

JADWIGA JAKUBOWSKA

ANTAGONIZM I ANTYBIOGENEZA WŚRÓD DROBNOUSTROJÓW SAPROFITYCZNYCH I ICH ZNACZENIE DLA PRZEMYSŁU SPOŻYWCZEGO

Przejawy antagonistycznego oddziaływania drobnoustrojów we wspólnych hodowlach od dawna przyciągały uwagę bakteriologów. Efekt antagonizmu wyraża się zahamowaniem wzrostu i podziału komórki, a także funkcji enzymatycznych, co często prowadzi do lizy komórek drobnoustroju wrażliwego na aktywny biologicznie mikroorganizm antagonistyczny.

Pierwsze obserwacje dotyczące antagonizmu przekazali już Pasteur i Joubert (1877), a właściwe znaczenie tych zjawisk podkreśla de Bary (1879). W dziesięć lat później Vuillemin (1889) wprowadza pojęcie antybiozy.

Przeważająca ilość faktów, zebranych od owego czasu, dotyczy zachowania się bakterii chorobotwórczych, gdyż wykluczenie ich wzrostu i działania stało się pierwszym celem nauki o antybiotykach, służącej przede wszystkim walce z chorobami zakaźnymi u ludzi i zwierząt. Dlatego też w części ogólnej tego przeglądu, dotyczącej klasyfikacji zjawisk ilustrujących przejawy antagonistycznego działania wśród drobnoustrojów, a także przy omawianiu obronnego systemu drobnoustrojów w stosunku do antybiotyków, został wykorzystany materiał doświadczalny, obejmujący nie tylko saprofity, lecz i gatunki chorobotwórcze. W części szczegółowej, zgodnie z założeniami, zebrane zostały dane o antybiotycznych własnościach niektórych saprofitów spośród bakterii i grzybów niższych, mogących mieć znaczenie dla różnych dziedzin przemysłu spożywczego, jednakże z uwzględnieniem ich stosunku do innych drobnoustrojów zarówno saprofitycznych jak i chorobotwórczych.

Z dyskusji prowadzonej przed rokiem na europejskim Kongresie w Mediolanie (Mikrobiologia 1957), poświęconym antybiotykom widać jak wiele zasadniczych zagadnień w tej dziedzinie nauki pozostaje do wyjaśnienia, a przede wszystkim: czy antybiotyki są niezbędnym produktem przemiany materii wydalanym do podłoża, czy też powstanie ich

jest wynikiem stabilizacji pośrednich produktów metabolizmu? Czy działając na wzrost i procesy biosyntezy można indukować tworzenie się antybiotyków? Pomimo licznych prac pozostaje też dotychczas przeważnie nie wyjaśniony sam mechanizm działania antybiotyków, co stwarza także trudności przy klasyfikacji, która powinna być oparta raczej na ich cechach czynnościowych.

Definicja i klasyfikacja zjawisk antagonizmu

Za Nakhimowską (Mikrobiologia 1939), uwzględniającą obserwacje różnych autorów, spróbujemy uszeregować zagadnienia antagonizmu.

1. Właściwy antagonizm dotyczy zjawisk przebiegających *in vitro* lub *in vivo*, lub też *in vitro* i *in vivo*.

2. Jego przejawy wyrażają się hamowaniem wzrostu, działaniem zabójczym lub liżącym komórek, przy czym wyróżniamy działanie bakteriostatyczne i bakteriobójcze, fungistatyczne i grzybobójcze. Organizm działający antagonistycznie (antagonista) może wpływać hamująco na funkcje anaboliczne i kataboliczne, powodując zmiany cech morfologicznych, wzrostowych i zmiany metabolizmu.

3. Działanie antagonisty może być bezpośrednie i pośrednie.

4. W hodowlach mieszanych antagonizm może być wyrażony jednostronnie lub obustronnie, między różnymi gatunkami lub rodzajami. Niekiedy szczepy tego samego gatunku mogą nabrać własności antagonistycznych w obecności innego szczepu.

5. Istotnym czynnikiem antagonizmu są określone substancje chemiczne, wytwarzane przez drobnoustroje antybiotyczne, o specyficznym działaniu.

Zjawiska antagonizmu wśród drobnoustrojów są o tyle złożone, że mogą przejawiać się w bardzo różnorodnych systemach biologicznych, a więc zarówno w hodowli czystej kultury na podłożu stałym lub w zawiesinach komórek w płynnych środowiskach, jak i w mieszaninach szczepów, należących do gatunków czy rodzajów o nieraz zupełnie odmiennych cechach fizjologicznych. Stwarza to możliwości bardzo różnorodnego oddziaływania szczególnie w środowiskach naturalnych przy spontanicznym rozwoju mikroflory złożonej z zupełnie nieraz odmiennych przedstawicieli systemu botanicznego, jak bakterie i grzyby. Jako ważną cechę biogenezy substancji antybiotycznych Korzybski (1955) podkreśla fakt istnienia wybitnego wpływu warunków zewnętrznych na tworzenie się antybiotyków, a także, że zdolność wytwarzania substancji antybiotycznych nie jest cechą gatunkową, ale cechą szczepową, szczególnie pod względem ilościowym. Jest to cecha dość łatwo zanikająca i przy utracie

jej nie spostrzega się zmian morfologicznych ani biochemicznych. Zdolność tworzenia antybiotyków najczęściej jest cechą, która nie odgrywa roli decydującej o życiu komórki.

Pojęcie autoantagonizmu lub izoantagonizmu przez wielu badaczy zostało zastosowane do zjawisk hamowania własnego rozwoju, stwierdzonego w hodowli tego samego szczepu. Waksman (1945) cytuje szereg przykładów ponownego wzrostu grzybów i przetrwalników bakterii w podłożu, w którym wzrost ich był uprzednio stabilizowany lub zahamowany. Ponowny rozwój następował po ogrzaniu podłoża i zniszczeniu termolabilnej substancji antybiotycznej, a następnie po powtórnym wysiewie kultury.

Odwrotne zjawisko wykazali Nadson i Adamowic (1910) w kulturach *B. mycoides*. Produkty metabolizmu tych bakterii nie ulegały zniszczeniu przez ogrzanie w 120° i nadal hamowały ich wzrost. Do zjawisk autoantagonizmu należy też zaliczyć obserwacje różnokierunkowego rozrastania się rozłogów *Rhizopus nigricans*, komentowane chemotropizmem grzyba, spowodowanym działaniem substancji termolabilnej, wydzielanej do podłoża, stanowiącej prawdopodobnie produkt degradacji białek (Waksman 1. c.).

Do najczęściej obserwowanych należą zjawiska heteroantagonizmu. W dalszych częściach referatu będą one rozwinięte w związku z charakterystyką drobnoustrojów spotykanych w przemyśle spożywczym.

Neufeld i Kuhn (1934) sprecyzowali określenie antagonizmu bezpośredniego w stosunku do zjawisk antagonistycznego działania bezpośrednio na komórki wrażliwego drobnoustroju. Bowling i Wynne (1951) potwierdzili istotne znaczenie tej koncepcji na 14 szczepach *Aerobacter aerogenes*, *Aer. cloacae*, *mutabile* i *viscosum*. Zarówno rozmnożone hodowle jak i zawiesiny przemytych komórek tych bakterii działały antagoniście na bakterie różnych rodzajów jak: *B. subtilis*, *mycoides*, *polymyxa*, *anthracis*, *Micrococcus pyogenes*, szczepy *Shigella* i *Salmonella*. Natomiast żaden czynnik inhibicyjny nie dyfundował z komórek, co wykazano stosując dializaty płynnych kultur, sączonych przez celofan, a także działając zawiesiną zabitych komórek przez ogrzanie lub chloroformem i nie stwierdzając wpływu antagonistycznego przy wysiewach na płytki z organizmami testowymi.

Antagonizmem pośrednim nazwiemy za Waksmanem hamujące działanie produktów wydzielanych egzogenie do podłoża przez organizm o właściwościach antybiotycznych. Tak np. Wynne i Norman (1953) wykazali tworzenie przez 3 szczepy *Aer. aerogenes* substancji dyfundującej do agaru, czynnej w stosunku do 6 szczepów *Gaffkya tetragena*. Antybiotyk dyfundował przez celofan, jednakże uległ rozłożeniu w 37°. Znaczna ilość danych o zachowaniu się drobnoustrojów w różnorodnych

hodowlach mieszanych, a także i klasyczna metodyka kontroli własności antybiotycznych drobnoustrojów opiera się na zasadzie hodowli płytkowych grzybów, szczególnie rodzaju *Penicillium*, *Aspergillus* i *Fusarium* (Brian i Hemming 1947), a także licznych bakterii i drożdży oraz w pracach klasycznych nad ustalaniem własności różnych antybiotyków.

Należy z kolei wyróżnić różne zjawiska antagonizmu, spowodowane zmianami środowiska w następstwie czynnych w nim drobnoustrojów. Wyczerpanie podstawowego substratu, rodzaje metabolitów i towarzyszące zmiany pH i rH eliminują nie tylko pewne grupy fizjologiczne, ale sprzyjają przewadze ilościowej jednego gatunku nad drugim.

Szaposznikow (1951) przytacza mniej znany fakt wspólnej hodowli 2 szczepów sacharolitycznych *Clostridium*. W efekcie *Cl. acetoethylicum* ogranicza w rozwoju i wypiera wrażliwy na zakwaszenie środowiska szczep acetono-butanolowy. Stöckli (1953) uzasadnia antagonistyczne działanie drożdży piwnych, będących w fazie intensywnego wzrostu, na rozwój pediokokków, konkurencyjnym zapotrzebowaniem przez te drobnoustroje na te same czynniki wzrostowe. Znane powszechnie są również praktycznie wykorzystywane zjawiska eliminacji procesów gnilnych, czy też ograniczenie rozwoju fermentacji masłowej przez zakwaszenie środowiska i obniżenie pH do punktu krytycznego dla tych bakterii, a także hamujące metabolizm drożdży działanie kwasu octowego (Borman et al., 1952).

Wspomniałam już o możliwości powstania własności antybiotycznych indukowanych działaniem innego szczepu. Podobnie w pewnych warunkach antagonizm jednostronny może się przerodzić w obustronny. Obserwacje Garré (1887) and *E. coli*, antagonistycznym w stosunku do *Eb. typhosa* wykazały, że uprzedni wysiew *Eb. typhosa* powoduje jego antagonistyczne oddziaływanie w stosunku do tejże pałeczki *E. coli*. Carlson (1953, 54) stwierdza również własności antagonistyczne u *Candida* przy wspólnej hodowli z bakteriami gruźlicy, przy czym prątki ulegały lizie po 6—7 dniach symbiotycznej hodowli.

W mieszanych hodowlach objawy antagonizmu mogą być związane z określoną fazą wzrostową kultury antagonistycznej, Szaposznikow (1951) przytacza ciekawe zjawisko hamowania, a nawet niszczenia *Penicillium arenarium* w fermentacji cytrynowej, zakażonej *B. subtilis* w środowisku płynnym. W podłożu stałym po okresie zahamowania wzrostu grzyba przez bakterie po 2—3 dniach grzyb rozwijał się ponownie z chwilą przejścia laseczek w formy przetrwalnikowe.

Efekty działania antagonistycznego i antybiotycznego nie zawsze mogą być ściśle rozgraniczone. Biostatyczne działanie w stosunku do bakterii i grzybów najczęściej objawia się zahamowaniem wzrostu, czemu towarzyszyć mogą zmiany cytologiczne i zmiany cech wzrostowych. Alkiewicz i Graczykówna (1952) stwierdzają zahamowanie wzrostu *Asp. fumigatus*,

a także segmentację, degenerację grzybni i utratę barwnika pod wpływem *Ps. aeruginosa* z chwilą pojawienia się pyocyjaniny wydzielanej przez tę kulturę do podłoża. Norris (1957) obserwując działanie *B. cereus* na komórki *B. sphaericus* stwierdza zmiany hodowli przebiegające w 2 etapach: początkowo zmniejszenie zmętnienia pożywki, ubytek ziarnistości gramododatnich w komórkach i związana z tym zmiana własności bakterii z gramododatnich na gramoujemne. W drugiej fazie widoczny jest zanik konturów komórek, jakkolwiek błony komórkowe pozostają nie uszkodzone. Dodatek do podłoża tiomersolanu, powodującego pewną denaturację białek, przyspieszał proces lityczny. Autor zastrzega się, że charakter lizy, jej niespecyficzność i działanie na komórki martwe przemawia przeciw możliwościom bakteriografii.

Izolowana przez Dubos z *B. brevis* tyrotrycyna, złożona z gramicydyny i tyrocydyny jest czynnikiem powierzchniowoczynnym, wywołującym pęknięcie komórek. Gramicydyna hamuje proces transfosforylacji przy powstawaniu trójfosforanu adenozyne, a w następstwie hamuje proces energetyczny wykorzystywania glikozy. Badania Stolza i Henkinsona (1953) nad szczepami wchodzącymi w skład zakwasu mleczarskiego zmierzają do wyjaśnienia wpływu tyrotrycyny wyrażając przypuszczenie, że jedna jej frakcja uszkadza fizycznie komórki, podczas gdy druga hamuje metabolizm glikozy do kw. mlekowego.

Obserwowane przez Alexandre i Cacchi (1938) antagonistyczne działanie *L. bulgaricus* na *E. coli* wyrażało się zmianą form gładkich na szorstkie, hamowaniem wzrostu i powodowaniem lizy komórek. Stwierdzono, że kw. mlekowy wywierał ograniczony wpływ, jednakże nie wyodrębniono czynnej biologicznie substancji inhibitującej.

Liczne prace wykazują hamowanie wzrostu drobnoustrojów przez *Serratia marcescens*. Bezpośrednie hodowle na agarze w 30 i 22° wykazały hamowanie przez *Serratia marcescens*: szczepów *B. megatherium*, *subtilis* i *mycoides*, *Str. lactis*, *faecalis*, a także zahamowanie ziarniaków rodzaju *Micrococcus* i bakterii chorobotwórczych. Borju (1957) wiąże antybiotyczne działanie *Serratia marcescens* z obecnością pigmentu, który może przechodzić do komórek innych drobnoustrojów nie tylko w razie kontaktu blisko siebie rosnących kolonii, lecz również w zawiesinach komórek mieszanych z *Ser. marcescens* lub przy dodaniu pigmentu w postaci frakcji alkoholowej. Prodigiozyna nie przenikała przez błony opornych drobnoustrojów jak bakterii kwaszących, pałeczek tyfusu i pleśni z rodzaju *Penicillium*. Komórki drożdży z rodzaju *Saccharomyces*, silnie zabarwione prodigiozyną, traciły zdolność pączkowania, przy czym stopień pochłaniania barwnika wpływał na hamowanie procesów życiowych komórki. Seaman et al (1954) wykazali antagonistyczne działanie *Serratia marcescens* w stosunku do różnych szczepów gramododatnich jak: *Staph.*

aureus i *albus*, *B. megatherium*, *subtilis*, *Sarcina lutea*, *Str. lactis* i in. Möse i Pötsch (1954) otrzymali czystą prodigiozynę, która hamowała wzrost 23 szczepów bakterii i grzybów. W stanie wysuszonym prodigiozyna zachowuje aktywność do 3 miesięcy, wytrzymuje także ogrzanie w 120°.

Badania nad efektem działania antybiotyków na bakterie zdają się wskazywać, że działanie to jest najsilniejsze w logarytmicznej fazie wzrostu i może wpływać na przedłużenie poszczególnych faz cyklu wzrostowego.

Wpływ substancji antybiotycznych może także wyrazić się zmianą normalnego przebiegu metabolizmu drobnoustrojów. Badania Hirscha i Grinsteada (1954) nad wpływem nizyny otrzymanej z paciorkowca mlecznego na *Cl. sporogenes*, *butyricum* i *bifermentans* wykazały wrażliwość i zahamowanie wzrostu młodych komórek *Clostridium*. Kielkowanie przetrwalników było również zahamowane przy zachowaniu ich żywotności. Sporocidię stwierdzono w stosunku do przetrwalników *Cl. butyricum*. Autorzy ci podkreślają, że nizyna hamuje zdolność wytwarzania gazu przez beztlenowce.

Olitzki (1954) stwierdził również zmianę metabolizmu u szczepów *Proteus vulgaris*. Pod wpływem penicyliny i streptomycyny nie wytwarzały one siarkowodoru, który powstawał w próbie kontrolnej. Zahamowanie wzrostu, jak to wynika z przedstawionych przykładów, może prowadzić do wyzwolenia procesów autolizy komórek. Należy je odróżnić od własności litycznych powodowanych przez drobnoustroje antagoniistyczne. Pakuła i Tyc (1953) stwierdzili zdolność rozpuszczania martwych komórek gramoujemnych przez *Sarcina lutea*, wyodrębnioną z powietrza. Czynniki lityczne nie przechodziły do filtratów, sporządzonych z kultury. Autorzy wskazują na pewną współzależność między wytwarzaniem bakteriolizyn a tworzeniem pigmentu.

Waksman (l. c.) przyrównuje różne przejawy oddziaływania substancji antybiotycznych do czynników, które bądź blokują określone enzymy komórkowe bądź też zmieniają bieg metabolizmu. Na podstawie doświadczeń przedstawianych przez różnych autorów Waksman wykazuje jakie są ogólne kierunki działania antybiotyków hamujące funkcje komórek drobnoustrojów:

- 1) wstrzymanie podziału komórek przez działanie na grupę sulfhydrylową białkowych składników komórki, a w efekcie śmierć komórki;
- 2) zablokowanie jednego z podstawowych składników pożywki, np. aminokwasu lub witaminu;
- 3) zmianę metabolizmu przez wykorzystanie jako receptora jednego z produktów przejściowych;
- 4) hamowanie procesów oddechowych, szczególnie dehydrogenacji;

5) uszkodzenie napięcia powierzchniowego (podobnie do działania detergentów) przez tworzenie kompleksowych połączeń, co powoduje śmierć komórki.

Systemy obronne w populacjach drobnoustrojów w stosunku do antybiotyków

Analogicznie do wpływu różnych czynników fizycznych, chemicznych i biologicznych na drobnoustroje, spotykamy się również z indywidualną odpornością komórek danej populacji na antybiotyki.

Zagadnienie to ilustruje praca Hughesa (1955) na przykładzie wpływu penicyliny na *Proteus vulgaris*. Obserwowano 60 komórek rosnącej populacji, otrzymanej z 3-godzinnej komórki macierzystej poddanej działaniu penicyliny w okresie wzrostu. Dalszy rozwój komórki wyjściowej dał komórki potomne o różnych właściwościach. Po oddzieleniu ich za pomocą mikromanipulatora de Fonbrune stwierdzono 4 typy reakcji na penicylinę: pewna ilość komórek nie zdolna była do podziału, inne uległy deformacji lub autolizie, a tylko pewien procent posiadał cechy normalne i zdolność do wzrostu i do podziału.

Zagadnienie powstawania szczepów opornych na antybiotyki może wiązać się z ich niedostateczną dawką dla zahamowania funkcji komórek tej części populacji, która przeszła w fazę logarytmiczną w chwili wprowadzenia antybiotyku do środowiska.

Hirsch (1950) podaje, że małe — subletalne stężenia nizyny działającej bakteriobójczo na *Str. agalactiae*, przedłużają lagfazę, a dawki wyższe — subletalne indukują szybki wzrost szczepów opornych.

Badania Weinberga (1955) nad sporulacją *B. subtilis* wykazały, że subbakteriostatyczne stężenia tetracykliny i polimyksyny, penicyliny i magnamycyny nie hamowały przetrwalnikowania. Natomiast specyficzne działanie na sporulację posiada streptomycyna, chloramfenikol i quino-kryna, hamując przetrwalnikowanie przy niższych stężeniach od właściwych dla zahamowania wzrostu.

Oporność szczepów może być związana z wytworzonym przez komórkę systemem enzymatycznym, powodującym rozkład antybiotycznej substancji, jak to widzimy u szeregu bakterii i grzybów, wytwarzających penicylinazę.

Pette i Koody (1953) wskazują na działanie antyinhibicyjne *Streptobacterium plantarum* w mleku surowym, użytym do produkcji sera edamskiego, przypisując im niszczenie nizyny.

Antybiotyczne własności grzybów niższych i bakterii w hodowlach laboratoryjnych i w warunkach przemysłowych

Antybiotyczne własności saprofitycznych drobnoustrojów spotykamy zarówno wśród gatunków technicznych jak i wśród szkodników przemysłu, pospolicie spotykanych w warunkach produkcyjnych. Zjawiska te należą do stosunkowo mało przebadanych. Zwrócimy uwagę na te zjawiska, które nie będą szerzej omawiane w referatach, poświęconych określonym dziedzinom przemysłu.

Nieliczne prace dotyczą drożdży. Bizot (1955) stwierdził antagonistyczne działanie drożdży *Sacch. boulardii* n° 411 na *Proteus* i *Candida albicans* szczep patogenny, podczas gdy *Proteus* powodował zupełną lizę komórek *Candida* i *Torulopsis*. Skorodumowa (1954) przedstawia antybiotyczne działanie *Saccharomyces*, wykazując tworzenie w procesie fermentacyjnym antybiotyku — sacharomycetyny. Nie oczyszczony, stężony roztwór tej substancji jest ciepłostały, działa bakteriobójczo i bakteriostatycznie na bakterie gramododatnie i gramoujemne. Antybiotyk ten jest bardziej aktywny w środowisku kwaśnym. Wykazano jego baktericstatyczny wpływ na bakterie tyfusu, gruźlicy, dezynterii oraz błonicy. Ekstrakt sacharomycetyny jest ciepłostały w warunkach pasteryzacji, ogrzanie w 110° przez 30' zmniejsza jej aktywność do połowy. Według tej autorki najbardziej czynny produkt otrzymano z drożdży fermentujących laktozę. Zwrócono również uwagę na działanie toksyczne innych produktów metabolizmu drożdży. Uroma i Virtanen (1949) izolowali z drożdży mieszaninę nienasyconych kwasów tłuszczowych hamującą bakterie gramododatnie.

Stosunkowo więcej uwagi poświęcono drożdżom wytwarzającym pigment karotenoidowy. Zarówno świeże komórki jak i po ogrzaniu w 120—130° *Torula suganii* (Okunuki 1931 cyt. Waksman) zawierały substancję toksyczną dla grzybów. Szczególnie wrażliwe okazały się młode strzępki grzybní. Zaobserwowano słabszy wzrost *Aspergillus niger*, którego rozwój był zredukowany o 60—70%, a u *Asp. oryzae* o 25—30%. Substancja nie wchodziła w skład popiołu i dała się wydzielić z komórek tylko przez absorpcję na kaolinie. Strassman i Weinhouse (1953) wykazują w handlowych drożdżach pastewnych *Torulopsis utilis* obecność lizyny. Bezborodow i Dobromysław (1955) wydzielili z *Torula rosea* i ze *Sporobolomyces* substancję również tego typu o słabym działaniu na bakterie gramododatnie i gramoujemne.

Parafentiew (1954) wykazał antybiotyczne własności ekstraktu otrzymanego z drożdży piekarnianych. Nowakowska (1957) stwierdziła szczególną wrażliwość tlenowych laseczek na wyższe stężenia autolizatu

sporządzonego z drożdży piekarskich i browarniczych. Zaobserwowała także odporność na zakażenie autolizatów o zawartości nie mniejszej niż 20% suchej masy.

Knorr (1955) przy fermentacji nie filtrowanych brzeczek wykazuje działanie antybiotyczne drożdży na bakterie gramododatnie.

Przedstawiając prace związane z produkcją aureomycyny na kongresie dotyczącym antybiotyków Herold wskazał na działanie antagonistyczne i ujemny wpływ zakażeń drożdżami rodzaju *Torulopsis*. Wśród grzybów niższych antybiotyczne własności spotykano u licznych przedstawicieli klasy *Fungi imperfecti*, *Ascomycetes*, stosunkowo rzadziej u *Phycomycetes* i *Basidiomycetes*. Brian i Hemming (1947) przebadali własności 160 szczepów u grzybów w hodowlach płytkowych i na podłożach płynnych. Sporządzono również filtry płynnych kultur. Antybiotyczne własności wykazano u licznych gatunków z rodziny *Aspergillaceae*:

Aspergillus clavatus, który wytwarzał klawacynę i partulinę, *Aspergillus terreus* wytwarzający klawacynę i cytryninę, również antybiotyczne własności miał *Asp. flavus*, *glaucus*, *niger*, *oryzae*, *sydowi* i *versicolor*. Wśród pędzlaków oprócz wytwarzających penicylinę wymienimy: *Penicillium expansum*, tworzące klawacynę, *Penicillium citrinum* dający cytryninę o podwójnej aktywności, *Penicillium gladioli* tworzący kwas gladiolowy, wreszcie *Penicillium janczewski*, które powodowało skręcanie strzępek *Botrytis allii*. Brian i Gowan (1946) wyodrębnili substancję odpowiedzialną na ten ciekawy efekt fizjologiczny, tzw. curling factor. *Penicillium terlikowski* posiada podwójne działanie hamujące, związane z wytwarzaniem gliotoksyny. Również antybiotyczne własności stwierdzono u *Fusarium coeruleum*, *javanicum*, *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium fulvum* i *herbarum*. 52 szczepy *Fusarium*, z których poprzednio uzyskano pigment antybiotyczny jawnicynę i 5 innych substancji działających antybiotycznie Lacey (1950) rozdzieliła na 4 grupy o różnej aktywności w stosunku do gronkowca złocistego i *Mycobacterium phlei*.

Brian et al. (1951) otrzymali z pleśni *Alternaria solani*, wyodrębnionej z pomidorów kwas alternarowy, który hamował w stężeniach 1 mikrogram/ml kiełkowanie zarodników innych grzybów. Pleśń ta wytwarzała w podłożu Czapka charakterystyczny pigment barwy czerwonego wina i hamowała wzrost szeregu pleśni. Najwrażliwsze okazały się: *Mucor mucedo*, *Myrothecium* i *Thamnidium*, hamowane dawką 0,4—0,1 mikrograma/ml.

Csillag (1954) otrzymał ze szczepu bliskiego *Aspergillus flavus* grane-gillinę, silnie aktywną in vivo na *K. pneumoniae* i *Sh. typhosa*.

Badając cechy morfologiczne pleśni rodzaju *Penicillium* Romankowa i Kobrina (1955) stwierdziły związek między budową zespołu konidialnego

szczepu a własnościami antybiotycznymi. Według tych autorek aktywność szczepów wzrasta wraz z postępującym różnicowaniem się budowy pędzelka. Największą liczbę szczepów antybiotycznych w stosunku do *Staphylococcus aureus*, *B. subtilis* i *E. coli* otrzymano u pleśni zaklasyfikowanej do sekcji *asimmetrica*, najmniej aktywne okazały się szczepy sekcji *monoverticilliata stricta* i *biverticilliata symmetrica* wg taksonomii Raper i Thom (1949).

Przy zaniku własności antybiotycznych Grossbard (1953/54) widzi możliwość reaktywacji przez przechowanie kultury w glebie niejałowej. W ten sposób *Aspergillus clavatus* po 4 miesiącach dawał zwiększoną ilość ekspansyny.

B a k t e r i e

Wśród rodzajów bakterii mających ważną rolę w przemyśle spożywczym, zwracają uwagę antybiotyczne własności bakterii z grupy fermentacji mlekowej. Już w 1928 r. Rogers donosi o hamującym wpływie *Str. lactis* na *L. bulgaricus*. Istotnego znaczenia są wieloletnie badania głównie Matticka, Hirscha i Berridge'a nad nizyną, wytwarzaną przez *Str. lactis*. Nizyna jest substancją polipetydową przy czym wyróżniono jej 4 frakcje: A, B, C i D (Berridge et al. 1952), różniące się składem aminokwasów. Nizyna wytwarzana w mleku i serwatce hamuje rozwój paciorkowców różnych grup serologicznych, przy czym jako testowy służy *Str. agalactiae*. Mattick i Hirsch (1947) wykazali jej aktywność na liczne bakterie chorobotwórcze i saprofityczne jak: *Staphylococcus*, *Pneumococcus*, *Neisseria*, *Mycobacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium*. Prace Lipińskiej (1955, 1956) nad wykorzystaniem antybiotycznych paciorkowców w serowarstwie w próbach wyrobu sera typu edamskiego, potwierdziły wyniki autorów angielskich, wskazujących możliwość zapobiegania wzdymaniu serów przez ograniczenie rozwoju i metabolizmu beztlenowców z grupy fermentacji masłowej typu *Cl. tyrobutyricum*. Hirsch i Grinstead (1954) wykazali sporocidię *Cl. butyricum* i hamowanie kiełkowania spor u *Clostridium*. Moycho i Gromska (1956) przypisują antybiotycznym własnościom *Str. lactis* hamowanie wzrostu pałeczki fluoryzującej i laseczki siennej w warunkach stabilizacji pH podłoża przez neutralizację kw. mlekowego. Oxford (1944/45) stwierdził drugą substancję antybiotyczną wytwarzaną przez *Str. lactis* — *diplokokcynę*.

Spotykane prace nad antybiotycznymi własnościami pałeczek typu *Lactobacillus* ujawniły działanie różnych produktów ich metabolizmu jak kwas mlekowy, H_2O_2 . (Wheater, Hirsch, Mattick 1951, Ruschmann 1953, Kaszkin 1952).

Dopiero Emanuiłoff i Natscheff (1956) wykazują obecność substancji antybiotycznej w kulturach *Lactobacillus bulgaricus*. Antybiotyk wydzie-

lany był do mleka najintensywniej przy 37° hodowli. Antybiotyczna substancja oddzielona w serwatce po odwirowaniu kazeiny zachowała aktywność w środowisku kwaśnym, złożonym z równych części śliny, soku żołądkowego i pepsyny, działając na bakterie chorobotwórcze i saprofity: *S. typhi*, *enteritidis*, *Görtner*, *typhi murium*, *Cholerae suis*, *E. coli*, *Proteus*, *B. anthracis*, *B. mesentericus*, *mycoides*, *megatherium*, *Cl. sporogenes*, *Staph. albus* i *aureus*. Jednocześnie stwierdzono, że mleko bułgarskie posiada substancję antybiotyczną, bakteriobójczą w stosunku do *B. mesentericus* w 45°, jest ona oporna na ogrzanie w 85° przez 60' i w 120° przez 15'.

Peretz i Nachimson (Kaszkin l. c.) wykazali również, że *L. bifidus*, bytujący w kiszkałkach noworodków wywiera hamujący wpływ na bakterie gnilne i patogenne.

Według Polonskiej (1952) *L. acidophilus* hamuje *E. coli* pochodzenia jelitowego. Wytwarzana przez nie substancja antybiotyczna jest ciepłostała przy 100°, nie dializuje przez filtry membranowe i jest bardziej czynna przy pH = 5—5,6. Kultury świeżo wyodrębnione z przewodu pokarmowego są bardziej aktywne antybiotycznie niż hodowane laboratoryjnie.

W grupie tlenowych przetrwalnikowców gruntowne badania dotyczyły własności *B. subtilis*.

Sharon et all. (1954) przedstawiają wyczerpująco charakterystykę budowy chemicznej, własności i działania na różne drobnoustroje 9 substancji antybiotycznych otrzymanych z kultur *B. subtilis*. Wszystkie o własnościach peptydów kwaśnych i ciepłostatych, wydzielanych pozakomórkowo. Nie ulegają one działaniu pepsyny i trypsyny, natomiast są rozkładane w przewodzie pokarmowym. Uzyskana z *B. subtilis* subtilina w formie proszku rozpuszczalnego w wodzie zachowuje względną trwałość w środowiskach kwaśnych (pH 2,4—7,0). Sacks (1952) wykazuje, że silna aktywność subtyliny na komórki *Micrococcus* i *Mycobacterium* w początkowej fazie logarytmicznej wzrostu maleje im bliżej są one fazy stacjonarnej. Subtilina hamuje metabolizm komórki wegetatywnej, działając powierzchniowo. Nie niszczy przetrwalników, jakkolwiek wpływa na obniżenie ich ciepłoodporności. Zdaniem Lewis i Andersona działanie subtyliny na przetrwalniki, szczególnie *Cl. botulinum* i przetrwalnikowce termofilne może zachodzić w momencie ich kiełkowania (Brinberg, Haskin 1955, Williams, Campbell 1951) lub przez pobudzenie ich do kiełkowania.

Poszczególne szczepy *B. subtilis* mogą wytwarzać substancje specyficznie czynne na pewne grupy drobnoustrojów. Babad et all. (1952) otrzymali szczep o własnościach jedynie fungistatycznych, odmiennych od myko- i fungisubtyliny. Z autolizatu komórek *B. subtilis* Quinn (1952)

wyodrębnił globicynę, czynną przeciw *Microbacterium* oraz przeciw bakteriom gramododatnim.

Eacillus megatherium, stwierdzony jako pospolite zakażenie surowców rolniczych wytwarza megacynę, substancję antybiotyczną, wyodrębnioną przez Ivanovicsa i Alföldi (1954). Megacyna stwierdzana w lizatach komórek *megatherium* powoduje zahamowanie wzrostu i lizę komórek tego samego gatunku i tego szczepu, z którego pochodzi, i jest specyficznie aktywna w stosunku do przedstawicieli gatunku *megatherium*. W dalszych badaniach Ivanovics i Alföldi (1957) stwierdzili działanie megacyny również na *B. subtilis* i *B. anthracis*.

Norris (1957) wykazał analogiczne działanie lityczne kultur *B. cereus* na różne tlenowce przetrwalnikujące. Liza powodowała umniejszenie treści komórkowej, podczas gdy struktura komórkowa pozostawała nie-naruszona. Zarówno megacyna jak i czynnik otrzymany z *B. cereus* wytrzymują mierne ogrzewanie w ok. 70°.

Właściwości przeciwbakteryjne *B. polymyxa* opisane w 1947 r. wykorzystane zostały do produkcji preparatów: polimyksyny i cyrkuliny. Substancje te działają na drobnoustroje saprofityczne i chorobotwórcze. Budowa chemiczna i własności polimyksyn, z których wyróżniono 5 wariantów: A, B, C, D i E złożona jest z zasadowych polipeptydów w połączeniu z kwasem alfa, gamma diaminomasłowym i kwasem tłuszczowym, przy czym różnice są w składzie aminokwasowym (Korzybski, Kuryłowicz l. c.). Wariant B posiada własności wybitnie bakteriobójcze. Komentując mechanizm jej działania Newton (1955) uważa, że usadawia się ona równie dobrze na powierzchni komórki jak i na cząstkach protoplazmatycznych np. u *Ps. aeruginosa*, a także penetruje wewnątrz cząstek protoplazmy jak u *B. megatherium*. Można to przyrównać do działania detergentów.

Polimyksyna B hamuje esterazy u *M. tuberculosis* (Cohen). Bakterie wrażliwe adsorbują więcej polimyksyny niż niewrażliwe. Na przykład wrażliwe *E. coli*, *B. subtilis* hamowane są dawką 5 gama/ml polim, E, a mniej wrażliwe *Proteus vulgaris*, *Str. faecalis* — hamuje dopiero 100 gama.

Stwierdzono, że pod wpływem polimyksyny uwalnia się z komórek dużo związków purynowych i pirymidynowych. Pol. B tworzy z kwasem rybozonukleinowym rozpuszczalny strąk w obecności soli obojętnych. Aglutynuje ona formy R białego gronkowca i powoduje jego zmiany morfologiczne. Polimyksyna jako preparat sterylizujący znalazła zastosowanie w browarnictwie, co omówimy oddzielnie.

Obserwacje własności antybiotycznych *B. mycoides*, *mesentericus* nie dały jeszcze efektywnych praktycznych wyników (Günther 1953, Pringsheim 1920). Oprócz omówionych już antybiotyków wytwarzanych przez

B. brevis: tyrocydyny i gramicydyny, wchodzących w skład tyrotrycyny, w dalszych badaniach uzyskano brewinę i brewolinę o odmiennym działaniu.

W obrębie *Enterobacteriaceae* stwierdzono również antybiotyczne własności u *Chromobacterium*. Möse i Pötsch (1954) otrzymali wiołaceinę z gatunku *violaceum*, aktywną przy ogrzaniu przez 30' w 120°, a w stanie suchym termostała i w 180°.

Kolicyna, otrzymana z *E. coli* jak również protaptyna uzyskana z *E. coli* i z *Proteus vulgaris* mogą także odgrywać pewną rolę antybiotyczną, szczególnie w zespołach mikroflory wód i wód ściekowych. Działanie kolicyn odnosi się do różnych rodzajów bakterii chorobotwórczych, szczególnie z rodzaju *Salmonella* (Ludford i Lederer 1953). Cenniejsze obserwacje nad *Proteus vulgaris* ograniczają się do wpływu bakteriobójczego i litycznego na prątki gruźlicy ludzkiej i zwierzęcej, a także na komórki niezarodnikujących drożdży (Bizot l. c.).

Su (1948) wyodrębnił z mikroflory ścieków szczep *Micrococcus*, wytwarzający substancję czynną na bakterie gramododatnie i *Mycobacterium*. Mikrokokocyna jest słabo rozpuszczalna w wodzie, natomiast rozpuszczalna w alkoholu, acetonie i chloroformie. Działa hamująco w stężeniach 1 : 650 tys. i 1 : 64 × 10⁶ na *Str. pyogenes* i *Staph aureus*, bakterie dyfterii, *Str. viridans*, *Pneumococcus*, *Cl. welchi* i *Mycobacterium tuberculosis*. Heatly et al. (1952) wykazują zwiększenie rozpuszczalności mikrokokocyny przez zastosowanie różnych detergentów. Landenberger (1952) badając metodą chromatograficzną ekstrakty *Pseudomonas fluorescens* wykazał w nich obecność frakcji antybiotycznej obok laktoflawiny.

Wśród badań nad produktami metabolizmu bakterii kwaszących na inne drobnoustroje zwraca uwagę praca Szakall (1952), który wykazuje bakterio- i grzybostatyczny wpływ octów fermentacyjnych, w porównaniu z octem syntetycznym, w stosunku do *Endomyces vernalis*, *Rhodotorula corallina*, a także *E. coli* i *Staph citreus*. Autor przypuszcza istnienie związków specyficznych, wydzielanych przez bakterie octowe łącznie z kwasem octowym, które stanowią pewien system ochronny zabezpieczający je przed zewnętrzną infekcją.

Aspekty wykorzystania antybiotycznych substancji w przemyśle spożywczym

Z dokonanego przeglądu własności antybiotycznych drobnoustrojów można wnioskować o przydatności dla przemysłu spożywczego niektórych, lepiej zbadanych substancji antybiotycznych, szczególnie nie mających znaczenia terapeutycznego.

Oprócz nizyny i subtiliny prace doświadczalne krajowe powinny również podjąć próby wykorzystania polimyksyny i aktydionu. Według Strandskova i Bockelmanna (1954) polimyksyna B stanowi niezwykle skuteczny środek ochrony czystości fermentacji w browarnictwie. Dodana do drożdży matecznych, co 4 do 9 fermentów, stymuluje fermentację, co sprzyja szybszemu obniżeniu pH brzeczki, a także działa hamująco na rozwój zakażeń bakteryjnych. Visor i Prescott (1954) wskazują na dodatnie własności polimyksyny: antybiotyk ulega selektywnej adsorpcji na filtrach w czasie filtracji piwa w warunkach przemysłowych, stąd nie występuje już w piwie gotowym. Antybiotyk ten zresztą nie jest absorbowany przez ściany przewodu pokarmowego. Jest ciepłostały przy ogrzewaniu w 85° przez 1 godzinę. Jako szczep testowy *Brucella septica* (typ amer. nr 4617) wykrywa stężenie polimyksyny w piwie rzędu 5⁻⁸ g/l ml. Polimyksyna jest stosowana w celach terapeutycznych przy niektórych schorzeniach w dawkach 200—400 mg na pacjenta.

Polimyksyna rozpuszczalna jest w wodzie w stosunku 5,7 g/litr. Przy poważnym zakażeniu *Pedococcus damnosus* lub *L. pastorianus* wystarcza dawka polimyksyny do 1 gama/l ml w stosunku do końcowej objętości brzeczki. Hoffman (1956) przytacza wysokość dawek hamujących dla *L. pastorianus*: 30 gama/l ml, dla *Pedococcus cervisiae*: 3 gama/ml; 0,005 gama/ml przeciw pałeczkom gramoujemnym.

Wybiórcze działanie różnych substancji antybiotycznych na rozwój drożdży, bakterii octowych i mlekowych zostało wykazane przez Beech i Carr (1955) w celu zastosowania ich jako czynników podwyższających selektywność podłoża, przy pracach nad selekcją drobnoustrojów oraz przy badaniach zakażeń w procesach fermentacyjnych i produktów spożywczych o mikroflorze mieszanej, jak moszcze, kiszonki, drożdże. Roman (1957) w monografii dotyczącej drożdży podaje, że przy ocenie czystości drożdży powinien być użyty aktydion. Antybiotyk ten jest szczególnie przydatny do badania czystości drożdży, gdyż hamuje ich rozwój pozwalając ujawnić się zakażeniom tłumionym przez drożdże. Aktydion (cykloheksimid) o wzorze sumarycznym C₁₅H₂₃O₄N (Korzybski, Kuryłowicz l. c.) wytwarzany jest ubocznie jako drugi antybiotyk przy produkcji streptomycyny przez *Streptomyces griseus*. Anders (1955) cytuje, że aktydion w ilości 10 mg na litr moszczu całkowicie hamuje rozwój *Saccharomyces ellipsoideus* oraz fermentację. Przy kontroli drożdży piwowarskich Bockelmann (1955) podaje, że aktydion i polimyksyna nie hamują rozwoju drożdży dzikich. Arpai i Stuchlik (1957) wykorzystali wybiórcze działanie aktydionu w diagnostyce różnicującej przy badaniu w drożdżownictwie i w piwowarstwie. Opracowano dwa warianty dla kontroli przemysłowej: jeden dla ilościowego oznaczania infekcji przez liczenie bezpośrednie, drugi na podstawie selektywnej hodowli z anty-

biotykiem, co pozwala ustalić skład jakościowy zakażeń. W obu tych wariantach posługiwano się komorą Thoma i stosowano pożywki płynne. Autorzy wykazują, że już 2 gama aktydionu/1 ml pożywki działało hamująco na drożdże piwowarskie, jednakże polecają wyższe dawki zarówno do pożywek stałych jak i płynnych w ilości 15 gama aktydionu/1 ml Lambion (1955) klasyfikuje antybiotyki na 3 grupy: 1) czynne w stosunku do bakterii, drożdży i grzybów; tyrotrycyna, patulina, aktynomycyna, notatyna; 2) czynne na bakterie: penicylina, aureomycyna, streptomycyna, chloramfenikol, subtylina, bacytracyna, neomycyna, terramycyna; 3) czynne na grzyby niższe: aktydion, mykosubtylina, griseofulwina i in.

Specyficzne działanie aktydionu stwierdzono nie tylko w stosunku do drożdży *Sacch. carlsbergensis*, *ellipsoideus*, *fragillis*, *pastorianus*, ale także i do niektórych drożdży dzikich jak: *Kloeckera* (Vanossi 1957) *Picia membranefaciens*, *Torulopsis utilis* (Korzybski i Kuryłowicz l. c.).

UWAGI KOŃCOWE

Antybiotyki nie znalazły jeszcze dotychczas u nas zastosowania w praktyce przemysłowej ani w analizie mikrobiologicznej. Oprócz wyżej przytoczonych kierunków, należy jeszcze zwrócić uwagę na możliwość działania antybiotyków jako czynników stymulujących procesy fermentacyjne. Michalska (1953) wykazała stymulujący wpływ streptomycyny na wytwarzanie kwasu cytrynowego przez *Asp. niger*.

Wydaje się, że badania nad antybiotykami i antagonistycznymi właściwościami drobnoustrojów powinny się też rozwijać w celu poznania właściwości i wzajemnego oddziaływania kultur technicznych, szczególnie stosowanych w hodowlach mieszanych, a także i dla ograniczenia rozwoju pierwotnego zakażenia surowców i artykułów przemysłowych stosowanych przy produkcji żywności.

LITERATURA

1. Abramowicz W., Kożewnikow C. T. — Winodielije i winogradarstwo 1955, nr 5, s. 19.
2. Aleksandre' A., Cacchi R. — cyt. S. Waksman: Microbial Antagonisms a. Antib. Subst. New York 1938.
3. Alkiewicz P., Graczykówna J. — Med. dośw. i mikrob. 1952, t. 4, nr 5, s. 257.
- 3a. Anders. alcoholinolustrie. 1955, 68, 9:224.
4. Arpai J., Stuchlik V. — Kvasny Prumysl 1957, nr 1, s. 11.
5. Babad J., Pinsky A., R. Turner-Graff, N. Sharon: Nature 1952, nr 170, s. 618.
6. Beech F., Carr J. — J. gen. Microb. 1955, t. 12, s. 85.
7. Bizot M. — La presse medicale 1955, t. 63, nr 62, s. 1251.

8. Bockelmann J. B. — *L'écho brass.* 1955, nr 5, s. 115.
9. Berridge N. J. — *Bioch. Journ.* 1949, t. 14.
10. Berridge N. J., Newton F., Abraham E. P. — *Bioch. Journ.* 1952, T. 52, s. 529.
11. Berridge N. J., Berret J. — *J. Gen. Microb.* 1952, t. 6, s. 14.
12. Bezborodow A. M., Doromysław W. W. — *Mikrobiologja* 1955, t. 24, nr 6, s. 697.
13. Borju S. I. — *Mikrobiologja* 1957, t. 26, nr 4, s. 464.
14. Borman S. i in. — *Zeitschrift f. Lebensm. Unters. u. Forsch.* 1952, t. 94, s. 234.
15. Bowling R., Wynne E. S. — *J. inf. dis.* 1951, t. 89, nr 1, s. 297.
16. Brian P., Hemming H. — *J. Gen. Microb.* 1947, t. 1, s. 158.
17. Brian P., Curtis P. i in. — *J. Gen. Microb.* 1951, t. 5, s. 619.
18. Brian P., Gowan J. — cyt. P. Brian, H. Hemming — *J. Gen. Microb.* 1947, s. 161.
19. Brinberg S. L., Haskin L. S. — *Antibiotiki* 1955, t. 49, s. 5.
20. Carlson S. — *Arch. Hyg. Bakt.* 1953, t. 137, s. 345 oraz 1954, t. 138, s. 252.
21. Csillag A. — *Acta Microb. Acad. Sci. Hung.* 1954, t. 1, s. 321.
22. de Bary A. — cyt. Waksman l. c. poz. 165, biblj.
23. Emanuiloff I., Natscheff L. — *XVI Congr. Intern. sur le Lait... Rome* 1956, t. II, cz. 2, s. 548.
24. Garré C. — *Zentr. f. Bact....* 1887, t. 2, s. 312.
25. Gavin J. — *Appl. Microb.* 1957, t. 5, z. 1, s. 25.
26. Grossbard E. — *Antibiotic annual 1953/54*, s. 141.
27. Günther G. — *Arch. Hyg. Bact.* 1953, t. 137, s. 589.
28. Heatly N., Kelly B. — Nancy Smith — *J. Gen. Microb.* 1952, t. 6, s. 30.
29. Hirsch A. — *J. Gen. Microb.* 1950, t. 4, s. 70.
30. Hirsch A., Grinstead E. — *J. Dairy Res.* 1954, t. 21, s. 101.
31. Hirsch A. — *J. Gen. Microb.* 1951, t. 5, s. 208.
32. Hirsch A., Mattick A. — *Nature* 1944, nr 154, s. 551.
33. Hughes H. — *J. Gen. Microb.* 1955, t. 12, s. 269.
34. Hoffman O. — *Brauwiss.* 1956, nr 1.
35. Ivanovics G., Aldöldi L. — *Nature* 1954, t. 174, s. 465
36. Ivanovics G., Aldöldi L. — *J. Gen. Microb.* 1957, t. 16, s. 522.
37. Kaszkin P. N. — *Antibiotiki i ich praktičeskoje ispolzowanije. Medglz, Leningrad* 1952.
38. Knorr F. — *Brauwissenschaft* 1955, nr 5, s. 104.
39. Kielhoper K. — *Deutsche Wein-Ztg.* 1953, t. 89, nr 35, s. 638.
40. Korzybski T. — *Postępy biochemii* 1955, t. 1, nr 3/4, s. 253.
41. Korzybski T., Kuryłowicz W. — *Antybiotyki, Państw. Wyd. Lek. Warszawa* 1955.
42. Lacey J., Margaret S. — *Gen. Microb.* 1950, t. 4, s. 122.
43. Lambion R. — *Petit J. Brass.* 1955, nr 2530, s. 81.
44. Landenberger R. — *Zeitschr. Naturforsch.* 1952, t. 7b, s. 630.
45. Lipińska E. — *Acta Microb. Pol.* 1956, t. 5, s. 271.
46. Lipińska E. — *Prace Inst. Przem. Mlecz.* 1955, nr 2, s. 1.
47. Ludford C. G., Lederer M. — *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 1953, t. 31, s. 533.
48. Mattick A., Hirsch A. — *Lancet* 1947, nr 11, s. 5.
49. Mattick A. — *IV Intern. Cong. of Microb., Kopenhaga* 1947, s. 187.
50. *Mikrobiologija* 1957. Referat Kongresu Antybiot. t. 26, nr 1, s. 127.

51. Moycho M., Gromska W. — *Acta Microb. Pol.* 1956, t. 5, s. 267.
52. Möse J. R., Pötsch A. — *Arch. Hyg. Bakt.* 1954, t. 138, s. 52.
53. Michalska K. — *Med. Dośw. i Mikrob.* 1953, s. 113.
54. Nadson A., Adamowic M. — *Abstr. Zentr. f. Bakt.* 1910, część 2, t. 31, s. 287.
55. Nakhimowskaja N. — *Mikrobiologija* 1939, t. 8, s. 116.
56. Neufeld P., Kuhn H. — *Zeitsch. Hyg. Infektionskr.* 1934, t. 116, s. 95.
57. Newton B. A. — *J. Gen. Microb.* 1955, t. 12, s. 226.
58. Norris J. R. — *J. Gen. Microb.* 1957, t. 16, s. 1.
59. Nowakowska A. — *Acta Microb. Pol.* 1957, t. 6, s. 303.
60. Olitzki A. L. — *J. Gen. Microb.* 1954, t. 11, s. 160.
61. Oxford A. — *Biochem. J.* 1944, t. 38, s. 178 oraz 1945, t. 39, s. 13.
62. Pakuła R., Tyc M., Walczak W. — *Acta Microb. Pol.* 1953, t. 2, s. 293.
63. Parfientiew I. A. — *Amer. Brewer* 1954, nr 6, s. 39.
64. Pasteur L., Joubert J. — *Waksman* lc., poz. 615.
65. Pette J., Koody J. — *XII Kongres Mlecz.* 1953, t. 4, cz. 3, s. 1172.
66. Peynaud E., Lafawicade S. — *Rev. Ferment. Ind. Aliment.* 1953, t. 8, s. 228, 242. *Ref. Alkohol Ind.* 1955, t. 68, nr 9, s. 224.
67. Pringsheim E. G. — *Zentr. f. Bakt.* 1920, część 2, t. 51, s. 72.
68. Quinn L. — *Antibiot. Chemoth.* 1952, t. 2, s. 221.
69. Raper B., Thom Ch. — *A. Manual of the Penicillia.* Baltimore 1949.
70. Rogers L. A. — *J. Bact.* 1928, t. 16, s. 321.
71. Roman N. — *Yeasts.* Junk, ed *Biologia et Industria.* Hague 1957.
72. Romankowa A., Kobrina J. — *Mikrobiologija* 1955, t. 24, z. 1, s. 73.
73. Ruschmann G. — *Biol. Zentr.* 1953, t. 72, z. 7, s. 394.
74. Sacks L. E. — *Antibiot. Chemoth.* 1952, t. 2, z. 79, s. 411.
75. Seaman A., Woodbine M., Kolasiewicz A. — *Nature* 1954, t. 174, s. 406.
76. Skorodumowa A. M. — *Mikrobiologija* 1954, t. 23, s. 419.
77. Strassman M., Weinhouse S. — *J. Amer. Chem. Soc.* 1953, t. 75, z. 7, s. 1680.
78. Strandskov F., Bockelmann J. — *J. Inst. Brewing* 1955, t. 59, nr 3, s. 237.
79. Strandskov F., Bockelmann J. — *Wall. Lab. Comm.* 1954, t. 18, s. 56.
80. Stöckli A. — *Schweitz. Brau. Rundsch.* 1953, t. 64, nr 6, s. 69.
81. Stolz E., Hankinson D. — *Appl. Microb.* 1953, t. 1, s. 28.
82. Sharon N., Pinsky A., Turner-Graff R., Babad J. — *Nature* 1954, t. 174, nr 4443, s. 1190.
83. Szakall A. — *Zeitschr. f. Lebensmittelchemie Unters. u. Forsch.* 1952, t. 45, s. 2.
84. Szaposznikow W. — *Mikrobiologia techniczna.* Warszawa 1951.
85. Su T. — *J. Gen. Microb.* 1948, t. 2, z. 3, s. 22.
86. Uroma, Virtanen — 1949, cyt. M. Ingram: *An Introduction to the Microbiology of Yeasts.* Londyn 1955.
87. Eugene D. Weinberg — *J. Bact.* 1955, t. 70, s. 289.
88. Wheeler D., Hirsch A., Mattick A. — *Nature* 1951, t. 168, s. 659.
89. Williams O., Campbell L. — *Bact. Proc.* 1951, s. 16.
90. Waksman S. — *Microbial Antagonisms a. Antibiotics Substance.* New York 1945.
91. Vanossi L. — *Ref. Brauwissenschaft* 1957, z. 3, s. 79.
92. Wynne E. S., Norman J. O. — *J. Inf. Dis.* 1953, t. 93, z. 3, s. 243.
93. Visor F. C., Prescott F. J. — *The Brewers Digest* 1954, t. 29, z. 3, s. 49.