. Závadovi za obětavou pomoc při řešení pokusné části.

#### Literatura

- Beľozerskij, A. N.: *Chimičeskoe svojstvo volutina*. Mikrobiologija 14 : 29, 1945.  
 Brandt, K.: *Physiologische Chemie und Cytologie der Presshefe*. Protoplasma 36 : 77, 1941.  
 Caspersson, T., Brandt, K.: *Nucleotidumsatz und Wachstum bei Presshefe*. Protoplasma 35 : 517, 1941.

- Damle, S. P., Krishnan, P. S.: *Studies on the role of metaphosphate in molds. I. Quantitative studies on the metachromatic effect of metaphosphate.* Arch. Bioch. Biophys. 49 : 58, 1954.
- Duguid, J. P., Smith, J. W., Wilkinson, J. F.: *Volutin production in Bacterium aerogenes due to development of an acid reaction.* J. Pathol. Bacteriol. 67 : 289, 1954.
- Ebel, J. P.: *Sur le dosage des métaphosphates dans les microorganismes par hydrolyse différentielle; technique et application aux levures.* C. R. Ac. Sci. 226 : 2184, 1948.
- Ebel, J. P.: *Participation de l'acide métaphosphorique à la constitution des bactéries et des tissus animaux.* C. R. 228 : 1312, 1949.
- Ebel, J. P., Volmar Y.: *Chromatographie sur papier des ortho, pyro, méta et polyphosphates.* C. R. Ac. Sci. 233 : 415, 1951.
- Jeener, R., Brachet, J.: *Synthesis of nucleic acid by yeast. Relations with fermentation and respiration.* Bull. classe sci. Acad. Roy. Belg. 29 : 476, 1943.
- Juni, E., Kamen, M. D., Reiner, J. M., Spiegelman, S.: *Turnover and distribution of phosphate compounds in yeast metabolism.* Arch. Bioch. 18 : 387, 1948.
- Kornberg, S. R., Kornberg, A.: *Anorganic tripolyphosphate and trimetaphosphate in yeast extracts.* Feder. Proc. 13 : 244, 1954.
- Mackie, T. J., Mc Cartney, J. E.: *Handbook of practical bacteriology.* Edinburgh 1950.
- Malmgren, H.: *Enzymatic breakdown of polymetaphosphate.* Särtn. Svensk Kem. Tidskr. 64 : 27, 1952.
- Mann, T.: *Studies on the metabolism of mould fungi. 1. Phosphorus metabolism in moulds.* Biochem. J. 38 : 339, 1944a.
- Mann, T.: *Studies on the metabolism of mould fungi. 2. Isolation of pyrophosphate and metaphosphate from Aspergillus niger.* Biochem. J. 38 : 345, 1944b.
- Meyer, A.: *Orientierende Untersuchung über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins.* Bot. Zeit. 62 : 113, 1904.
- Schmidt, G., Hecht, L., Thannhauser, S. J.: *The enzymatic formation and the accumulation of large amounts of a metaphosphate in bakers' yeast under certain conditions.* J. Biol. Chem. 166 : 775, 1946.
- Schmidt, G., Hecht, L., Thannhauser, S. J.: *The effect of potassium ions on the absorption of orthophosphate and the formation of metaphosphate by bakers' yeast.* J. Biol. Chem. 178 : 733, 1949.
- Schumacher, J.: *Welche chemische Substanz baut die Polkörnchen des Diphtherie Bazillus auf?* Zbl. Bakter. I. Abt. 88 : 362, 1922.
- Schumacher, J.: *Über den Nachweis des Bakterienkerns und seine chemische Zusammensetzung.* Zbl. Bakter. I. Abt. 97 : 81, 1926.
- Smith, J. W., Wilkinson, J. F., Duguid, J. P.: *Volutin production in Aerobacter aerogenes due to nutrient imbalance.* J. Bact. 68 : 450, 1954.
- Sommer, A. L., Booth, T.: *Meta and pyrophosphate within the algal cells.* Plant Physiol. 13 : 199, 1938.
- Van Herwenden, M.: *On the nature and significance of volutin in yeast cells.* Ak. Amst., Proc. 20 : 70, 1918.
- Wiame, J. M.: *Remarque sur la métachromasie des cellules de levure.* C. R. Soc. Biol. 140 : 895, 1946a.
- Wiame, J. M.: *Basophilie et métabolisme du phosphore chez la levure.* Bull. Soc. Chim. Biol. 28 : 552, 1946b.
- Wiame, J. M.: *Yeast metaphosphate.* Feder. Proc. 6 : 302, 1947a.
- Wiame, J. M.: *The metachromatic reaction of hexametaphosphate.* J. Am. Chem. Soc. 69 : 3146, 1947b.

## Отношение метафосфата к образованию волютина у дрожжей

Ю. Старка и Я. Завада

### Резюме

Дрожжевые клетки с волютином, которые давали метакроматическую реакцию, содержали, кроме фосфора клеточных белков и кроме постоянно присутствующих в них электрофоретически подвижных соединений, другое соединение фосфора с высокой электрофоретической подвижностью. Это не белковое соединение, которое не содержится в клетках без волютина, было определено как метафосфат. Это открытие не исключает возможности участия в синтезе волютина и рибонуклеиновой кислоты.

## The Relationship between Metaphosphate and Volutin Formation in Yeast

Electrophoretic Separation of Phosphorylated Compounds Traced with P<sup>32</sup>

J. Stárka and J. Závada

### Summary

Yeast cells with volutin showing a metachromatic reaction contained, in addition to the phosphorus bound in cell proteins and to its electrophoretically mobile compounds which are constantly present, another specific phosphorus compound of high electrophoretic mobility. This non-protein compound—evidently absent in volutin-free cells—was identified as metaphosphate and separated by means of paper electrophoresis. This finding does not exclude the possibility that ribonucleic acid participates in the formation of volutin granules.

*Československá*  
**MIKROBIOLOGIE**

ročník 1. (1956) — č. 2

**Mikrobní procesy a katalytická mohutnost půdy**

JAROMÍR SEIFERT

Karlova universita, biologická fakulta, oddělení půdní mikrobiologie, Praha

Došlo 30. 9. 1955

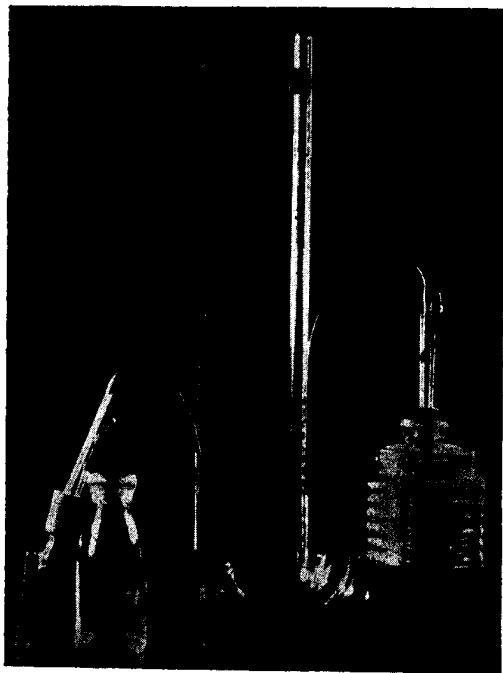
Poznatky učiněné v poslední době při mikrobiologických studiích půdy nám dovo-lují revidovat řadu starých názorů na půdu a na procesy v ní probíhající. Názor na půdu jako na minerálně organické prostředí s převážně chemickými procesy je stále více nahrazován pojetím půdy jakožto bioorganominerálního komplexu s pře-vahou procesů biologických a biochemických.

Mění se proto i náplň některých pojmů. Humifikace přestala být degradačním procesem, částečnou mineralisací, a začíná být správně chápána jako proces syntesy nových látek. Jevy dosud přičítané výlučně chemickým procesům jsou nyní víc a více poznávány jako jevy působené životními pochody mikrobů. Jedním z tako-vých jevů, jehož podstata bývá často hledána v působení neživých součástí půdy a který pravděpodobně souvisí v nej-větší míře s životní činností mikrobů, je tak zvaná katalytická mohutnost půdy (k. m.).

Pod pojmem katalytické mohutnosti půdy rozumíme schopnost půdy rozkládat peroxid vodíku. Tuto vlastnost objevil v sedmdesátých letech minulého století Fraas (cituje Káš 1926) a od té doby ji studovala řada autorů. Původní vysvětlení tohoto jevu, jež podali Koenig, Cop-perath, Hasenblumer a Káš (1926), kteří spojo-vali katalytickou mohutnost půdy především s činností mikrobů v půdě a s produkcí katalasy, bylo postupem doby nahrazováno vysvětlením jiným. Zvýšené poznatky o koloidní stavbě půdy a účinku koloidů vedly řadu autorů k to-mu, aby podstatu katalytické mohutnosti půdy hledali v působení koloidních forem sloučenin železa, manganu a humusových látek. I když nelze popřít, že katalytická mohutnost půdy, a to zejména spodních horizontů, je do značné míry způsobena účinkem uvedených látek, domnívá-me se, že nelze souhlasit s tím, aby byla cele nebo v hlavní míře a pro všechny horizonty definována jako následek působení neživých látek. Ve své práci jsme vyšli z předpokladu rozdílné podstaty katalytické mohutnosti svrch-ních a spodních horizontů a obrátili jsme po-zornost na ornici.

*Materiál a metody*

Katalasu jsme stanovili podle postupu uvede-ného Kášem (viz Klika, Novák a Gregor 1954).



Obr. 1. Přístroj na stanovení katalasy.

Ježto teplota značně ovlivňuje jaksamotný rozklad peroxydu, tak měření objemu kyslíku, upravili jsme si aparaturu tak, že jsme měřili při konstantní teplotě 2 °C. Pro příliš malé rozměry isolačních lahví jsme nemohli použít Duchoňových katalasometrů. Vyrobili jsme si katalasometry z lahví od mléka (obsah 250 ml, obr. 1). Vzhledem k tomu, že nádobka katalasometru, do níž jsme pipetovali peroxyd vodíku, měla omezené rozměry, zvýšili jsme koncentraci peroxydu na 12 %, snížili jsme množství na čtvrtinu (10 ml) a současně jsme zvýšili množství vody (80 ml), přidávané ke zkoumané půdě. Půdy jsme odvažovali pro jedno stanovení 5 g, byla-li na vzduchu vyschlá; u vlhké půdy jsme odvažovali o příslušné množství více. Z počátku jsme měřili produkci kyslíku za 15 minut, později z důvodů úspory času za 10 minut. Stanovení u každého půdního vzorku jsme opakovali 6 až 10krát. Katalytická mohutnost půdy byla udána produkcí  $O_2$  za 10 (15) minut.

Produkci  $CO_2$  jsme měřili titračně upravenou metodou Štatnovovou (Bernát a Seifert 1955).  
Nitráty jsme stanovili kolorimetricky pomocí fenolsírové kyseliny.

### Výsledky a diskuse

Prvním naším úkolem bylo zjistit katalytickou mohutnost několika půd, lišících se původem a svými vlastnostmi, z nichž jsme vybrali tři: půda G pochází ze zahrady u Genetického ústavu fakulty, půda E z polí JZD Lipka v Železných horách a půda J z pole u Jinonic. Půda první a třetí je strukturní, druhá je bez struktury. Základní charakteristika půd je uvedena v tabulce, kde je uveden i průběh rozkladu peroxydu těmito půdami.

Tabulka 1. Základní charakteristika studovaných půd

	pH	C	N	C : N	Množství			Kat. mohutnost			Obsah fosforu
					bakterií . 10 <sup>8</sup>	bacilů . 10 <sup>3</sup>	plísňí . 10 <sup>3</sup>	5 min.	10 min.	15 min.	
Půda G	7,1	1,8	0,17	10,6	800	250	24	15	25	31	32
Půda J	6,9	1,2	0,15	8,0	474	340	144	8	16	22	14
Půda E	6	1,1	0,08	13,8	404	266	60	2	6	8	4

Porovnáme-li velikost katalytické mohutnosti s půdní úrodností, tu je třeba říci, že zde můžeme pozorovat přímou závislost, neboť úrodnost půdy klesá od G přes J k E a katalytická mohutnost klesá stejným směrem.

Jak jsme se zmínili již v úvodu, vyšli jsme z předpokladu, že katalytickou mohutnost půdy způsobují různí činitelé a že ve svrchních vrstvách půdy je její hlavní podstatou enzym katalasa, produkovaný při mikrobiálních pochodech v půdě. Přímý důkaz, získaný oddělením katalasy od složek ostatních, se nám nepodařilo podat, ač jsme se o to snažili na základě práce Eysterovy (1954) o vlivu  $Cu^{++}$  a  $Zn^{++}$  solí na mikrobiální katalasu. Přistoupili jsme proto k pokusům, které by účast enzymatické složky prokázaly nepřímě. Podstatou těchto pokusů bylo zvýšení mikrobiální činnosti v půdě a pozorování, do jaké míry bude toto zvýšení mít vliv na katalytickou mohutnost.

Vyšli jsme od půd na vzduchu vyschlých. Ty jsme uvedli na 60 % absolutní vodní kapacity a inkubovali při teplotě 25 °C. Tímto způsobem se, jak známo, uvede půda do stavu biologické činnosti a v půdě začínou intenzivně probíhat mikrobiální procesy. Po 14denní inkubaci jsme měřili rozdíl mezi výchozí a konečnou hodnotou katalytické mohutnosti. Jak vidíme z tabulky 2, katalytická mohutnost půdy během inkubace značně stoupla.

Tabulka 2. Vliv inkubace na zvýšení katalytické mohutnosti půdy

Půda	Doba v min., za niž byla stanovena produkce $O_2$			Rozdíl v produkci před a po inkubaci v 15 min.
	5	10	15	
G	19	30	38	7
E	5	12	17	9
J	13	20	26	4

Abychom zvýšili činnost mikroorganismů ještě víc, přidali jsme k inkubované půdě 1 % glukosy, čímž jsme ji uvedli do stavu, kdy se má projevit její celková biologická aktivita. Změnu katalytické mohutnosti jsme stanovili jednak po 14 dnech a jednak po 1 měsíci. Výsledky jsou zachyceny v tabulce 3.

Tabulka 3. Vliv inkubace půd s glukosou na jejich katalytickou mohutnost

Varianta pokusu	Produkce O <sub>2</sub> za minut		
	5	10	15
Půda G za 14 dní a za měsíc	19	30	38
Půda G + 1 % glukosy za 14 dní	28	41	52
Půda G + 1 % glukosy za 30 dní	19	29	37

Z tabulky je zřejmé, že katalytická mohutnost se během prvních 14 dnů značně zvýšila, avšak v dalším průběhu poklesla na hodnotu prakticky stejnou, jaká je u půdy bez glukosy.

Již z tohoto stanovení u jedné půdy bylo zřejmé, že glukosa, která působí zintenzivnění mikrobiálních procesů v půdě, zvyšuje katalytickou mohutnost. Zároveň bylo prokázáno, že po dosažení maxima katalytická mohutnost po nějaké době (podle druhu půdy) klesá.

Protože ze dvou stanovení nebylo zřejmé, kdy dosahuje katalytická mohutnost maxima, sledovali jsme změny katalytické mohutnosti po 24 hodinách. Velikost katalytické mohutnosti byla udána produkcí O<sub>2</sub> za deset minut. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulce 4.

Tabulka 4. Časový průběh změn v katalytické mohutnosti půdy G

	Čas ve dnech					
	1	2	3	4	6	8
Stupeň k. m. v půdě G	25	26	28	28	28	28
Stupeň k. m. v půdě G s 1 % glukosy	32	34	42	48	48	48

Katalytická mohutnost půdy bez glukosy stoupá od prvního dne plynule a dosahuje maxima již třetí den. První den pozorujeme rychlé zvýšení, druhý den se katalytická mohutnost udržuje celkem na stejné výši a teprve třetího dne začne stoupat prudčeji. Maxima dosahuje 4. den. Vzhledem k tomu, že dosáhnoutí maxima nastane po poměrně krátké době, je zřejmé, že ta část katalytické mohutnosti, která je spojena s mikrobiálními procesy v půdě a kterou podle naší domněnky můžeme přičíst na vrub enzymu katalase, souvisí s krátkodobými procesy v půdě.

Jakmile jsme dospěli k tomuto poznatku, měla naše práce vedle původního cíle zjistit podstatu katalytické mohutnosti v ornici ještě další cíl, totiž zjistit, co nám katalytická mohutnost říká o procesech v půdě.

Předně jsme si ověřili závislost zvyšování katalytické mohutnosti na spotřebě glukosy pozorováním v prvním dnu inkubace a to vždy po třech hodinách. Sledovali jsme hladinu glukosy, nitrátů a velikost katalytické mohutnosti. Podle údajů tabulky 5, ve které jsou výsledky uvedeny, lze říci, že katalytická mohutnost se zvyšuje úměrně s úbytkem glukosy. Při tom však, vezmeme-li v úvahu konečnou

hodnotu katalytické mohutnosti 48, vidíme, že úbytek glukosy předchází stoupaní katalytické mohutnosti. Zejména to je nápadné v údobí mezi 24. a 48. hodinou, kdy obsah glukosy klesne z 0,63 % na 0,2 % a katalytická mohutnost se celkem nemění. Nitráty z půdy mizí již za 18 hodin.

Tabulka 5.

	Čas v hodinách								
	3	6	9	12	15	18	21	24	48
Množství N/NO <sub>3</sub> v mg/kg	12	10	10	9	5	0	0	0	0
Množství glukosy v %	1	0,98	0,95	0,9	0,7	0,65	0,64	0,63	0,2
Katalytická mohutnost	25	26	27	27	28	29	30	32	34

U půdy J a E jsme se spokojili pouze se stanovením po 24 hodinách. Jak je vidno z tabulky 6, i u těchto půd je průběh zvyšování katalytické mohutnosti při přidání glukosy prakticky stejný jako u půdy G. Rozdíly jsou v době, za kterou je dosaženo maxima (půda J) a dále v hodnotách, o které se během inkubace katalytická mohutnost zvýšila. Přídavek 1 % glukosy působí u půdy G zvýšení o 20 ml O<sub>2</sub>, u půdy J o 28 ml a u půdy E o 32 ml O<sub>2</sub>.

Tabulka 6. Vliv glukosy na zvýšení katalytické mohutnosti u půdy J a E

	Čas ve dnech						
	1	2	3	4	5	6	7
Půda J	13	15	16	18	20	20	20
Půda J s glukosou	29	30	41	43	45	48	48
Půda E	5	5	6	8	9	10	11
Půda E s glukosou	15	21	30	43	43	43	43

Když jsme zjistili kladný vliv glukosy na zvyšování katalytické mohutnosti, zajímalo nás, jak na toto zvýšení působí různé koncentrace uvedeného monosacharidu. Koncentrace jsme odstupňovali takto: 0,2 %, 0,6 % a 1 %. Přitom jsme vždy stanovili ještě změny v půdě bez glukosy. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 7.

Tabulka 7. Vliv různé koncentrace glukosy na zvýšení katalytické mohutnosti půdy G

	Čas ve dnech				
	1	2	3	4	9
Půda bez glukosy	25	26	28	28	28
Půda s 0,2 % glukosy	32	34	34	34	34
Půda s 0,6 % glukosy	32	34	38	40	40
Půda s 1 % glukosy	32	34	42	48	48

Jak vidíme z hodnot zachycených v tabulce, zvyšování katalytické mohutnosti probíhá při všech koncentracích glukosy prakticky stejnou rychlostí. Avšak tam, kde je použito nižší koncentrace, se

zvyšování katalytické mohutnosti zastaví dříve, kdežto v pokusech s větším množstvím glukosy pokračuje zvyšování dále. Koncentrace glukosy zvyšuje maximum katalytické mohutnosti.

Vzhledem k tomu, že jsme chtěli znát závislost zvyšování katalytické mohutnosti na biochemických procesech v půdě, stanovili jsme zároveň produkci kyslíčnicku uhličitého. Výsledky tohoto stanovení přináší tabulka 8.

Tabulka 8. Vliv různých koncentrací glukosy na produkci CO<sub>2</sub> v půdě G

	Čas ve dnech					
	1	2	3	4	5	6
Půda bez glukosy	24	4	4	3	4	4
Půda s 0,2 % glukosy	54	13	10	7	8	8
Půda s 0,6 % glukosy	61	57	44	12	10	9
Půda s 1 % glukosy	57	110	72	44	20	16

Ve všech případech vidíme, že produkce kyslíčnicku uhličitého a zvyšování katalytické mohutnosti spolu souvisí. Zvyšování katalytické mohutnosti trvá jen potud, pokud je zvýšena produkce CO<sub>2</sub>. Jakmile ta poklesne, přestává se katalytická mohutnost zvyšovat. Výsledky získané v pokusech s půdou G jsme si ověřili u půdy J. Výsledky stanovení jsou v tabulkách 9 a 10.

Tabulka 9. Vliv různé koncentrace glukosy na zvyšování katalytické mohutnosti u půdy J

	Čas ve dnech					
	1	2	3	4	5	6
Půda bez glukosy	13	15	16	18	20	20
Půda s 0,2 % glukosy	20	20	21	22	25	25
Půda s 0,6 % glukosy	20	22	25	31	37	37
Půda s 1 % glukosy	23	30	41	47	50	50

Tabulka 10. Produkce CO<sub>2</sub> v půdě J při různé koncentraci glukosy

	Čas ve dnech					
	1	2	3	4	5	6
Půda bez glukosy	15	7	7	7	5	4
Půda s 0,2 % glukosy	66	22	13	9	8	7
Půda s 0,6 % glukosy	70	162	31	15	12	10
Půda s 1 % glukosy	73	290	79	17	15	10

U půdy J na rozdíl od půdy G se zvyšovala katalytická mohutnost ještě po určitou dobu po snížení produkce CO<sub>2</sub>. Avšak i zde je možno říci, že oba procesy spolu souvisí. Zdá se však, že zvyšování katalytické mohutnosti, t. j. podle naší domněnky produkce enzymu katalasy, souvisí jen s jednou částí těchto procesů, při nichž je vylučován CO<sub>2</sub>.



Poněkud podobné poměry jsou i u půdy E. Zde není třeba zvlášť výsledky komentovat. Stačí nám porovnat pouze obě tabulky 11 a 12, abychom se přesvědčili i zde o souvislosti obou procesů.

Tabulka 11. Vliv různé koncentrace glukosy na zvyšování katalytické mohutnosti u půdy E

	Čas ve dnech					
	1	2	3	4	5	6
Půda bez glukosy	5	5	6	8	9	10
Půda s 0,2 % glukosy	5	6	8	10	12	12
Půda s 0,6 % glukosy	12	18	22	24	28	28
Půda s 1 % glukosy	15	21	30	43	43	43

Tabulka 12. Produkce CO<sub>2</sub> v půdě E při různé koncentraci glukosy

	Čas ve dnech					
	1	2	3	4	5	6
Půda bez glukosy	20	6	6	4	5	3
Půda s 0,2 % glukosy	42	51	19	11	6	4
Půda s 0,6 % glukosy	42	164	64	25	21	11
Půda s 1 % glukosy	42	170	112	49	37	23

Projdeme-li nyní všechna provedená stanovení, při nichž jsme použili různých koncentrací glukosy, vidíme, že zvýšení katalytické mohutnosti je přímo úměrné množství přidané glukosy a do určité míry i produkci CO<sub>2</sub>. Tato druhá závislost ukazuje na to, že katalytická mohutnost souvisí ve značné míře s biologickými procesy v půdě. Při tom je třeba konstatovat, že absolutní hodnoty zvýšení katalytické mohutnosti i produkce CO<sub>2</sub> závisí na druhu půdy.

Již dříve nám bylo známo (Bernát a Seifert 1955), že produkce CO<sub>2</sub> se u většiny půd značně zvýší, jestliže k nim přidáme nejen glukosu ale současně i menší množství 0,1 % NaNO<sub>3</sub>. Přidali jsme proto k půdě obě látky a stanovili produkci CO<sub>2</sub>. Jak vykazuje tabulka 13, produkce kyslíčnicku uhličitého značně stoupla.

Tabulka 13. Produkce CO<sub>2</sub> v půdě G inkubované s 1 % glukosy a 0,1 % NaNO<sub>3</sub>

	Čas ve dnech					
	1	2	3	4	5	6
Půda s NaNO <sub>3</sub>	22	10	7	3	3	3
Půda s 0,2 % glukosy a 0,1 % NaNO <sub>3</sub>	86	31	15	13	11	9
Půda s 0,6 % glukosy a 0,1 % NaNO <sub>3</sub>	189	73	28	20	19	12
Půda s 1 % glukosy a s 0,1 % NaNO <sub>3</sub>	246	154	62	34	30	22

Po skončeném měření jsme stanovili katalytickou mohutnost. Ukázalo se, že ačkoliv produkce  $\text{CO}_2$  byla značně vyšší, zůstala katalytická mohutnost stejná, jako když byla přidána pouze glukosa bez nitrátů. (Půda bez glukosy 28, s 0,2 % glukosy 33, s 0,6 % glukosy 40, a s 1 % glukosy 47). Toto zjištění nás utvrdilo v názoru, že skutečně katalytická mohutnost půdy souvisí jen s částí procesů, při kterých je produkován  $\text{CO}_2$ .

Když jsme však zjišťovali časový průběh změn katalytické mohutnosti, zjistili jsme, že maxima katalytické mohutnosti bylo dosaženo podstatně dříve než u půdy bez nitrátů. Tak u kontroly bylo dosaženo maxima 3. den, u všech koncentrací pak již druhý den. Mimo to jsme u půdy G zjistili, že množství  $\text{CO}_2$ , které se uvolnilo od začátku pokusu do dosažení maxima, bylo stejné jak u pokusu s nitráty, tak i v pokusu bez nitrátů. Můžeme tedy říci, že rozhodujícím činitelem při zvyšování katalytické mohutnosti byla koncentrace glukosy.

Zdá se, že nitráty nemají na pochody, při nichž se zvyšuje katalytická mohutnost půdy, vliv. Abychom si tuto domněnku potvrdili, zvýšili jsme množství  $\text{NaNO}_3$  na 0,2 %. Produkce kyslíčnku uhličitého, jak je vidět z tabulky 14, se značně zvýšila, avšak maxima katalytické mohutnosti zůstala na stejné výši.

Tabulka 14. Produkce  $\text{CO}_2$  a katalytická mohutnost v půdě G s glukosou a 0,2 %  $\text{NaNO}_3$

Čas ve dnech	Produkce $\text{CO}_2$							Katalytická mohutnost		
	1	2	3	4	5	6	7	2	4	7
Půda bez glukosy + $\text{NaNO}_3$	24	8	6	3	3	3	3	26	28	28
Půda s 0,2 % glukosy + $\text{NaNO}_3$	93	22	13	6	4	4	4	32	32	32
Půda s 0,6 % glukosy + $\text{NaNO}_3$	215	64	27	11	10	7	5	40	40	40
Půda s 1 % glukosy + $\text{NaNO}_3$	310	110	33	22	15	10	5	48	48	48

Vliv nitrátů byl vyzkoušen též u půdy E (tabulka 15).

Tabulka 15. Produkce  $\text{CO}_2$  v půdě s různým množstvím glukosy a 0,1 %  $\text{NaNO}_3$

	Čas v dnech					
	1	2	3	4	5	6
Půda bez glukosy	10	9	7	6	2	2
Půda s 0,2 % glukosy + $\text{NaNO}_3$	19	69	26	16	7	5
Půda s 0,6 % glukosy + $\text{NaNO}_3$	19	164	60	42	13	14
Půda s 1 % glukosy + $\text{NaNO}_3$	19	167	175	59	31	24

V tomto pokusu byla katalytická mohutnost stanovena jen po jeho ukončení t. j. šestý den. Bylo zjištěno, že není rozdíl mezi hodnotami získanými při inkubaci půdy s glukosou a hodnotami získanými při inkubaci půdy s glukosou a nitráty. Je ovšem třeba dodat, že u této půdy se při inkubaci s nitráty nezvýšila ani produkce  $\text{CO}_2$ . Ta činila u půdy bez nitrátů u kontroly 44, s nitráty 36 (za 6 dní). Při koncentraci glukosy 0,2% byla produkce bez nitrátů 133 a s nitráty 144, při koncentraci 0,6% pak v prvním případě 327 a v druhém 312. Půda s 1 % glukosy produkovala 433, s glukosou a nitráty 439 mg.

Protože pokusy s nitráty nás ještě více utvrdily v názoru, že katalytická mohutnost je způsobena hlavně enzymem katalasou, jehož produkce souvisí s aerobními pochody, provedli jsme několik stanovení vlivu různého provzdušnění půdy na katalytickou mohutnost. K těmto pokusům jsme použili půdy E, kterou jsme inkubovali jednak v Petriho miskách, jednak v uzavřených zavařovacích nádobách t. zv. „masovkách“. (Pokus trval 7 dnů, kdy jsme stanovili katalytickou mohutnost.) Výsledky jsou v tabulce 16.

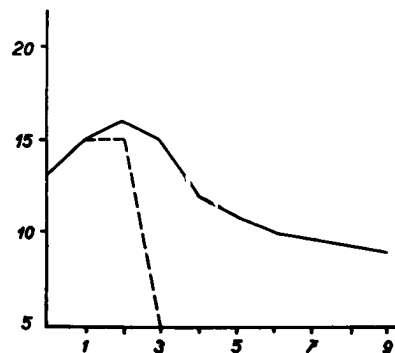
Tabulka 16. Vliv provzdušnění půdy na velikost hodnot katalytické mohutnosti

	Půda inkubována	
	za přístupu vzduchu	za nepřístupu vzduchu
Půda bez glukosy	11	11
Půda s 0,2 % glukosy	12	12
Půda s 0,6 % glukosy	28	22
Půda s 1 % glukosy	43	20

Z výsledků je zřejmé, že ve variantách bez glukosy nebo s malým množstvím glukosy se vliv omezeného přístupu vzduchu neprojevil. Při vyšších koncentracích glukosy se však omezení přístupu vzduchu projevilo podstatným snížením konečných hodnot.

Pokus jsme opakovali, abychom dosáhli snáze spotřebování kyslíku, použili jsme nádoby o polovičním obsahu ( $\frac{1}{2}$  l). Výsledek byl ten, že ve variantě 0,6 % dosáhla katalytická mohutnost hodnoty 18 (za 2 i za 5 dnů), kdežto ve variantě s 1 % glukosy byla hodnota za 2 dny 21 a za 5 dnů 13. Tím jsme si prokázali nejen, že omezený přístup kyslíku má za následek snížení maxima, ale i to, že trvá-li omezený přístup kyslíku déle, čili vytvoří-li se anaerobní podmínky, hodnoty katalytické mohutnosti klesají (obr. 2).

Při dalších pokusech jsme chtěli pro regulaci množství kyslíku v půdě využít antagonismu mezi vzduchem a vodou v půdě. K pokusům jsme vzali půdu G o maximální vodní kapacitě 47 % a přesytily jsme ji vodou. Na 50 g půdy s 0,5 g glukosy jsme dali 25 ml vody. Tím jsme dosáhli zavlažení přes 100 %. Současně jsme připravili ke stanovení serii s půdou nasycenou na 60 % a kontrolní serii zavlaženou též na 60 % a 100 % max. vodní kapacity, avšak bez glukosy. Inkubace trvala 5 dní. Výsledek stanovení byl překvapující. Největší katalytickou mohutnost vykazovala půda nasycená přes 100 % vodní kapacity. Dávala hodnoty kolem 70, zatím co půda s glukosou nasycená vodou na 60 % dala hodnotu 48 a obě dvě kontrolní půdy 30. Serii pokusů jsme několikrát opakovali a vždy se stejným výsledkem. Na základě těchto stanovení jsme uspořádali pokus, který nám měl ukázat, jak různá koncentrace vody působí na změny katalytické mohutnosti.



Obr. 2. Změna hodnot katalytické mohutnosti půdy při inkubaci za omezeného přístupu vzduchu. Osa x = počet dnů, osa y = hodnota k. m. — glukosy 0,6%, - - - - - konc. glukosy 1%.

Tabulka 17. Vliv různého obsahu vody na velikost katalytické mohutnosti a na produkci CO<sub>2</sub> u půdy G inkubované s glukosou

Množství vody	Kat. mohutnost	Produkce CO <sub>2</sub>
10 ml	48	261
15 ml	47	281
20 ml	49	280
25 ml	68	283
30 ml	55	205

vyšší koncentrace) prakticky nemění, zatím co v hodnotách katalytické mohutnosti jsou značné rozdíly. To všechno potvrzuje již dříve vyslovenou domněnku, že katalytická mohutnost je spojena s procesy, při nichž je sice produkováno CO<sub>2</sub>, avšak tyto procesy nejsou jedinými procesy v půdě, při nichž je CO<sub>2</sub> produkováno.

Půda G byla po dobu 6 dnů inkubována s různým množstvím vody (10, 15, 20 a 25 ml na 50 g půdy) a po šesti dnech byla stanovena katalytická mohutnost. Výsledky jsou zachyceny v tabulce 17, kde je uvedeno i celkové množství CO<sub>2</sub>, které jednotlivé varianty produkovaly.

Při tomto stanovení nejvíce překvapilo, že produkce CO<sub>2</sub> se při různém množství (s výjimkou nej-

Tabulka 18. Vliv různé koncentrace vody na hodnoty katalytické mohutnosti v půdách J a E

Množství vody	Katalytická mohutnost	
	půdy J	půdy E
10 ml	47	40
15 ml	56	30
20 ml	32	24
25 ml	21	7

Závislost mezi obsahem vody v půdě a hodnotou katalytické mohutnosti jsme stanovili i u dalších dvou půd. Zde dopadlo stanovení poněkud jinak, jak je zřejmé z tabulky 18.

U půdy J bylo dosaženo maxima při 80 % vodní kapacity a u půdy E při 60 %. Rozdíl v působení různého množství vláh na hodnoty katalytické mohutnosti se projevil i v pokusech, kde byly půdy inkubovány bez glukosy. Zde zvý-

šení obsahu vody z 10 ml v 50 g půdy na 25 ml mělo za následky snížení katalytické mohutnosti z 20 na 13 a u půdy E z 9 na 6.

Protože jsme chtěli vědět, zda zvyšování katalytické mohutnosti se stoupající koncentrací vody u půdy G je výjimkou, či zda se vyskytuje i u jiných půd, provedli jsme měření u půdy U, která se svými vlastnostmi blížila půdě G. Je to černozemní strukturální půda, bohatá na dusík. Její výchozí katalytická mohutnost činí 30. Nejdříve jsme vyzkoušeli, jak působí na katalytickou mohutnost této půdy různé koncentrace glukosy. Zjistili jsme, že 0,2% glukosy zvyšuje jen z 30 na 31, 0,6% na 37 a 1% na 44 (za 6 dnů). Má tedy půda U poměrně nízký koeficient zvyšování katalytické mohutnosti na jednotku glukosy.

Obsah vody jsme v půdě U, která má vodní kapacitu 40, odstupňovali stejně jako v předešlých případech. Výsledek byl tento: půda s 10 ml měla po 6. dnech k. m. 44; 15 ml — 54; 20 ml — 62; 25 ml — 63; 30 ml — 64.

Půda bez glukosy dala hodnoty navzájem velmi blízké, s tendencí poklesu od 10 ml k 25 ml (33—30). Podobnost s půdou G se projevila i v tom, že současné přidání glukosy a nitrátů vede k zkrácení doby, potřebné pro dosažení maxima k. m. V půdě s nitráty bylo dosaženo maxima 65 již druhý den, zatím co v půdě bez nitrátů byla hodnota k. m. 33.

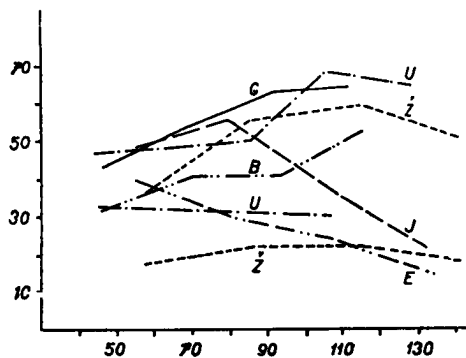
Další půda, kterou jsme v tomto směru vyzkoušeli, byla žlutka z Dušníků používaná v naší fyziologické zahradě k vegetačním pokusům. Stručná charakteristika této půdy je tato:

pH aktivní 7, výměnné 6,2; C = 1,3; N = 1,4; maximální vodní kapacita je 35. S různým množstvím glukosy vykazovala tato půda hodnoty: 0,2 % — 24; 0,6 % — 29; 1,0 % — 36; kontrola — 18.

Jak působila inkubace této půdy s glukosou i bez ní a různým množstvím vody na katalytickou mohutnost, ukazuje tabulka 19.

Mimo to jsme vyzkoušeli ještě jednu půdu z pokusných záhonů fyziologické zahrady biologické fakulty. (Půda B: pH 7; C — 2,6; N — 0,27. Maximální vodní kapacita 43). I zde se projevilo stoupající množství vody na zvýšení hodnot katalytické mohutnosti příznivě. Při tom 10 ml vody byla hodnota k. m. 32, při 15 a 20 ml 41 a při 25 ml 53.

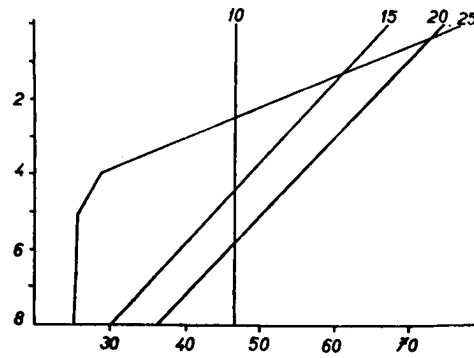
Znovu se na těchto příkladech potvrdilo, že zvýšení katalytické mohutnosti se stoupajícím obsahem vláhy v půdě není úkaz výjimečný, nýbrž pro řadu půd zcela běžný. Z šesti zkoumaných půd čtyři vykazaly největší hodnoty katalytické mohutnosti nad 100 % maximální vodní kapacity (obr. 3).



Obr. 3. Vliv různé koncentrace vody na hodnoty k. m. Osa x = max. vodní kapacity, osa y = hodnota k. m. J, G, U, Ž, B, E — půdy.

Tabulka 19. Vliv různého obsahu vody na hodnoty katalytické mohutnosti u půdy z Dušníků

Množství vody	Katalytická mohutnost půdy inkubované	
	bez glukosy	s glukosou
10 ml	18	36
15 ml	22	57
20 ml	22	59
25 ml	19	50



Obr. 4. Hodnoty katalytické mohutnosti v různých hloubkách pokusné nádoby. Nahoře = voda v ml, osa x (dole) = hodnoty k. m., osa y = hloubka pokusné nádoby v cm.

Inkubace provedená v Petriho miskách nám však znázorňuje poměry, jaké mohou být jen ve svrchní vrstvě ornice. Proto jsme u půdy G použili jako pokusných nádob cukrovarnické zkumavky. Půda byla navrstvena do výše 8 cm a inkubována s glukosou při různé koncentraci vláhy (v rozsahu od 10 až 25 ml na 50 g půdy).

Z výsledků zachycených na obr. 4 je zřejmé, že vztahy, které jsme dříve pozorovali, jsou platné jen pro svrchní, několikacentimetrové vrstvy půd. V hlubších vrstvách půdy se vliv příliš vysoké koncentrace vláhy uplatňuje nepříznivě.

Projdeme-li všechny dosud uvedené pokusy, vidíme, že závislost hodnot katalytické mohutnosti na mikrobiálních procesech v půdě je dostatek zřejmá. To znamená, že za hlavní složku k. m. můžeme považovat enzym katalasu. *Katalasa* je enzym uplatňující a tvořící se při oxydačních procesech. Musí být tedy vztah mezi intenzitou oxydačních procesů a mezi množstvím katalasy v půdě. Proto jsme si vzali za úkol prostudovat vztahy mezi hodnotami katalytické mohutnosti v půdě a mezi nitrifikačním procesem. Měření hodnot k. m. v půdách, inkubovaných s 1 % glukosy a různým množstvím vody jsme doplnili současným stanovením obsahu nitrátů.

Od dřívějšíka nám bylo známo, že přídavek 1 % glukosy do půdy vede k vymizení nitrátů, a to podle druhu půdy na kratší či delší dobu (12 dní u půdy G a 60 dní u půdy E). Souvisí-li změna hodnot k. m. s oxidačními procesy, měla by se tam, kde se zvýší hodnota k. m., zkrátit doba, po které se nitráty znovu v půdě objeví. Zde ovšem musíme vyjít z předpokladu, že glukosa neochromí proces nitrifikace v půdě a že dočasné vymizení nitrátů je spojeno jen s jejich zvýšenou spotřebou.

U půdy G, jak je zřejmé z předešlých pokusů, je největší zvýšení hodnot k. m. při inkubaci s 1 % glukosy a množstvím vláhý 25 ml na 50 g půdy. Očekávali jsme proto největší zkrácení doby, po níž se nitráty v půdě nevyskytují, právě u té varianty. A skutečně se ukázalo, že při koncentraci 25 ml na 50 g půdy se objevily nitráty již 6. den. Jak probíhal dále proces nitrifikace a zkracování doby vymizení nitrátů, vidíme z tabulky 20.

Tabulka 20. Průběh nitrifikace v půdě G inkubované s 1 % glukosy a různým množstvím vody

Počet dnů	Množství N/NO <sub>3</sub> v 1 kg půdy s různým množstvím vody				
	10 ml	15 ml	20 ml	25 ml	30 ml
6	—	—	—	4	—
9	—	—	4	12	7
11	st.	2	6	36	nestanov.

Porovnáme-li hodnoty k. m. s časovým průběhem znovuobjevení se nitrátů, musíme konstatovat shodu obou procesů. Při tom jsme si plně vědomi toho, že náš shora uvedený výklad o vztahu nitrifikace ke k. m. nemusí být správný. Závislost nemusí být současná, nýbrž následná. Pak by se zde spíše uplatňovalo vysvětlení, že katalytická mohutnost, která v převážné míře spočívá v enzymu katalase, je spojena se syntesou nové mikrobní hmoty. K této syntese je spotřebována glukosa. Čím dříve glukosa vymizí, tím dříve může nastoupit nitrifikační proces. Toto druhé vysvětlení by podporovalo i zjištění, že při zvýšení obsahu vody stoupá sice katalytická mohutnost, avšak produkce kyslíčitého se nemění.

V každém případě je výsledek tohoto pokusu zajímavý v tom směru, že nám otevírá nové pohledy na působení kombinovaných vlivů v půdě. Neboť přídavek glukosy k půdě má vždy za následek vymizení nitrátů; zvýšení obsahu vody v půdě má za následek snížení intenzity nitrifikačního procesu. (U půdy G byla po 6 dnech zjištěna hodnota nitrifikace tato: při 10 ml vody 100, při 15 ml 65, při 20 ml 60 a při 25 ml 12). Při současném přidání glukosy a zvýšení obsahu vody se nitráty objeví nejdříve tam, kde bychom je nejméně čekali, t. j. ve variantě s vláhou kolem 100 % a při tom se doba, po níž nitráty v půdě nezjistíme, zkrátí na polovinu.

Je přirozené, že jsme si platnost poznatku učiněného u půdy G ověřili ještě u dalších půd. Zjistili jsme, že u půdy J platí podobná, i když ne zcela stejná závislost, neboť:

při 10 ml vody je k. m. 47 a obsah nitrátů po 9 dnech 0  
 při 15 ml vody je k. m. 56 a obsah nitrátů po 9 dnech 35  
 při 20 ml vody je k. m. 32 a obsah nitrátů po 9 dnech 25  
 při 25 ml vody je k. m. 21 a obsah nitrátů po 9 dnech 0

U půdy U je závislost stejná jako u půdy G. Zde při stoupajícím obsahu vody 10, 15, 20, 25 ml na 50 g půdy stoupá katalytická mohutnost z 44 na 58, 61 a 0. Obsah nitrátů po 6 dnech je 0, stopy, 21 a 32 mg.

Z celé práce je zřejmé, že dosažené výsledky, i když jsou zajímavé a mění v řadě případů naše názory na závislost biochemických procesů v půdě, jsou vlastně prvními orientačními body, z kterých je nutno vycházet k dalším zjištěním. Řada věcí zůstává nevysvětlena, některé poznatky jsou snad platné jen pro uvedené půdy. Podstatu zde studovaných jevů je třeba poznat ještě hlouběji.

#### *Souhrn*

V práci byla provedena řada pokusů, kterými jsme prokázali souvislost katalytické mohutnosti půdy s mikrobiálními procesy. Zároveň jsme prostudovali některé závislosti mezi hodnotami katalytické mohutnosti a běžnými procesy v půdě, jakými je produkce kyslíčnatého nebo proces nitrifikace.

Studium katalytické mohutnosti nás přivedlo k zajímavému poznatku, že faktory, které osamocně působí na proces nitrifikace nepříznivě, ztrácí při současném působení ve značné míře tento nepříznivý vliv.

#### Literatura

- Bernát, J., Seifert, J.: *Biologická aktivita půd*. Biológia 10 : 285, 1955.  
Eyster, H. C.: *Toxicity of micronutrients toward corn leaf catalase*. Ohio Sci. 54 : 145, 1954.  
Káš, V.: *Příspěvek k vysvětlení fyziologicky různého chování půdy vlhké, vyschlé a několikrát vysoušené*. Sborník ČAZ 1 : 89, 1926.  
Káš, V.: *Mikrobiologická charakteristika klimatogenních půdních typů*. Sborník ČAZ 14 : 86, 1939.  
Klika, J., Novák, V., Gregor, A.: *Praktikum fytoecologie, ekologie, klimatologie a půdoznalství*. Praha, 1954.  
Novák, V., Crha, B.: *Katalytická mohutnost železitomanganových kongrecí půdních*. Sborník ČAZ 14 : 310, 1939.

#### Микробиологические процессы и каталитическая способность почвы

*Я. Зайферт*

#### Резюме

Был поставлен ряд опытов с целью определения сущности каталитической способности почвенного покрова пашен. Опыты должны были показать, в чем состоит взаимосвязь между продукцией каталазы и микробиологическими процессами.

В результате инкубации почвы при 60% абсолютной влаге и при температуре 25 °C каталитическая способность почвы повышается. Она повышается еще больше в случае инкубации при тех же условиях, но с прибавлением глюкозы. Повышение каталитической способности почвы в общем прямо пропорционально количеству добавляемой к ней глюкозы. Коэффициент повышения у разных видов почв бывает разный. Если к почве, инкубируемой с глюкозой, прибавить 0,1% NaNO<sub>3</sub>, максимум каталитической способности достигается быстрее, но её степень (высота) не меняется. При инкубации почвы с различными количествами глюкозы при 60% абсолютной влаге величина каталитической способности бывает пропорциональна продукции CO<sub>2</sub>. Если количество воды при инкубации некоторых почв с глюкозой превышает 60%, каталитическая способность возрастает. Некоторые виды почв достигают максимума каталитической способности при 80% абсолютной влаге, другие же даже при почти 100%. Однако эта зависимость проявляется только в тех случаях, если слой почвы при инкубации не превышает 2—3 см. Анаэробизм вызывает снижение каталитической способности почвы.

Все эти наблюдения показывают, что каталитическая способность почвы в значительной степени зависит от деятельности микроорганизмов почвы и от энзима каталазы, продукта жизнедеятельности микробов. Так как продукция каталазы связана с окислительными процессами в почве, она должна, — если считать каталазу главным фактором каталитической способности почвы, — соответствовать интенсивности окислительных процессов. С целью проверки этого предположения мы исследовали в почве с глюкозой зависимость нитрификации от степени каталитической активности при наличии в почве различных количеств воды. Оказалось, что в результате повышения каталитической активности повышается и степень нитрификации. Поэтому мы считаем доказанным, что каталитическая способность

верхних слоев почвы в значительной степени обуславливается каталазой, как продуктом деятельности микробов.

При этом само по себе доказательство влияния каталазы на каталитическую способность почвы еще не так существенно, как то, что при инкубации с 1% глюкозы некоторые почвы начинают производить нитраты раньше, если они насыщены водой до 100% влагоёмкости, чем при меньшем содержании воды: ведь присутствие глюкозы само по себе, как и повышение содержания воды до 100% абсолютной влагоёмкости, — в значительной степени подавляют процесс нитрификации.

## Microbiological Processes and the Catalytic Power of Soil

*J. Seifert*

### Summary

A series of experiments was carried out with the aim of testing the basis of the catalytic power of soil in arable land. The purpose of these experiments was to demonstrate the relationship between the production of catalase and microorganic processes.

Incubation of soil at 60% absolute water capacity and at a temperature of 25°C resulted in an increase in the catalytic power of the soil. The catalytic power of soil is increased still further if the soil is incubated under the above conditions with the addition of glucose. The increase in catalytic power is, on the whole, proportionate to the amount of glucose that has been added. The coefficient of the increase varies in various soils. If 0.1%  $\text{NaNO}_3$  is added to a soil incubated with glucose, maximum catalytic power is quickly reached. The degree of catalytic power is not, however, changed. If soil is incubated with varying amounts of glucose at 60% absolute water capacity, the degree of catalytic power is proportionate to the production carbon dioxide. If the amount of water in some soils incubated with glucose is raised above 60%, catalytic power increases. Some soils reach maximum catalytic power at 80% absolute water capacity, others between 80% and 100%. This relationship only holds good, however, as long as the soil is not incubated to a depth exceeding 2—3 cms. Aerobiosis results in a decrease in the catalytic power of soil. All these findings indicate that the catalytic power of soil depends to a large extent on the micro-organic activity of the soil, and that in this the catalase enzyme, which is produced in vital micro-organic processes, plays a leading part. In view of the fact that the production of catalase is connected with oxidation processes in the soil, it must—if we regard catalase as the main factor in catalytic power—correspond to the intensity of the oxidation processes. We therefore studied the relationship of nitrification in soil incubated with glucose to the degree of catalytic power, in the presence of varying amounts of water in the soil. It was observed that an increase in catalytic power results in increased nitrification. In our view this demonstrates that the catalytic power of the upper layers of the soil is caused to a large extent by micro-organic catalase.

The actual demonstration of the influence of catalase on the catalytic power of soil is not in itself so important a finding as the fact that certain soils, when incubated with 1% glucose, begin to produce nitrates sooner if saturated to 100% water capacity than if saturated to a lesser degree. At the same time it is also known that glucose by itself considerably inhibits the process of nitrification, as does also an increase in the content of water to 100% capacity.



## Z p r á v y

## Na sovětských mikrobiologických pracovištích

Akademik IVAN MÁLEK

Za svého třineďlního pobytu v Sovětském svazu, kde jsem se seznamoval s dnešním stavem biologických věd i projednával cesty dalšího rozvíjení vzájemných styků i konkrétní spolupráce, jsem se pochopitelně z největší části zajímal o svůj vlastní obor, mikrobiologii. V této své zprávě podám stručný přehled svých zkušeností z tohoto úseku, v ostatním odkazuji na svou zprávu ve Věstníku ČSAV (65 : 124, 1956). Smyslem a účelem této mé zprávy je ukázat, na jakých otázkách se v ústavech, které jsem navštívil, pracuje, aby tak naši mikrobiologičtí pracovníci mohli již přímo navazovat spolupráci s pracovišti, která pracují na obdobném tematu. Je totiž nyní nejdůležitější a je to také přáním všech vědeckých pracovišť i pracovníků sovětských, abychom od *vzájemného poznávání přecházeli k vzájemné konkrétní spolupráci*, která bude nejen na prospěch oběma stranám, ale mnohonásobně znásobí naše společné síly. Všeobecně bylo konstatováno, že k takové konkrétní spolupráci jsou na většině úseků vytvořeny nejlepší předpoklady a *záleží nyní jen na nás jako celku i na každém jednotlivě, jak budeme umět tuto novou situaci naplnit a rozvinout.*

Moje zpráva je ovšem jen zcela nedokonalým nástrojem takového rozvíjení spolupráce, vždyť to při obrovském rozsahu sovětské vědy a velkém počtu mikrobiologických pracovišť na celém území Sovětského svazu ani není jinak možné. Ale je nástrojem prvního přiblížení, které musíme dále rozvíjet a pro něž musíme všichni společně hledat další cesty. Zpráva je neúplná i z těch pracovišť, která jsem navštívil, poněvadž v době mého pobytu se ještě na některých pracovištích dokončovaly prázdninové opravy, řada pracovníků se dosud nevrátila z dovolených. Proto prosím, aby byla přijata ne jako nějaký úplný výčet, ale jako řada podnětů a údajů, které vyplynuly z mé cesty. Za svého pobytu jsem se seznámil s některými pracovišti mikrobiologického výzkumu jak obecného, základního, tak zdravotnického, zemědělského i kvasného. V tomto pořadí podám o nich zprávu.

## A. Pracoviště obecné mikrobiologie

*Mikrobiologický ústav AV SSSR*

Moskva, (Bolšaja Kalužskaja 33), ředitel člen korespondent AV prof. A. A. Imšeneckij. Má kolem 150 pracovníků nepočítaje v to administrativní. Úkoly tohoto ústavu jsou vymezeny tím, že se má zabývat základním výzkumem mikroorganismů mimo mikroorganismy patogenní. S ústavem jsem se letmo seznámil již před 5 lety a možno říci, že za těch 5 let se celková náplň ústavu a jeho laboratoří podstatně nezměnila. Má 8 oddělení:

1. Oddělení proměnlivosti a dědičnosti mikroorganismů, vedené prof. Imšeneckým. Řeší obecné principy selekce, a to jednak na základě vztahu změn fyziologických k morfologickým změnám kolonií (zvláště u penicilí, kvasinek), jednak studiem účinku prudce účinkujících činitelů. Vedle toho se studují i otázky nitrifikace, podařilo se jim získat čisté kultury nitrifikátorů a snaží se určit roli jejich průvodců.

2. Oddělení vzájemných vztahů mikroorganismů, vedené členem korespondentem AV N. A. Krasnikovem. Práce tohoto oddělení jsou u nás většinou známy. Jsou zaměřeny na otázky antagonismu, jeho role, jeho význam pro systematiku mikroorganismů. Pracuje na nové systematice aktinomycet. Soustřeďuje se na studium použití antagonistů a antibiotik proti chorobám rostlin.

3. Oddělení funkcionální morfologie, prof. M. N. Mejsel. Toto oddělení, jehož výsledky známe především z vynikající Mejselovy knížky o funkci morfologii kvasinek, rozvinulo v poslední době tematiku především směrem k využití isotopů v mikrobiologickém výzkumu. Kromě otázek metodických, které mají umožnit hlubší a komplexnější studium morfologické, biochemické i fyziologické (v tom smyslu byla také zaměřena jeho přednáška na ženevské konferenci), řeší i otázky jejich praktického využití. Vidí je jednak ve vypracování metod chladné sterilisace v potravinářství, kde by bylo možno využít části odpadových radioaktivních látek; i když nedochází k úplné sterilisaci, takže účinek se blíží spíše pasteurisaci, zdá se, že je možno s tímto účinkem v praxi počítat. Jiné praktické použití vidí v otázkách selekčních; tak na příklad se jim podařilo podstatně zvýšit mikrobiální produkci ergosterinu. Možnost využití isotopů se jeví i v jiné tradiční otázce tohoto oddělení: mikrobiální titraci vitaminů, kterou je možno využít isotopů zkrátit na 4 hod. V úseku vitaminové práce dosáhli úspěchu v produkci riboflavinu, kde dosahovali až 3 mg vitaminu v 1 g suchého produktu.

Vedle těchto otázek rozpracovává oddělení i nástroje funkčně morfologické práce: mikroskopy. Jejich spolupráce má podíl na novém, velmi dokonalém universálním mikroskopu, který se vyrábí v Leningradě a je v prodeji pod značkou MBI-6, dále na mikroskopu luminiscenčním a anoprtrálním (podobný zdokonalenému fázovému).

4. Oddělení půdní mikrobiologie vede člen korespondent E. N. Mišustin. O práci tohoto oddělení jistě podá podrobnější zprávu dr. J. Macura, který v něm pracoval delší dobu, omezím se jen na krátký přehled. Především se dále rozpracovávají otázky mikrobiálních asociací v půdě, a to především ve směru studia rozkladu humusu. Hlavní pozornost při tom soustřeďují na aktinomyceety, které hrají při rozkladu humusu nejdůležitější roli. Navazují na činnost pseudomonad, které odštěpují povrchnější aminokyseliny. Rozklad probíhá pomalu (za 0—8 měsíců 50 %), pakliže se nechají aktinomyceety účinkovat na větší koncentrace, jež působí na mikroby toxicky; pracuje-li se s menšími koncentracemi, pak rozklad probíhá podstatně rychleji.

Jako další otázku řeší specifický význam plísní v půdě, v této době hlavně penicilií. Nacházejí rozdíly v zastoupení penicilií a aspergilů mezi severem a jihem, stejně tak jsou různé zastoupeny jednotlivé skupiny (sekte) penicilií. Jedna aspirantka se zabývá i otázkou fusarií v rhizosféře rostlin.

Dále se studuje role nesporulujících bakterií; při tom nebyly nalezeny nějaké podstatné rozdíly v jednotlivých typech půd, spíše zjištěny rozdíly (u pseudomonad) pod různými rostlinami; doporučují mluvit o dominanci, nikoliv o specifitě jednotlivých druhů.

Oddělení řeší i praktické úkoly: rozpracovávají dále otázky bakteriálního hnojení, zjistili, že neúspěch při použití azotobaktera (asi 50 %) je způsobován antagonismem penicilií a lze jej odstranit použitím organického komplexu. Společně s Edelštejnem pracovali metody použití azotobaktera v rašelinových balíčcích při sázení zeleniny (zelí, rajčata) i kukuřice s pozoruhodným výsledkem (až 40 % zvýšení). Řešili otázky nízkého vzházení semen esparcetu a zjistili, že to způsobuje přítomnost alternarie, kterou lze odstranit loupáním semen. Účastnili se konference pro mykotronii a podílejí se i na výzkumu Malcevovy metody.

5. Oddělení mořské mikrobiologie, spojené s laboratoří nových vyšetřovacích principů a s kabinetem elektronové mikroskopie, vede A. A. Kriss. Práce tohoto oddělení je u nás známa v poslední době hlavně z výzkumů mikrobů v hloubkách ledového moře, které byly uskutečněny na plovoucích kráčích severního pólu. Tyto práce jsou součástí celého systematického výzkumu, který byl uskutečněn i v Černém moři, v Kaspickém jezeře, v Tichém oceánu u Kurilských ostrovů. Práce, při nichž bylo užito především metody kolodiových filtrů, přinesly velmi překvapující výsledky, ukázaly existenci mikrobů, z nichž některé se nepodařilo dosud uměle vypěstovat, některé však patří na příklad i ke kvasinkám, v hloubkách, kde vůbec je otázka, z jakého zdroje berou energii pro své životní děje. Byly zjištěny i útvary, které tvarem i velikostí připomínají filtrovatelné viry.

Kromě těchto otázek řeší se v laboratoři jako tradiční téma otázka bakteriofága. A. A. Kriss nepokládá bakteriofágy za živý organismus, nesouhlasí s tím, že akce bakteriofága začíná tím, že se jeho částice adsorbují na povrchu bakteriální buňky. Za elementární částice fága pokládá zrnka, ze kterých jsou složeny nitovité útvary, jež je možno získat působením vysokých tlaků na bakteriofága. Pomocí elektronové mikroskopie se studuje i chřipkový virus, u něhož velmi jednoduchou metodou, založenou na schopnosti adsorbovat se na membránu, byly přímo z kuřecího zárodku získány vedle běžných virových částic ještě zvláštní nitovité útvary.

V kabinetu elektronového mikroskopu pracují s velkým sovětským mikroskopem, na kterém soustředili celou řadu zlepšení, což umožňuje plynulý přechod od malých po velká zvětšení. Vypracovali přesnou metodu pro stanovení rozlišovací schopnosti elektronového mikroskopu, zavedli na tkáni svalové, rostlinné i na bacilech metodu ultratenkých řezů.

6. Oddělení výzkumu virů — člen korespondent AV SSSR V. L. Ryžkov. Práce tohoto oddělení byla představena na virologické konferenci samotným Ryžkovem, nebudu se proto o ní šířit.

7. Oddělení technické mikrobiologie, které vede akademik V. N. Šapošnikov a pracuje na něm u nás dobře známý prof. N. D. Ijerusalimskij, který je současně zástupcem ředitele ústavu. V tomto oddělení se pokračuje na známých pracích Ijerusalimského o sporulaci bacilů (máselného kvašení). Pomocí dvojvrstevných mikrokomůrek se řeší fáze sporulace; tak na příklad zjistili, že ve spojení s procesem sporulace prudce klesá počet mikrobů, které vytvoří při rozsevu kolonie a nový vzestup nastává teprve po skončení sporulace. Pracuje se na průtokové kultuře při aceton-butanovém kvašení, na produkci vitamínu B<sub>12</sub> bakteriemi propionovými, aktinomycetami a mikroblem *Bacillus megatherium*. Řeší se biochemismus některých antibiotických aktinomycet, zvláště vztah aminokyselin k produkci.

8. Oddělení geologické mikrobiologie vede S. I. Kuzněcov. Tato laboratoř známá svou účastí na studiu bakterií provázejících ložiska nafty, rozpracovává podrobněji otázky spojené se sirnými bakteriemi. Pomocí isotopů studují fotosyntesu bakterií purpurových, hledali cestu k zabránění koroze způsobené sirnými bakteriemi v Kujbyševské přehradě (ukázali, že lze použít formalinu, který v okruhu 200 m dovede odstranit zdroje těchto sirných bakterií). Studují otázky organického i minerálního hnojení rybníků.

Kromě těchto oddělení je třeba se zmínit ještě o práci V. I. Kudrjavceva, který se zabývá otázkami proměnlivosti a systematiky kvasinek (jeho monografie je k dispozici v Biologickém ústavu ČSAV).

To je stručný přehled činnosti Mikrobiologického ústavu. Souhrnné možno vyzvednout neobyčejnou šířku práce tohoto ústavu, dále to, že v jeho práci zakotvilo již užívání metodiky isotopové. Naproti tomu se mi zdá, že je málo zastoupena práce na otázkách biochemie a fyziologie mikroorganismů. To je částečně vyvažováno prací *Biochemického ústavu AV SSSR*, kde na otázkách biochemismu mikroorganismů pracuje prof. A. N. Bělozerskij (otázky biochemických změn v ontogenezi u aktinomycet, zvláště ve složení nukleových kyselin, jaderných látek u bakterií, forem fosforové vazby u azotobaktera,

volutinu, antigenních struktur ve spojení s proměnlivostí). Tento nedostatek ústavu má být odstraněn v proponované novostavbě ústavu, kde se nadto počítá s laboratorii pokusných provozů, s laboratorii biofyzikální a se sbírkou kmenů, spojenou s laboratorii systematiky. Dosavad totiž není v ústavu jednotné takové sbírky, ale při jednotlivých odděleních jsou připojeny bohaté sbírky kvasinek, bakterií a aktinomycet.

*Katedra mikrobiologie na biologické fakultě Státní Lomonosovy university v Moskvě*, vedoucí akademik Vlad. Nik. Šapošnikov.

Je umístěna v nové budově fakulty na Leninových horách. Tak jako jiné katedry (na příklad rostlinné biochemie, vedená Bělozerským) má dvě části — výzkumnou a výukovou. Výuky studentů, kterých je 20 v jednom ročníku a na katedru přicházejí ve 3. ročníku, se účastní dále prof. Ijerusalimskij a prof. Mejsel', 3 docenti a 3 asistenti. Ve 3. ročníku mají vedle obecného kursu půl roku praktikum a půl roku speciální kurs, věnovaný standardisaci produktů výroby; ve 4. ročníku mají paralelně technickou a půdní mikrobiologii. Souběžně s přednáškami musí absolvovat ve velkém praktiku 5 velkých úkolů, věnovaných kvasinkám, bakteriím, dále mají izolovat samostatně některý mikroorganismus a rozebrat jeho činnost (na příklad producenta antibiotika, vyvolavatele chorob rostlin a pod.), ve 4. a 5. úkolu se pak pod vedením akademika Šapošnikova hodnotí soudobé úkoly fyziologie mikrobu. V 5. roce studenti pracují na diplomové práci. Na katedře toho času pracuje 9 aspirantů.

Ve výzkumných laboratorních katedry pracují 4 vědečtí pracovníci a 3 laboranti. Vedle toho je mezikatedrová laborator antibiotická, vedená N. S. Jegorovem, která jednak vychovává kádry, jednak řeší sama některé výzkumné otázky. Základním zaměřením práce je fyziologie mikroorganismů jako základ jejich ovládnutí a ve spojení s jejich využitím ve výrobcích.

*Mikrobiologický ústav Zabolotného AV USSR*

Kyjev, Bolšaja Žitomirskaja 28. Ředitel akademik V. T. Drobotko. Má 6 oddělení, 81 pracovníků, z toho 34 vědeckých.

1. Oddělení obecné mikrobiologie, vede člen korespondent Ukrajinské AV L. I. Rubenčik. Studuje využití azotobaktera, hlavně místních kmenů, vychovává kmeny pro různé plodiny (pšenici, cukrovku, bavlník, brambory), studuje možnosti vysušených preparátů. Takto připravené kmeny zvyšují v podmínkách Ukrajiny úrodu o 10—20 %. Dnes jich používají i v kyselých půdách Polesí po organickém přihnojení a vápnění.

2. Oddělení rostlinných bakterios; před válkou řešili otázku gumosy bavlníku, proti které našli cestu v termochemické přípravě semen. Nyní pracují i na otázkách viros.

3. Oddělení průmyslové a technické mikrobiologie; pracují zde na otázkách boje proti bakteriofagu při výrobě mléčné kyseliny, kde vypracovali účinná opatření, vypěstovali kmeny pro výrobu kyseliny mléčné, které nemají vitaminových nároků, řeší otázky aceton-butanolového kvašení, stimulace uzrávání sýrů, polokontinuální metody lihového kvašení.

4. Oddělení patogenních mikroorganismů. Před válkou řešili otázku těžkého onemocnění koní, stachiobotriomykosis; prokázali, že onemocnění je způsobeno toxiny zvláštního druhu plísně (*Stachybotrys alternans*) a že vzniká po krmení slámou. Dále pracovali na otázkách brucellosy, vypracovali úspěšný léčebný postup sulfonamidů. Po válce se soustředili na otázky antibiotik, zvláště rostlinného původu; do praxe dali antibiotikum imanin, které se osvědčuje při zevním podávání zvláště při spáleninách, neboť vedle antibiotického účinku stimuluje regeneraci tkání, takže se jim podařilo vyléčit i nemocné s 59 a 62 % popálení, a to bez stahujících jizev. Zjistili, že i řada alkaloidů účinkuje výběrově na mikroorganismy.

Studují též antibiotické vlastnosti z jednoho kmene penicilia; isolovali krystalické antibiotikum, které nazvali mikrocid. Mimo to toho času studují ještě 2 jiná antibiotika, izolovaná z plísní. Studuje se i vliv antibiotik na choroby rostlin. Použitím rostlinných antibiotik dosáhli skvělých výsledků u rajčat, zdvojnásobili úrodu; u pšenice látka typu alicinu zvýšila úrodu o 20 %.

5. Oddělení mykologické. Studuje plísně, které se vyskytují v krmivu a vyvolávají odtud toxická onemocnění, dále plísně škodící v obilních skladech, mykofloru škodlivou i užitečnou na kořenech kulturních rostlin (pšenice, ječmen, vojtěška), konečně systematiku fusarií.

6. Oddělení proměnlivosti — P. E. Vizir. Pokoušeli se o „vegetativní hybridisaci“ u *Escherichia coli*, tím že ji pěstovali na produktech (po autolyse) *Salmonella typhi murium*; získali kmeny blízké se uvedenému salmonele. Se *Salmonella typhi* dostali jen „rozkývané“ kmeny. Vedle toho studovali filtrovatelné formy u *Salmonella typhi murium*, dostávali je pravidelně ze starých kultur. Získané kultury, regenerované Sukněvovou metodou, byly velmi různotvaré, často chromogenní, změněné antigenně, i biochemicky (většinou neaktivní nebo alkalizující). Kmeny změněné jsou většinou nepatogenní čtyřikrát však získali zpět plně patogenní výchozí bakterium. Některé změněné kmeny byly dobře imunogenní.

7. Oddělení biochemie mikroorganismů, spolupracuje s laboratořemi předchozími.

V tomto ústavě, který ještě nese stopy velkých ztrát za vlastenecké války, se projevuje zvláště velké přání po užší spolupráci s pracovišti našimi.

#### B. Pracoviště lékařské mikrobiologie

*Gamalejův ústav epidemiologie a mikrobiologie*

Pracoviště Akademie lékařských věd v Moskvě, největší ústav tohoto druhu, jsem tentokrát navštívil jen zcela povrchně. Měl jsem pohovor s jeho ředitelem, u nás dobře známým, naším vynikajícím přítelem

akademikem G. V. Vygodčikovem, i jeho zástupkyní prof. Veršilovou, známou svými pracemi o získání kmenů pro živou vakcinu proti brucelose. Avšak pracovní náplň tohoto ústavu je u nás dostatečně známa, a to ať ve své složce výzkumné výrobní, neboť u nás pracovala jeho význačná spolupracovnice, prof. Beilinsonová, ať ve své složce čistě výzkumné nebo výzkumné epidemiologické. Jsou známy práce Zilberovy o virové etiologii zhoubných nádorů, práce Trojického o patogenese i léčení dysenterie, imunologické práce Zdrodovského, parazitologické práce Petriševy; práce o tularémii prof. Olsufjeva, o leptospirách prof. Ananina, práce Planjelesovy o účinku antibiotik. Ostatně jiní naši pracovníci (Raška, J. Málek) měli v nedávné době příležitost seznámit se s ústavem podrobněji od kazují proto na ně.

Já jsem měl možnost poznat blíže pracovní náplň druhého největšího ústavu v Moskvě podobného typu:

*Mečnikovův ústav vakcín a sér*

Tento ústav, pracující již 36 let, má výzkumné laboratoře v Moskvě a rozsáhlou výrobní základnu (asi 500 lidí) 40 km od Moskvy. Je to ústav, stojící na zásadě spojení výzkumu s výrobou, neboť zlepšovat a doplňovat výrobu sér a očkovacích preparátů lze jen ve spojení s výrobou. Proto i nesouhlasí se stavem u nás, kde pracuje výroba jako výrobní závod a od ní oddělené výzkumné ústavy. Ve svých moskevských laboratořích, trpících tím, čím většina výzkumných ústavů v Sovětském svazu, že jejich pracovní náplň roste rychleji než laboratoře a budovy, přivítá nás hned u vchodu výstavka dokumentů ze života I. I. Mečnikova, jehož tradice je pracovní linií ústavu. Tematika ústavu je dána jednak úkoly výrobními, jednak úkoly epidemiologickými. Ústav má tato oddělení:

1. Oddělení epidemiologické pracuje především na otázkách střevních nákaz (zkracování doby rekonvalescence, rezistentní bakterie a jejich epidemiologický význam, otázky bacilonosičství, atypické bakterie při dysenterii, laboratorní diagnostika, výběr kmenů pro vakcinaci), dále na otázkách dětských nákaz (difterie, zvláště u očkovaných, význam netoxických kmenů difterických, mikrobiální faktor u záškrty); řeší otázky leptospiros (ohniskovost, klasifikace, účinnost očkovacího preparátu, připravovaného velmi jednoduše z kultur v destilované vodě a usmrcených teplem, který už 2 roky zkoušejí s úspěchem v terénu); tularémie, u níž chtějí vypracovat očkovací látku typu plného antigenu.

2. Oddělení mikrobiologické (Krestovnikova). Má laboratoř mikrobiologickou a imunologickou. Prvá navazuje na předchozí práce Krestovnikové s filtrovatelnými formami a rickettsiemi, dále řeší otázky antigenů u úplavických bakterií (volantigen s labilní složkou), zabývá se filtrovatelnými formami bakterií tyfových, které prý získává zcela zákonitě. Imunologická laboratoř studuje obecné reakce na vpravení antigenu a otázky imunity proti původcům plynaté sněti; z *Cl. perfringens* isolovali účinný antigen typu volantigen, nyní totéž zkouší u *Cl. septicum*.

3. Oddělení virologické (Solovjev). Řeší na rozdíl od *Virologického ústavu Akademie lékařských věd* hlavně otázky praktické — přípravu nových očkovacích preparátů. Má především laboratoř chřipkovou, kde řeší především otázku výroby vakcíny (je umístěna přímo v ústavu v Moskvě) a s tím spojenou otázku proměnlivosti viru (prokázán přechod viru A v A prim.), dále vyrábějí léčebné a profylaktické serum, které má dobré výsledky; mají stálou epidemiologickou kontrolu. Laboratoř neštovic rozpracovává přípravu vakcíny na kuřecích zárodech, která je daleko hospodárnější (z 1 zárodku možno připravit 400—500 dávek), možno lépe regulovat její virulenci (vyrobili již na 1 milion dávek této vakcíny). Vypracovali přesnou metodu pro kontrolu účinnosti vakcíny, tím že připravili vysokovirulentní kmen, který ve zředění  $1 : 10^{-6}$  vyvolá prudké smrtelné onemocnění králíků. Laboratoř vztekliny: v řešení vztekliny, která je velmi aktuální, má ústav vedoucí úlohu. Vypracovali nový typ vakcíny na embryonech (suchá, plně stabilní), mají  $\gamma$ -globulin z koňského séra jako doplněk při vakcinaci nebo pro léčbu při kontraindikaci vakcíny a starají se o zlepšení boje v terénu. Laboratoř teoretické imunologie studuje otázky imunity na kulturách tkání z organismů vnímavých a nevímavých. Laboratoř neuroinfekcí rozpracovává sérum proti zánětu mozku i jeho  $\gamma$ -globulin, bude pracovat na vakcíně proti poliomyelitidě.

4. Oddělení výrobní (N. A. Ponomareva). a) Hlavním tématem je výzkum  $\gamma$ -globulinů. Zvláště významný je jejich  $\gamma$ -globulin proti spalničkám a pertussi, který připravují v dostatečném množství hlavně z krve placentární (měsíčně zpracují asi 1500 l séra!) — mají dokonale zorganizován sběr placentární krve. Zlepšili výrobu  $\gamma$ -globulinu proti spalničkám, rozpracovali i druhé frakce ( $\beta$ -globulin); připravují suchý  $\gamma$ -globulin i z jiných sér (protimorové, kravské proti černému kašli, proti encefalitické).

b) Oddělení polyvakcíny (smíšená vakcína protisalmonelová — Ginsbug-Kalinina). Bakterie se namnožují pro vakcinu hloubkovou kultivací ve fermentorech obdobných, v jakých se vyrábějí antibiotika. Kromě otázek samotného antigenu se studuje otázka mechanismů získané imunity, zvláště lokalizace antigenu (na příklad tyfového antigenu v plicích!), otázka vakcinačního intervalu, místa podání, role spánku při tvorbě protilátek, reakce na různé antigeny. Vedle toho vypracovali způsob konzervace komplementu, který teď v suchém stavu společně s hemolysinem distribují pod názvem „aktivin“.

c) Laboratoř záškrtová. Hledají vlastní kmen místo P-W 8 pro přípravu anatoxinu, vyrábějí anatoxin čištěný, adsorbovaný, rozpracovávají výrobu bianatoxinu (proti záškrty a tetanu). Vyrábí se serum protizáškrtové, protitetanické a protigangrenosní.

5. Oddělení klinické se zabývá hlavně dysenterii. Ústav vyvíjí velmi intenzivní činnost v přípravě svých kádrů, pořádá pravidelné ústavní vědecké konference s účastí i mladších pracovníků.

*Pasteurův ústav vakcín a sér v Leningradě.*

Ředitel M. P. Bělov. Vědecký zástupce ředitele A. V. Ponomarov. Ústav je umístěn na teritoriu slavného Ústavu experimentální medicíny, v jehož lůně původně vznikl. Má ovšem výrobní základnu mimo Leningrad. V ústavě je velmi dobře rozpracována především výroba bakterinu protisalmonelozám a dysenterii, opět hloubkovým způsobem ve 4 „reaktorech“, v nichž dosahují koncentrace 60—70 miliard mikrobů v 1 ml. Dále ústav vyrábí pod přímým dohledem prof. Smorodinceva velmi účinnou vakcínu proti chřipce (4 miliony dávek ročně), připravují i léčebné serum proti chřipce, diagnostika, krystalický tuberkulin a j.

Současně s tímto ústavem jsem navštívil hned v sousedství v *Epidemiologickém a mikrobiologickém ústavě* virologickou laboratoř, vedenou prof. A. A. Smorodincevem. Její práce je u nás dostatečně známa, nebudu se proto o ní šířit. Jen chci zdůraznit velký význam teoretický i praktický experimentální práce, která se zde uskutečňuje s řízenou proměnlivostí chřipkového viru pod účinkem protilátek, jež jednak vede k prognose typu kmene, který se vyskytne v příští epidemii, jednak může vést k vytvoření kmene s polyvalentními antigenními vlastnostmi. V poslední době zahajuje laboratoř práce na přípravě vakcíny proti poliomyelitidě. Ještě jeden výrobní, epidemiologický a výzkumný ústav jsem letmo navštívil v Kyjevě. Je to

*Epidemiologický a mikrobiologický ústav ministerstva zdravotnictví USSR.*

Jeho vědecká část, kterou vede u nás dobře známý autor učebnice epidemiologie prof. Gromaševskij, má asi 65 vědeckých pracovníků a pracuje na otázkách epidemiologických (zvláště dysenterie, spála, chřipka, ale i vzteklna, brucelosa, tularémie, v poslední době Q-horečka, která se vyskytla na Krymu, ale i helmintologie), na otázkách imunologických (mechanismus účinku toxických látek, sumace podprahových podráždění, rozpracovali patogenetický model dysenterie na kočkách, podmíněné reflexy v tvorbě imunity), ale i na otázkách rakoviny (prof. Timofejevskij zde pracuje na otázkách virového původu rakoviny).

Má tyto laboratoře: Laboratoř epidemiologickou; mikrobiologickou (toxiny shigel); lab. střevních nákaz (proměnlivost dys. tyčinek se vznikem alkalisujících nebo žlutých kmenů); lab. dětských nákaz; lab. virových onemocnění; lab. lékařské parazitologie; lab. imunologickou; lab. patofysiologickou (zde se řeší otázky podmíněných reflexů v imunitě — N. M. Berežnaja; lab. desinfekce; lab. zoonos; lab. etiologie nádorů; lab. bioterapie rakoviny; lab. biochemie.

I v tomto ústavě jsem se setkal s velkým přáním prohloubit přímý styk s našimi pracovišti. Je to tím závažnější, že u nás až dosud je tento ústav málo znám a má mnoho společného s problematikou naší. Zvláště pozoruhodný, pro nás velmi poučný, a opět po konkrétní spolupráci volající je vynikající ústav pro studium infekčních nemocí:

*Ústav infekčních onemocnění Akademie lékařských věd*

(Kyjev, Citadel, No 11). Veden členem ALV, prof. I. L. Bogdanovem. Tento ústav je pro nás poučný jednak proto, že vzorným způsobem spojuje laboratorně experimentální práci s prací klinickou, jednak proto, že jeho problematika je velmi blízká problematice některých našich ústavů. Tím větší je chyba, že je dosud u nás neznám a spolupráce s ním neexistuje.

Jeho část klinická má 150 lůžek, rozdělených mezi chřipku, dysenterii a spálu, poliklinické oddělení a klinické laboratoře. Experimentální část má laboratoře: epidemiologickou s oddělením virologickým a bakteriologickým, lab. patofysiologickou a imunologickou, lab. patomorfológickou, radiologickou a velký zvěřinec, kde mimo jiná pokusná zvířata mají opice a fretky. Experimentální část pracuje v komplexní spolupráci s kliniky. O rozsahu ústavu svědčí, že v něm pracuje 220 pracovníků, z toho 53 vědeckých, a o úrovni to, že mezi vědeckými jsou 2 členové Akademie, 5 profesorů, 5 doktorů a 21 kandidátů věd.

Laboratoř patofysiologická (N. N. Sirotnin) řeší především otázky patogenesy dysenterie. Vyzkoušeli velký počet zvířecích druhů na citlivost vůči původcům dysenterie a prokázali, že nejcitlivější jsou opice (vyskytuje se i spontánní onemocnění), po nich medvědi (vzniká nosičství), dále kotata (onemocní v 50 % s typickým klinickým obrazem), psi a králci jsou citliví jen na endotoxin, sysli se mohou stát nosiči, ostatní zkoušení ssavci i ptáci jsou necitliví; z nižších může být přenašečem dešťovka. Patogenesu zkoušeli pomocí bakterií značených fosforem a prokázali, že infekce nejde lymfatickou cestou, v žaludku vydrží, ale nemnoží se, v dvanáctníku se rozmnoží a proniká dále (do jater), v tlustém střevě se objeví za několik dní. Další řešenou otázkou je chřipka. Řeší při tom otázky vlivu vyšší nervové činnosti (infekcí jsou narušeny u člověka podmíněné reflexy), prochlazení organismu, alergisace. Z bakteriálních nákaz řešili i listeriou (O. P. Lebeděva), isolovali kmény, které na rozdíl od typických kvasí i manit. Konečně studují i otázku antibiotik v průběhu onemocnění, vliv vitamínu C při infekci a pod.

Laboratoř radiologická studuje hlavně infekci při nemoci z ozařování.

Laboratoř mikrobiologická má především skupinu virologickou (N. P. Koňušenko), která řeší patogenesu chřipky, délku nosičství (u některých lidí zůstává virus až 40 dní), sezónnost, vztah mezi různými projevy a imunitou; isolovali kmény z několika set nemocných a na základě tohoto velkého materiálu došli k závažným závěrům o významu nosičství při chřipce. Další skupina pracuje na otázkách dysenterie; studuje délku úplavického procesu u dětí, faktory, které usnadňují nákazu (lamblia), imunitu chronické nákazy a proces asanace, léčbu syntomyceinem (chloramfenikol), biomyceinem. Třetí skupina řeší otázky spály; stojí pevně na etiologii streptokokové, studuje otázky léčby, časného propuštění

ve spojení se superinfekcí a komplikacemi, typisuje streptokokové kmeny, řeší možnosti čištění toxinu. Z dalších ústavů se jen letmo dotknu

*Virologického ústavu Akademie lékařských v Moskvě.*

I tento ústav má jedním ze základních temat chřipku; řeší především otázky spojené s přípravou živé vakcíny a její aplikace, prokázali, že ve výsledku není rozdíl mezi podáním intranasálním a inha-lačním, vypracovali komplex hygienicko-epidemiologických opatření při chřipce, zorganizovali chřip-ková střediska (dosud dvě na velkých závodech), došli k závěru, že desinfekce vzduchu má význam jen v dětských zařízeních; v diagnostice řeší otázky nespecifické inhibice a jejího odstranění (fysikálně chemickými metodami), začínají pracovat na otázce nechřipkových prudkých zánětů horních cest dýchacích; v epidemiologii řeší, zda větší úlohu hrají ohniska rodinná či na pracovištích; pro zdokonalení vakcíny hledají vhodné stabilisátory pro sušenou vakcínu. Druhým tematem je vzteklina; zkoušeli účinek vakcíny usmrcené UV světlem, vypracovali depotní vakcínu pro očkování psů, která se prověřuje v praxi, řeší základní otázky imunity u vztekliny. U spalniček se především snaží získat kmeny vhodné pro vakcinaci (používají štěňat), kmeny kultivují na pliní lidské tkáni, studují na opicích jak se přenáší mateřská imunita na novorozence. Ve studiu encefalitidy vypracovali suchou vakcínu, na dvou místech vyzkoušeli způsob likvidace ohnisek (vakcinace + DDT + HCH + dýmové prostředky), chystají dis-kusi o otázkách dvouvlnového zánětu a přenosu mlékem; pracuje se i na otázkách polysezónních nákaz, u mnohočetné sklerozy se pokračuje ve výzkumu vakcinace. U hepatitidy virologicky neměli úspěchu; diagnostickým úspěchem je vypracování specifické aldolásové zkoušky, která se již nyní prověřuje i u nás. Ryžkov studuje v ústavu vliv metabolitů a antimetabolitů (na příklad analogy vitamínů, kovy a pod.) na viry. Zvláštní pozornost je věnována pochopitelně poliomyelitidě a vakcinaci proti ní; dosud byl tento výzkum v Sovětském svazu jen slabě rozvinut, v nejbližší době však bude zřízen zvláštní ústav vedený prof. Čumakovem; z příkazu vlády bylo na něj věnováno 5 milionů rublů.

V posledních letech byl vytvořen pevný základ i pro výzkum antibiotik. Kromě pracovišť, o nichž jsem už uvedl, že řeší některé otázky antibiotik (Krasilnikovo oddělení v Mikrobiologickém ústavu Akademie věd, Mikrobiologický ústav Ukrajinské Akademie věd, katedra mikrobiologie na biologické fakultě Moskevské university) jsou pro tyto otázky zvláště dvě základní pracoviště: Ústav antibiotik ministerstva zdravotnictví SSSR v Moskvě a Laboratoř pro hledání nových antibiotik Akademie lékařských věd v Moskvě (prof. Gauze). S prvním jsem se mohl seznámit podrobněji, druhé bylo ještě ve stadiu oprav, takže jsem mohl jen prodiskutovat program a spolupráci.

*Ústav antibiotik ministerstva zdravotnictví SSSR*

v Moskvě (prof. Guberněv, zást. prof. Levitov).

Je umístěn v nové rozlehlé budově blízko jednoho z penicilinových závodů. Jeho úkolem je vypra-cování vědeckých základů výroby antibiotik. Má tato oddělení:

1. Biologická kontrola (Čajkovská) vypracovává metody biologické kontroly antibiotik, která jsou ve výrobě, s hlavním posláním nalézt takové rychlé metody, které by pomohly řídit provoz, dále B<sub>12</sub> (vyrábějí jej z odpadající kultivační tekutiny i z mycelu při výrobě streptomycinu a biomycinu). Sou-časně však se zabývají i hledáním nových antibiotik. Vypracovali metodu pro kontrolu fungistatických antibiotik (zkouší je na začátku na kvasinkových organismech, *Kloeckera*, *Monilia*, *Neurospora*); získali velmi účinné protiplísňové antibiotikum, které však způsobuje padání vlasů. Při hledání nových antibiotik sbírá expediční skupina jednak kmeny aktinomycet, jednak plísni a hledá zákonitosti jejich výskytu. Získané kmeny ověřují na dvou pevných půdách proti sporulujícímu bacilu *Escherichia coli*, stafylokokům a nepatogenním mykobakteriím; nato se zkouší v tekutých půdách zase jen proti sapro-fytům (na 2, po příp. 4 půdách); v této etapě rozšiřují zkoušky i na účinnost proti kvasinkovitým, pseudo-monadám a vibrii. Je-li kmen slibný, zkouší se pak na kmenech patogenních (salmonely, brucely), zvláště na resistantních proti penicilinu, streptomycinu, streptotricinu. Pak zkoušejí toxicitu na zví-řatech, inaktivaci serem a hledají nevhodnější fermentační půdu. V 1. etapě získávají asi 60—70 % antagonistických kmenů, v 2. etapě z nich 70—80 % odpadá, chemikům pak dávají zcela ojedinělé (v plánu mají asi 3—4 za rok). Většina izolovaných antagonistických kmenů aktinomycet produkuje streptotricin.

2. Oddělení selekce (Aličaňan). Vyzkoušeli účinek prudkých činitelů (dosáhli 25 % zvýšení), ale přešli hlavně na metody hybridisace. Zvláště významný úspěch měli u penicilí: využili skutečnosti, že u nich vznikají hned po vyklíčení často mezi sporama anastomomy a spojovali tak penicilia různých druhů (*P. notatum* × *nigricans*). Získané kmeny jsou velmi citlivé na prudce účinkující látky. Dosáhli více než 50 % zvýšení aktivity (na příklad na bohatých půdách jim kmen penicilia produkoval až 4000 j./ml, a co je zvláště významné, produkuje čistý G-penicilin téměř bez fenylacetamidu). U kmene nyní studují jeho požadavky, aby jej mohli předat výrobě. Tyto výsledky byly předneseny na kon-ferenci uspořádané při příležitosti 100. výročí narození I. V. Mičurina. U aktinomycet postupovali tak, že nejdříve vytvořili biochemické mutanty po ozáření UV a zkoušeli hybridisaci u takových kmenů. V současné době provádějí selekci kmene produkujícího albomycin. Pokud se týče selekce u nových kmenů, přistupují k ní teprve tehdy, když už kmen mají zhruba zvládnutý.

3. Oddělení fyziologie antibiotických mikroorganismů. Studují jak fyziologii známých producentů, tak těch, které se zavádějí do výroby; úkolem je nalézt nevhodnější podmínky fermentace poznáním mechanismů biosyntesy antibiotika. Začínají pracovat i pomocí značených sloučenin.

4. Oddělení chemické má práci rozdělenou podle jednotlivých antibiotik (penicilin — fenoxypenicilin, streptomycin, tetracyklin, nová antibiotika — polymyxin, protiplísňová, obecně účinná), dále přijímají i práce odjinud (od prof. Gauze, Krasilnikova), pracují na iontoměnných pryskyřicích. V poslední době pracovali na novém antibiotiku vysoce účinném proti gram pozitivním mikrobům, které se sice neruší serem, ale je in vivo neúčinné (chinon).

5. Oddělení experimentální (prof. Jermoljeva) má tři laboratoře: experimentální terapie (pracuje na různých modelech nákaz — dysenterie, břišní tyf, tb, chřipka, pyocyanové nákazy), farmakologickou, pro dispensační formy.

6. Oddělení technologické si buduje své vlastní experimentální poloprovozy.

*Laboratoř pro hledání nových antibiotik Akademie lékařských věd* (prof. Gauze). I když jde v dnešní podobě o laboratoř novou, její základ byl vytvořen v roce 1948. Práce laboratoře je založena na širokém sběru antibiotických organismů, kterého se účastní síť hygienicko-epidemiologických stanic. Získané kmeny izoluje a určuje pracovní skupina mikrobiologická. Dosavadní zkušenosti jsou sebrány ve sborníku, který vyjde v roce 1956. Účinné kmeny jsou postoupeny skupině biochemické, která připravuje první koncentrát, u něhož pak je stanovena toxicita, její souběžnost s aktivitou. Vybrané látky pak již zpracovává skupina chemoterapeutická, která je zhodnotí na několika infekčních modelech (pneumokoková nákaza myši, nákaza stafylokoková, streptokoková, dysenterie, salmonelová, klebsielová, tb, návratný tyf). Většina kmenů odpadá při zkoušce toxicity nebo pro neúčinnost in vivo. Ukáže-li se tam účinnou, jde dále do zkoušky už na specializovaných pracovištích (ústav tb, spec. ústav rakoviny atd.). Při výběru antibiotik proti virovým nákazám v první etapě je zkouší proti viru tabákové mosaiky. Z velkého počtu zkoušených kmenů jim obvykle zůstává za rok asi 10, z nichž však 7—8 dále odpadá při podrobnější zkoušce. Ale i zbývající 2—3 nebývají konečným výsledkem.

Z dalších zdravotnických mikrobiologických pracovišť ještě alespoň zmínka o mikrobiologické práci na otázkách tuberkulózy:

*Ústav tuberkulózy Akademie lékařských věd* (ved. Z. A. Lebeděva). Bylo by třeba, aby tento vynikající ústav, umístěný v lesnaté krajině za periferií Moskvy, navštívili naši vedoucí ftiseologové a seznámili se s jeho zaměřením, organizací, s jeho prací organizátorsky vědeckou (ústav je metodicko-vědeckým centrem asi 20 ústavů po celém Sovětském svazu) i s jeho prací experimentální. Hlavním zaměřením vědecké práce je prevence a časná léčba. Aby léčba mohla být úspěšná, je třeba ji uskutečnit v prvním, celkovém období onemocnění, ještě dříve než se proces lokalizuje v orgánech. Ústav věnuje proto i péči objasnění tohoto prvního období, jeho včasného rozpoznání. Má oddělení experimentální, klinické a dispensační. Největší váhu ve shodě se zaměřením kladou na oddělení dispensační.

Experimentální oddělení má tři laboratoře: patofysiologickou, mikrobiologickou a patomorfologickou. Poslední z nich má nyní ztíženou práci tím, že nemá téměř materiál — ze 600 lůžek ústavu ročně umírají na tb 3—4 nemocní; proto se soustřeďují na studium tuberkulosních procesů u osob, které umrou na jinou chorobu, dále na materiál z resekcí a konečně na studium experimentální tb. Studují hlavně vznik a dynamiku kaseomů a stanoví indikace k jejich chirurgické léčbě.

Oddělení patofysiologické (prof. Platonov) studuje otázky resistance jednotlivých orgánů ve spojení s jejich enzymatickou činností: nejresistentnější orgány (svaly, štítná žláza, žaludek) mají neaktivnější oxydativní enzymy (plíce na příklad dýchají 3krát méně než ledviny). Infekcí se také nejdříve (již za 15—20 min. po infekci!) poškozují oxydativní schopnosti — trpí zvláště i CNS, a to i tehdy, když není přímo infekcí postižena; vysvětlují to účinkem nějakého endotoxinu bakterie. Dále studují, jak se mění funkční stav orgánů při tb, zvláště nervové soustavy a žláz s vnitřní sekrecí. Konečně studují i otázky chemoterapie; zjistili, že streptomycin má nejen přímý vliv na bakterie, ale stimuluje i fagocytosu a má vliv na látkovou výměnu. U ftiazidu (INH) zjistili, že ruší acetylcholinový účinek tb nákazy na mozek.

Oddělení mikrobiologické studuje hlavně otázky patogenesy. Studují pomocí bakterií poznačených isotopy jejich rozšiřování v těle. Ukázali, že virulentní se chovají zcela odlišně od nevirulentních: virulentní po podkožním vpravení zůstávají dlouho na místě, pak proniknou do uzlin a odtud za nějaký čas zase dále, po intravenosním se rozdělí nestejně do jednotlivých orgánů; naproti tomu nevirulentní kmeny (BCG) se po jakémkoliv vpravení (s. c., per os, i. p.) velmi rychle rozdělí po celém organismu a pak se pozvolna vylučují.

V diskusi s ředitelkou ústavu jsem si vyjasnil, proč v Sovětském svazu nezavedli povinná intrakutánní očkování proti tb, ač plně uznávají závažnost našich zkušeností: zatím to byl pro celé rozsáhlé území Sovětského svazu neřešitelný úkol. Závěrem zkušeností z tohoto ústavu bych znovu vyzvedl závažnost jeho zaměření na zachycování a léčení nejranějších forem tb — jistě linie i pro nás nejdůležitější.

### C. Pracoviště zemědělské mikrobiologie

Z těch jsem navštívil jen jeden ústav, a to,

*Všesvazový vědecko-výzkumný ústav zemědělské mikrobiologie VASCHNIL* v Leningradě (ved. akad. I. I. Samojlov). Je to nejstarší vědecké pracoviště zemědělské mikrobiologie, na kterém pracoval Kostyčev ml., Nadson, je metodickým centrem všech pracovišť zemědělské mikrobiologie. Má pobočku v Moskvě. Omezím se zde jen na nejstručnější přehled. Ústav má tyto laboratoře:

1. Laboratoř obecné mikrobiologie se sbírkou kultur, hlavně zemědělsky důležitých mikroorganismů (J. N. Kirjalova). Vedle uchovávání kmenů řeší otázky zvyšování aktivity mikrobů, vzájemných vztahů (na příklad mezi aerobními a anaerobními vazači dusíku).

2. Laboratoř půdní mikrobiologie, vedená autorem známého preparátu AMB N. M. Lazarevem. Tato laboratoř má starou tradici, u jejích základů byli 3 akademici: S. P. Kostyčev (spolu s Vinogradským — zakladatel ekologické mikrobiologie), Omeljanskij a Nadson. Půdní mikrobiologii definují jako nauku o půdní mikroflóře, o jejím svazku s půdou, o zákonitostech vývoje mikroflory, o úloze mikroflory v úrodnosti půdy a kořenové výživě, o řízení mikroflory. Neodmítají rozpracovávání jednotlivých mikroorganismů, ale zamítají jejich izolované hodnocení. Hlavním zaměřením laboratoře je rozpracování t. zv. bioorganominerálního komplexu a jeho zákonitostí, jehož výsledkem byl právě preparát AMB. Přinesli velmi názorné a přesvědčivé experimentální důkazy pro to, že i při přijímání látek minerálních, jako jsou P, K, dusičnany, hrají důležitou roli mikroorganismy. Na základě svých pokusů uzavírají, že je třeba vytvořit a rozpracovat nový pojem „vnitřní konstituce půdy“, jehož poznání umožní přejít od empirického poznání k vědeckému řízení procesů v půdě.

3. Laboratoř výživy rostlin (I. I. Samojlov).

4. Laboratoř zdokonalení technologie výroby a použití bakteriálních hnojiv rozpracovává a zdokonaluje technologii přípravy (hloubkové kultivace) a studuje podmínky největší účinnosti, což je tím závažnější, poněvadž na základě usnesení strany a vlády se bude nyní bakterisace provádět na velkých plochách. Dosavadní výsledky byly velmi uspokojivé: na rozsáhlém pokusu, kterého se účastnilo v r. 1952/53 900 kolchozů a více než 200 vědeckých organizací, zjistili, že průměrné zvýšení u ozimých pšenic bylo asi 2 q, u jařin 1,5 až 1,8 q/ha, u brambor asi 30 q/ha, u zelenin o něco menší. Přitom vypočetli, že náklad na 1 ha bakterisace je asi 50 kopéjek. Ve svém preparátu azotobaktera dosahují při hloubkové kultivaci za 36 hod. asi 1000—1500 milionů živých bakterií v ml (opticky 10—15 miliard), doporučují dávat 40 miliard zárodků na 1 ha, u nitraginu mají 3000—4000 milionů zárodků v ml. U azotobaktera rozpracovávají nyní suchý preparát; fosfobakterie dodávají v podobě spor do půd bohatých na organické látky, prověřili jej celkem na 400,000 ha s velmi krásnými výsledky. Azotobakterem bakterisují i komposty, přikrmují jím zvláště u zeleniny.

5. Laboratoř biologického zpracování zemědělských produktů. Zaměřují se jednak na přípravu kultur pro řízený průběh silážního procesu (v poslední době zvláště u kukuřice, zákvas připravují rovněž hloubkovou kultivací a distribuují jej tekutý), jednak na zákvasy pro zlepšování krmiva (acidofilin, azotobakter), jednak na preparát pro řízení máčení lnu a konopí.

6. Laboratoř pro bakteriologický boj s hlodavci. Ústav má experimentální základnu v Puškinu u Leningradu, která umožňuje provádět přesné srovnávací pokusy, mimo to má k dispozici pro polní pokusy sovehoz.

Kromě tohoto ústavu se chci ještě zmínit o *Museu půdoznalství AV SSSR* v Leningradě — jednak pro jeho velmi názorné a bohaté exponáty, jednak proto, že jsem se tam setkal s pracovnící (T. V. Aristovskaja), která propracovává metodu průtokové kultivace pro problematiku půdní. Používá kapilární mikrometody, kterou zavedl a rozpracoval prof. B. V. Pirfilov na Leningradské universitě.

#### D. Pracoviště kvasného průmyslu

Z nich mně zbyl čas navštívit jen

*Výzkumný ústav pivovarnický v Moskvě.*

Biochemické oddělení tohoto ústavu vede prof. I. J. Veselov, který byl členem sovětské delegace na konferenci technické mikrobiologie u nás v roce 1954. Tento ústav umístěný ve více než stěsnaných poměrech má 65 pracovníků, z toho 38 vědeckých a jen 13 laborantů; tento pro nás tak nezvyklý poměr (nebo spíše nepoměr) mezi počtem vědeckých a pomocných pracovníků je vysvětlován prostorovými možnostmi Ústavu. Domnívám se však, že — stejně jako v jiných ústavech sovětských — bude třeba tento poměr změnit, aby bylo možno lépe využít sil a schopností pracovníků vědeckých. Dalším nedostatkem ústavu je, že nemá pokusný závod, má jen malé čtvrtprovozní laboratoře. S tím větší úctou ovšem je třeba přihlížet k vynikajícím výsledkům ústavu. Ústav má tyto laboratoře:

Laboratoř mikrobiologická se zabývá jednak kontrolou biologického procesu (řeší na příklad i otázky mytí lahví, využívá hojně metody membránových filtrů, které se vyrábějí v SSSR továrně), jednak řeší otázky zesílení účinnosti čistých kultur; pozoruhodné je pozorování, že pěstováním a uchováváním kvasinek při nízké teplotě (3 °C) se zvyšuje kvasná schopnost až o 25 %. Na tomto oddělení jsem viděl přesný aparát sovětské výroby pro bakteriologické vyšetřování vzduchu, vyráběný sovětskou výrobnou lékařských přístrojů.

Laboratoř surovinová řeší velmi důkladně otázky chmele a jeho pěstění (na příklad přikrmování), otázky ječmene, lab. fyziologická studuje vliv CO<sub>2</sub> na kvašení, lab. kontrolní, lab. technologická řeší otázky zdokonalení procesu, zvláště i se zřetelem na kontinuální průběh, lab. bezalkoholických nápojů.

Laboratoř biochemická si zavedla plně (i ve velmi stěsnaných poměrech) metodiku isotopovou; zajímavým způsobem si zabezpečila dostatečné kvantum značené sacharosy a glukosy tím, že si v dokonalé automatizované komoře vypěstovali řepu v atmosféře C<sup>14</sup>O<sub>2</sub>. Vcelku tedy velmi zajímavý ústav, u kterého by se mohl náš výzkumný ústav pivovarnický velmi mnoho naučit.



To je letmý výčet poznatků, které jsem získal návštěvou sovětských mikrobiologických pracovišť. Je z něho jisté zcela jasné, jak cenné bude navázání hlubší spolupráce s mikrobiology sovětskými. Dodal bych k tomu jen ještě to, že sovětská mikrobiologové mají o naši mikrobiologii velký zájem a opětovaně mně připomínali, proč nevyužíváme daleko více než dosud publikačních možností v sovětských časopisech.

## I. celostátní konference virologů konaná ve Smolenicích ve dnech 19.—22. října 1955

Biologická sekce ČSAV a sekce biologických a lékařských věd Slovenské akademie věd uspořádala v domově vědeckých pracovníků ve Smolenicích ve dnech 19.—22. října 1955 první celostátní sjezd virologů. Konference měla pracovní ráz a zúčastnili se jí též zahraniční virologové. Ze Sovětského svazu byli přítomni: člen korespondent AV SSSR V. L. Ryžkov, člen korespondent AMV SSSR A. A. Smorodincev a prof. A. K. Šublade. Polské virology zastupoval dr. Koziański, rumunské dr. Cajal a z NDR byl přítomen prof. Urbach.

Bylo radostnou skutečností konstatovat neobyčejný rozmach československé virologie v posledních letech, dokumentovaný velkým počtem účastníků konference a neméně bohatým počtem přednesených experimentálních prací dobré úrovně. Tematicky byla náplň konference rozčleněna do 4 skupin. První skupinu tvořily referáty, které se zabývaly patogenesou lidských a zvířecích virusových infekcí; ve druhé skupině se řešily problémy imunologie a prevence virusových infekcí. Třetí tematická skupina byla zaměřena k obecným problémům vztahu viru a buňky. Ve čtvrté skupině byly probrány některé problémy výzkumu rostlinných viros.

Zasedání virologů zahájil akademik D. Blaškovič, který po přivítání milých hostí načrtl pracovní program konference. První den byl věnován patogenese lidských a zvířecích viros. V hlavním referátě seznámila prof. A. K. Šublade přítomné s problémem chronických forem virusových onemocnění, zvláště se zřetelem k virosám centrálního nervového systému. Pozoruhodné byly sovětské poznatky v oboru diagnostiky a terapie akutní encephalomyelitidy a sclerosis multiplex. Ve druhém hlavním referátě seznámil prof. dr. R. Harnach přítomné s některými problémy patogenese virusových infekcí domácích zvířat. V dalším bylo předneseno celkem 12 dílčích referátů, z nichž byla většina věnována studiu neurotropních virosů. Z referátů vynikly některé aktuální problémy, které jsou v přítomné době řešeny československými virology. Je to především studium základních biologických vlastností neurotropních virosů, izolovaných na území ČSR a experimentální studium jejich patogenese. Velmi živá diskuse se rozvinula k problému poliomyelitidy, jejíž výzkum je v našich zemích teprve v počátcích. Vzhledem k závažnosti tohoto onemocnění bude nutný intenzivnější výzkum v této oblasti.

Předmětem druhého dne jednání byly otázky imunologie a prevence virusových infekcí. Hlavní referát přednesl člen korespondent Akademie lékařských věd SSSR A. A. Smorodincev na tema „Vlastnosti ochranných mechanismů při protivirusové imunitě a jejich souvislost s fyziologickými faktory“. Poukázal na odlišnost imunitních procesů vyvolaných v organismu virem a bakteriální buňkou. Tak na příklad fagocytosa, která má při bakteriální infekci zásadní význam, při virusové infekci se uplatňuje mnohem méně. V dalším pak autor rozebral příčiny přirozené a získané protivirusové imunity a vliv centrálního nervového systému na její vznik. Dílčí referáty byly zaměřeny ponejvíce na serologii a imunologii neurotropních virosů a virosů skupiny chřipky. Velmi instruktivním byl referát akademika D. Blaškoviče a Dr. V. Ráthové, kde na základě serologické analýsy bylo možno sledovat pohyb jednotlivých typů chřipkových virosů v naší populaci v posledních letech. Část referátů byla věnována otázce virusových vakcín.

Třetí den konference byl věnován otázkám vztahu virosů k buňkám. V hlavním referátě Dr. A. W. Koziański seznámil přítomné s moderními biochemickými poznatky, které vyplynuly z intenzivního studia interakce virosů a vnímavých buněk. Ve svém referátě uvedl své poznatky o receptorech virosů chřipky a o povaze substrátů bakteriálních virosů. Ve druhém referátě prof. Dr. A. Fingerland analysoval s patomorfologického hlediska změny buněk a tkání, napadených různými virusy. Referát byl doložen velkým množstvím neobyčejně zdařilých mikrofoto­grafí. Dílčí referáty byly tematicky velmi různorodé, což je zcela přirozené, neboť základní tema dne „Vztah virosů k buňkám“ je problém neobyčejně široký. Část referátů pojednávala o morfologii virosů a tkání virem napadených, o obecných biologických vlastnostech virosů a o biochemických vlastnostech inhibitorů. Tři referáty byly věnovány speciálním virologickým technikám. Všechny referáty naznačovaly zvyšující se technickou a metodologickou úroveň našich virologických laboratoří.

Poslední den konference byl věnován problémům rostlinných viros. V úvodním referátě se člen korespondent V. L. Ryžkov zabýval fyziologií rostlinných virosů a přirozenou imunitou rostlin vůči nim. Na začátku svého referátu se zabýval šířeji obecně biologickými vlastnostmi virosů a vyvodil z nich domněnku o parazitárním charakteru virosů. V další části referátu na základě bohatého experimentálního materiálu ukázal, že schopnost rozmnožování viru v rostlině či její vnímavost nebo imunita je ve velmí úzké korelaci s metabolickým stavem rostliny.

Druhý referát přednesl člen korespondent ČSAV C. Blatný na team: Jaký je biologický areál rostlinných viros. Poukázal na neudržitelnost názoru, že virusy mohou napadat jen rostliny kvetoucí a podal důkaz o existenci viruů i u rostlin nižších. Dr V. Valenta v referátě o některých problémech rostlinné virologie v ČSR poukázal na nutnost širšího užívání diagnostických metod a jejich prohloubení.

V pěti dílčích referátech byly potom probrány některé experimentální výsledky (interference kmenů tabákové mosaiky, ovlivnění citlivosti tabáku na tabákovou mosaiku vegetativním sblížením, výzkum viros typu bezsemnosti) a byly shrnuty a zhodnoceny naše serologické diagnostické metody rostlinných viros.

Na závěr akademik D. Blaškovič shrnul a kladně zhodnotil výsledky konference a naznačil nejbližší cíle naší virologie. Je to především dokončení průzkumu ohnisek encephalitických viros na území ČSR, dokončení přípravy účinné vakciny proti klíšťové encephalitidě a zavedení všech forem boje proti klíšťatům, přenašečům encephalitidy, do praxe. Při výzkumu chřipky bude nutno stále sledovat pohyb virosových kmenů v populaci, aby bylo možno v budoucnu určit virosový typ, který pravděpodobně vyvolá epidemii. Při těchto znalostech bude možné lepší využití výhodných kmenů k vakcinačním účelům. Dále je nutné zabývat se zavedením živé protichřipkové vakciny podle Smorodinceva. Cílem poliomyelitického výzkumu je zhotovení účinné vakciny, pro její přípravu je nutné zjistit typy poliomyelitických kmenů a jejich distribuci v populaci našeho státu.

V oboru veterinární virologie se ukazuje především potřeba zdokonalování diagnostiky virosových onemocnění a její zavedení do terénních pracovišť. Zvláštní zřetel bude nutno věnovat i nadále problému chřipky a obrny vepřů.

Nejbližším cílem rostlinné virologie je účinný boj proti hospodářsky závažným virosám, jako je stolbur, virosy brambor, cukrové řepy. S těmito praktickými cíly musí jít souběžně výzkum základních otázek virosových infekcí.

První celostátní konference byla jistě mezníkem v práci československých virologů. V příjemném prostředí smolenického zámku bylo vyměněno mnoho zkušeností a navázána úzká spolupráce nejen v celostátním ale i mezinárodním měřítku. Nejlepším důkazem toho byla sjezdová resoluce, která doporučila rychlé vytvoření mezinárodního virologického časopisu, v němž by byly zveřejněny závažné virologické práce.

*Dr Mita Rosenberg*

---

#### Oprava k 1. číslu Čs. mikrobiologie:

V práci J. Chaloupky: Proteolytické enzymy aktinomycety *Streptomyces griseus*.  
II. Vliv povahy a koncentrace dusíku na sekreci proteázy na str. 34 a 35 má být  
v legendě k obr. 1, 2, 3 a 4

proteolytická aktivita v a.  $10^{-3}$  mekv tyrosinu  
(místo a.  $10^{-2}$ ).

---

Vydává Biologický ústav Československé akademie věd v Nakladatelství Čs. akademie věd, Vodičkova 40, Praha II. Adresa redakce: Biologický ústav ČSAV, Na cvičišti 2, Praha XIX. Administrace: Nakladatelství Čs. akademie věd, Vodičkova 40, Praha II, tel. 246241. Účet Státní banky československé č 438-214-0087, číslo směrovací 0152-1. Snížený poplatek povolen výměrem č. 313-400-Be-55. Dohledací poštovní úřad Praha 022. Tisknou a expedují: Pražské tiskárny, n. p., provozovna 04, Praha XIII, Sámova 12. Vyšlo dne 4. května 1956. - A-21452

## Směrnice pro přípravu publikací

Československá mikrobiologie uveřejňuje práce ze všech úseků mikrobiologie (obecné, lékařské, technické a zemědělské), pokud mají obecnější zaměření a význam. Otiskují se původní práce, krátká původní sdělení, přehledné referáty, diskusní články, recenze knih, zprávy a redakční články. Předběžná sdělení budou uveřejňována jen výjimečně u prací zásadního významu.

### *Obecné pokyny*

Všechny práce procházejí recenzním řízením a o jejich uveřejnění rozhoduje redakční rada časopisu.

Autor nese plnou odpovědnost za původnost práce, za její věcnou a formální správnost; odpovídá rovněž za to, že publikace předkládané práce byla schválena jemu příslušnými nadřízenými orgány. Jako původní sdělení lze publikovat pouze takové výsledky, jejichž podstata nebyla dosud uveřejněna nebo podána autorem k uveřejnění jinde, ať doma či v zahraničí. Výjimku tvoří případná předběžná sdělení, na něž však musí být v práci odkázáno. Podstatný obsah práce podané v Čs. mikrobiologii nelze uveřejnit jinou formou bez svolení redakce.

Připomínky a zásahy recenzentů a redaktorů mají za úkol především zlepšení kvality publikace. Sporné otázky mohou být řešeny diskusí zúčastněných stran, konečné rozhodnutí však přísluší redakční radě.

Rozsah publikace má být volen úměrně rozsahu a významu nových poznatků. Práce má být sepsána jasně, věcně a tak stručně, jak dovoluje srozumitelnost. Nemá obsahovat prvotní scestné hypotézy, nýbrž má být souhrnem konečných poznatků. O negativních výsledcích lze referovat (velmi stručně) ten tehdy, jsou-li ony samy nebo jejich důsledky teoreticky nebo prakticky zvláště významné či zajímavé.

Název práce má být volen tak, aby výstižně vyjádřil tema a zaměření práce; práce publikované v řadě mají skupinový název (s číslem sdělení) a vlastní název. Vlastní text práce musí být logicky členěn na kapitoly, případně odstavce, opatřené nadpisy. Členění, stavba i forma se volí podle druhu, náplně a poslání práce, při čemž se ovšem přihlíží k některým obecným zásadám a zvyklostem časopisu. Práce má být členěna do těchto kapitol:

*Úvod práce* obsahuje údaje literatury a všeobecné úvahy, které jsou nutné k pochopení práce, jejího záměru a významu. Nejde-li o úvodní sdělení k rozsáhlejší řadě původních prací, nemá publikace obsahovat vyčerpávající přehledy literatury.

*Materiál a metody.* Tato část obsahuje stručně, avšak dostatečně přesně a úplně údaje o použitém materiálu (kultury, pokusná zvířata, preparáty, látky a pod.), metodách a zvolených pracovních postupech. Známé metody se nepopisují, stačí uvést název a příslušnou citaci.

Kapitola *Výsledky* uvádí zjištěná data, závislosti a pozorování v logickém a jasném utřídění experimentálního materiálu. Získané údaje se uvádějí v přehledně uspořádaných tabulkách anebo grafech. Tabulky a jejich grafické znázornění lze *současně* uveřejnit jen tehdy, je-li to bezpodmínečně nutné pro pochopení práce. Interpretace uvedených dat se zařazuje do části diskusí.

*Diskuse* podává kritický rozbor výsledků, jejich zhodnocení a interpretaci. Podstatné výsledky se shrnují v kapitole *Souhrn*. Ke každé práci přiloží autor souhrn pro cizojazyčné resumé a pro „Referativnyj žurnal“ v takové formě, aby z něho byl zřejmý cíl práce a dosažené hlavní výsledky. Práci uzavírá seznam literatury [příklady citace viz Čs. mikrobiologie 1 (1), 1956].

### *Technické pokyny*

Rukopisy prací v českém nebo slovenském jazyce je třeba zaslat s jednou kopií na adresu: Biologický ústav ČSAV, redakce Čs. mikrobiologie, Na cvičišti 2, Praha-Dejvice. V průvodním dopise uvede autor svoji přesnou adresu. Příjem rukopisu redakce potvrdí. Rukopisy jsou majetkem redakce a nemusí být autorovi vráceny. Redakce si vyhrazuje právo odmítnout rukopisy, které neodpovídají požadavkům zde uvedeným. V každém případě bude mít nedodržení těchto pokynů za následek zdržení práce v redakci a její opožděné uveřejnění.

*Úprava rukopisů.* Rukopis musí být psán na stroji, s dvojitými mezerami (řádkování 2, nikoliv 1,5) a širokým okrajem (asi 3 cm) na dobrém bílém papíře formátu A4. Průsvitné nebo křídové papíry nejsou přípustné. Stránky rukopisu mají být číslovány. Formální úprava rukopisů se doporučuje podle úpravy prací (nejlépe tematicky podobných), uveřejněných v Čs. mikrobiologii.

*Obrázky* musí být výstižné a jasné, přehledné a přesně označené. Fotografie musí být dokonale ostré, kontrastní a na papíře s lesklým hladkým povrchem. Grafy je třeba kreslit černou tuší na bílém kresli-

•  
cím, pausovacím nebo milimetrovém papíře (se slabě modrým rastroem). Velikost výkresu má být asi třikrát větší než požadovaná velikost v tisku. Znaký na obrázku musí být úměrně veliké a kreslené pomocí šablony ČSN (šablona 3—5 mm, šikmé písmo), při čemž má být respektován i druh písma. Redakce dává přednost uzavřeným grafům (s rámečkem) bez sítě, vyžaduje však přesný popis os souřadnic a jasné vyznačení jednotek (měřítka). Křivky je třeba označit číslicemi a slovní popis je nutno uvést v legendě, nikoliv v obrázku samém. Redakce si vyhrazuje právo grafy po technické stránce nevyhovující vrátit autorovi k překreslení, případně je dát překreslit na autorův náklad.

*Tabulky* musí být přehledné, jasné a logicky uspořádané, s minimálním počtem sloupců. V uzavřených tabulkách se zpravidla oddělují linkami pouze sloupce a záhlaví. Obrázky a tabulky musí být připojeny mimo text a jasné označeny na zadní straně pořadovým číslem, názvem práce a zařazením, nikoliv však legendou. Legenda (připojená za text práce) musí být volena tak, aby obrázek či tabulka byly srozumitelné bez studia textu. Každá legenda musí mít výstižný nadpis.

*Názvoslovní* musí být ve shodě s běžnými zásadami autoritativní české, resp. slovenské odborné literatury. Zkratky jsou přípustné pouze tehdy, jsou-li v obecné nebo chemické literatuře zcela běžně vžité.

Názvy sloučenin mají být nahrazovány chemickými vzorci pouze tehdy, jestliže jsou spojeny se symbolem (na př. s údajem koncentrace:  $0,05_M\text{-H}_2\text{SO}_4$ ), po př. ve výčtech delší řady sloučenin, skupin či iontů. V práci případně zavedená zkrácená označení je třeba definovat při prvním výskytu.

*Citace literatury.* Zkratky časopisů podle Chemical Abstracts; zkratky ruských časopisů v české transliteraci.

*Transkripce cizích slov.* Cizí slova píšeme obvykle v původní formě. Pouze u slov zcela vžitých v hovorové řeči zjednodušujeme, na př.: metoda, teorie a pod.

*Korektury.* Za definitivní text práce je třeba považovat rukopis, korektury jsou tedy určeny pouze pro opravu tiskových chyb. Autorům se zasílá 1. korektura (sloupcová), případně také 2. korektura (stránková). Autor je povinen věnovat korekturám, zejména ověření všech vzorců a číselných údajů, co nejvyšší pozornost a péči. Ve výjimečných případech je přípustné doplnit text poznámkou pod čarou (doplněk při korektuře). Redakce není povinna respektovat zřetelně chybné korektury autora; ve sporných případech přísluší rozhodnutí redakční radě. Autorské korektury je bezpodmínečně nutno vracet během tří dnů, jinak nemůže být k autorovým korekturám přihlédnuto, případně bude uveřejnění práce odloženo.

*Separáty.* 50 otisků každé práce se zasílá autorům na jejich náklad. Ve zvláštních případech, dohodnutých nejpozději při vracení sloupcové korektury, může být na odůvodněnou písemnou žádost zhotoven větší počet separátů na náklad autora.