

(Akademie der Wissenschaften der DDR, Forschungszentrum für Molekularbiologie und Medizin, Zentralinstitut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie, Jena)

Ein statistisches Verfahren zur Ermittlung der Leistungs-Korrelation antibioticabildender Mikroorganismen im Labor- und Technikumsmaßstab

M. HORN, E. J. BORMANN und M. HARNISCH

Herrn Prof. Dr. F. BERGTER zum 60. Geburtstag gewidmet

(Eingegangen am 5. 1. 1984)

The antibiotic yields of industrial selectants must be checked at several steps of cultivation. Here the question arises whether the activities at the different levels of cultivation are correlated. The common coefficient of correlation cannot be used because repeated determinations of the yield at one selectant result in different values. In order to have only one fixed value per selectant we define the mean value around which the observed values are varying. Both these mean values cannot be observed. Thus, an adequate method of correlation similar to that in GUIARD and HERRENDÖRFER (1977) was used. The method is demonstrated in two examples: With selectants of *Streptomyces noursei* for streptothricin titers in 20 ml- and 20 l-cultures as well as with selectants of *Penicillium chrysogenum* for potency indices in surface cultures and penicillin titers in 50 ml submerged cultures, respectively. In both cases the coefficients of correlation were above 0.7.

Die Entwicklung und Optimierung mikrobieller Stoffwandlungsprozesse beinhaltet stets die Aufgabe, zwischen den Bearbeitungsebenen: Labor-Technikums-Produktionsmaßstab Relation in bezug auf die Leistungsfähigkeit zu ermitteln. Diese Zielstellung ist vor allem dann aktuell, wenn es entweder um die Weiterführung einzelner Selektanten geht, die auf der Laborebene aufgefallen sind oder die Unterschiede zwischen Mediumspräparationen in autoklavierten bzw. Dampf-sterilisierten Kulturfäßen beachtet werden müssen. Es interessiert dabei die Relevanz der jeweils auf der vorausgegangenen Bearbeitungsstufe erzielten Ergebnisse für die nachfolgende.

In der einschlägigen Literatur wird hauptsächlich über Untersuchungen berichtet, die sich auf den Vergleich von Emers- und Submerskulturen beziehen (DITCHBURN *et al.* 1974, MÜLLER *et al.* 1980, MÜHLIG *et al.* 1981, BALL u. MCGONAGLE 1978, TRILLI *et al.* 1982) und teilweise eine aufgefundene Korrelation vermerken.

Im Rahmen eigener Selektionsarbeiten unter Einsatz des Autoselektsystems (KNÖLL *et al.* 1981) und statistisch unterstützter Auswertungsprogramme wurden Selektanten des Stammes *Streptomyces noursei* JA 3890 b (BRADLER u. THIRUM 1963) bzw. von *Penicillium chrysogenum* mit bemerkenswerten Leistungsunterschieden gefunden, die einer Korrelationsanalyse betreffs Emers-Submerskultur und Submerslabor-Submers-technikumskultur zugrunde gelegt werden konnten. Dabei mußte eine Methode der Korrelationsberechnung entwickelt werden, die der Tatsache Rechnung trägt, daß die antibiotische Leistung der einzelnen Selektante keinen feststehenden, stets reproduzierbaren Wert annimmt, sondern einen von Parallelkultur zu Parallelkultur schwankenden Phänotypus darstellt. Außerdem war zu berücksichtigen, daß von jeder Selektante nicht immer die gleiche Anzahl von Parallelkulturen vorlag. Die ausgearbeitete Methode wird zur Diskussion gestellt, da sie über das hier behandelte Problem hinaus bei gleichgelagerten Fragestellungen allgemein angewandt werden kann.

Material und Methoden

Streptomyces noursei JA 3890 b: Die Selektanten des Ausgangsstammes lagen als Lyophilkonserven vor, die nach Aufnahme in physiologischer Kochsalzlösung auf eine submerse Anzuchtpassage übertragen werden. Diese enthielt je 100-ml-Kölbchen Medium A (GRÄFE *et al.* 1979) und wurde auf einem Rundschwingtisch 48 Std. bei 29 °C geschüttelt. Für die Laborkultivierung dienten je Selektante 18 Hauptkulturkölbchen a 20 ml eines komplexen Standardmediums, aus denen nach 96stündiger Kultivierung bei 29 °C Probe entnommen und im Plattendiffusionstest mit automatisierter Auswertung (SCHICHT *et al.* 1981) der Antibioticumtiter bestimmt wurde. Für die Kultivierung im Technikumsmaßstab wurde eine eigene Anzuchtpassage angelegt, die je 2,5-l-Flasche 400 ml Medium A enthielt und nach 48 Std. Kultivierung bei 29 °C als Impfmateriel für die kleintechnische Fermentation diente. Diese erfolgte je Selektante in einer unterschiedlichen Anzahl gerührter, belüfteter und temperierter 25-l-Glasreaktoren, die 20 l des Mediums Bo 34 mit verdoppeltem Sojaschrot-, Glucose- und CaCO₃-Gehalt enthielten. Die Bestimmung des Antibioticumtiters erfolgte analog zur Laborstufe und 144 Std. Kultur der Ansätze.

Penicillium chrysogenum: Zur Bestimmung der Potenzindizes (P_1) wurde ausgehend von Epruvettenkulturen punktförmig auf Blöckchen (DIRCHBURN *et al.* 1974) überimpft. Als Nährboden kam in Anlehnung an BALL (BALL u. MCGONAGLE 1978) ein nährstoffreduziertes, dem Fermentationsmedium angepaßtes, Komplexmedium zur Anwendung. Die Blöckchen wurden nach 5tägiger Bebrütung bei 25 °C auf Testplatten zum Antibioticumnachweis aufgesetzt. Nach 20stündiger Bebrütung bei 37 °C erfolgte die Messung der Kolonie- und Hemmhoflächen am Quantimed. Pro Selektante wurden 6 Parallelbestimmungen durchgeführt.

Zur Bestimmung der Leistung im Schüttelkolben wurden ausgehend von Sporensuspensionen Vorzuchtstufen mit definierter Sporenzahl beimpft. Nach 48stündiger Kultivierung bei 25 °C in 500-ml-Rundkolben mit 60-ml-Füllvolumen auf einem Rundschwingtisch erfolgte die Beimpfung der Hauptkultur (500-ml-Rundkolben mit 40-ml-Füllvolumen). Die Kultivierungszeit betrug 240 Std. bei 25 °C. Es erfolgte eine Substratnachdosierung. Die Medien für Vor- und Hauptkultur sowie das Fütterungsregime waren vorgegeben. Der Antibioticumtiter konnte über Agardiffusionstest mit automatischer Auswertung (SCHICHT *et al.* 1981) bestimmt werden.

Ergebnisse und Diskussion

Die arithmetischen Mittel der an 18 Selektanten von *Streptomyces noursei* JA 3890 b ermittelten antibiotischen Leistungen auf zwei Testebenen sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Auf die gleiche Weise sind in Tabelle 2 die Mittelwerte von 10 Selektanten von *Penicillium chrysogenum* gegeben. Für ein Datenmaterial, wie es diesen Tabellen zugrunde liegt, war in Standardlehrbüchern keine akzeptable statistische Methode zu finden, die sich zur Schätzung der Korrelation zwischen den antibiotischen Leistungen auf den beiden Testebenen eignet. Die Situation, in der wir uns befinden, läßt sich formal wie folgt beschreiben. An jeder von k Selektanten wurden sowohl auf Testebene 1 als auch auf Testebene 2 jeweils mehrere Bestimmungen der antibiotischen Leistung vorgenommen. Dabei fielen die Werte auf die in Tabelle 3 symbolisch dargestellte Weise an. Die Anzahlen m_i und n_i von Einzelwerten, die sich pro Selektante ergeben, können von Selektante zu Selektante unterschiedlich sein.

Die statistisch zu prüfende Frage lautet: Sind bei niedrigen bzw. hohen Leistungen auf der einen Testebene niedrige bzw. hohe Leistungen auf der anderen Testebene zu erwarten? Prinzipiell ist das ein Korrelationsproblem. Jedoch in der mathematischen Statistik ist Korrelation nur für den Fall definiert, daß an jedem von k Individuen einer Grundgesamtheit zwei Meßwerte u_i und v_i anfallen, z.B. Gewicht und Körperlänge. Jedes Individuum wird durch genau ein Wertepaar (u_i, v_i) charakterisiert. Mißt man am gleichen Individuum nochmals, dann ergeben sich genau die gleichen zwei Werte. Aus den angefallenen Wertepaaren $(u_1, v_1), \dots, (u_k, v_k)$ kann der PEARSONSche Korrelationskoeffizient

$$\varrho(u, v) = \frac{\text{Cov}(u, v)}{\sqrt{\text{Var } u \text{ Var } v}}$$

Tabelle 1

Prozentuale Unterschiede der arithmetischen Mittel von Leistungen der *Streptomyces noursei*-Selektanten

Selektante 2 = 100%

Selektante	Testebene: 20 ml		Testebene: 25 l	
	Anzahl der Parallelen	arithmet. Mittel in %	Anzahl der Parallelen	arithmet. Mittel in %
1	17	173,0	4	226,3
2	18	100,0	10	100,0
3	18	197,0	6	196,4
4	12	43,4	2	9,9
5	18	29,8	2	16,4
6	18	72,9	2	55,3
7	18	110,7	4	12,7
8	18	171,8	4	149,8
9	18	150,0	7	164,3
10	18	138,3	2	184,4
11	18	132,1	3	77,3
12	10	141,0	3	93,1
13	18	163,0	4	234,1
14	9	174,6	7	143,7
15	18	139,8	4	178,6
16	18	165,7	8	239,1
17	11	134,3	2	115,4
18	18	170,5	2	5,55

Tabelle 2

Prozentuale Unterschiede der arithmetischen Mittel von *Penicillium chrysogenum*-Selektanten in der Emerskultur (Potenzindizes) und Submerskultur (Schüttelkolbenwerte)

Selektante 2 = 100%

Selektante	Testebene: Potenzindizes		Testebene: Schüttelkolben	
	Anzahl der Parallelen	arithm. Mittel der Potenzindizes	Anzahl der Parallelen	arithm. Mittel der Schüttelkolbenwerte Selektante 2 = 100%
1	6	186	9	96,3
2	6	189	9	100
3	6	192	9	110,6
4	6	205	9	107,1
5	6	183	9	99,1
6	6	215	9	100
7	6	175	9	98,3
8	6	155	9	102,5
9	6	151	9	99,0
10	6	141	9	92,4

Tabelle 3

Angefallene Antibiotica-Einzelleistungen und arithmetische Mittel von k Selektanten auf zwei verschiedenen Testebenen

Selektante	Leistungen auf Testebene 1	Mittelwert	Leistungen auf Testebene 2	Mittelwert
1	x_{11}, \dots, x_{1m_1}	\bar{x}_1	y_{11}, \dots, y_{1n_1}	\bar{y}
2	x_{21}, \dots, x_{2m_2}	\bar{x}_2	y_{21}, \dots, y_{2n_2}	\bar{y}_2
\vdots	\vdots	\vdots	\vdots	\vdots
k	x_{k1}, \dots, x_{km_k}	\bar{x}_k	y_{k1}, \dots, y_{kn_k}	\bar{y}_k

durch die Größe

$$r(u, v) = \frac{\sum (u_i - \bar{u})(v_i - \bar{v})}{\sqrt{\sum (u_i - \bar{u})^2 \sum (v_i - \bar{v})^2}}$$

geschätzt werden.

In unserem Falle stellen die Selektanten die Individuen dar. Die zwei Größen, deren Korrelation interessiert, sind die Leistungen auf den Testebenen 1 und 2. Jedoch sind diese Leistungen bei einer Selektante keine Werte, die nur einmal ermittelt werden brauchen und dann feststehen bzw. reproduzierbar sind. Vielmehr schwanken die Werte, die sich bei Parallelkulturen mit ein und derselben Selektante ergeben, teilweise erheblich. Aus diesem Grunde kann die soeben geschilderte Schätzung der Korrelation nicht mit den ermittelten Leistungen vorgenommen werden — auch dann nicht, wenn pro Selektante nur je ein Wert auf Testebene 1 und 2 ermittelt wurde. Es dürfen aus dem selben Grunde auch die arithmetischen Mittel $(\bar{x}_1, \bar{y}_1), \dots, (\bar{x}_k, \bar{y}_k)$, nicht als Meßwerte betrachtet werden, d. h. es darf

$$r(\bar{x}, \bar{y}) = \frac{\sum (\bar{x}_i - \bar{\bar{x}})(\bar{y}_i - \bar{\bar{y}})}{\sqrt{\sum (\bar{x}_i - \bar{\bar{x}})^2 \sum (\bar{y}_i - \bar{\bar{y}})^2}}$$

nicht als das gesuchte Maß der Korrelation angesehen werden. Denn die arithmetischen Mittel sind ebenfalls keine feststehenden, reproduzierbaren Werte. Außerdem haben sie wegen der unterschiedlichen Anzahlen m_1, \dots, m_k und n_1, \dots, n_k unterschiedliche Streuungen, was gegen die bei Korrelationsbetrachtungen erforderliche Annahme der identischen Verteilung der Meßpaare spricht.

Da es also für Korrelationsrechnungen unabdingbar ist, pro Selektante nur je einen festen Wert für die beiden Testebenen zu benutzen und da im Grunde genommen nur die Korrelation zwischen den mittleren, von den Schwankungen befreiten Leistungen interessiert, definieren wir durch folgenden Modellansatz pro Stamm mittlere Leistungen für die beiden Stufen. Wir setzen für die symbolischen Leistungen x_{ij} und y_{il} (vgl. Tab. 3)

$$x_{ij} = a_i + e_{ij}, \quad y_{il} = b_i + d_{il}$$

a_i und b_i sind feste mittlere Werte der Leistung des i -ten Stammes auf den Testebenen 1 und 2. e_{ij} und d_{il} stellen Schwankungen der real anfallenden Leistungswerte um diese festen mittleren Werte dar. e_{ij} und d_{il} sollen im Mittel Null sein, d. h. $Ee_{ij} = Ed_{il} = 0$. Wir können nun die angefallenen Leistungen analog zu Tabelle 3 auf die in Tabelle 4 dargestellte Weise symbolisieren.

Nach Einführung dieses statistischen Modells besteht die Aufgabe darin, den Korrelationskoeffizienten

$$\rho(a, b) = \frac{\text{Cov}(a, b)}{\sqrt{\text{Var } a \text{ Var } b}}$$

zu schätzen. Da sich jedoch die Wertepaare $(a_1, b_1), \dots, (a_k, b_k)$ nicht beobachten lassen, kann $\rho(a, b)$ nicht durch

$$\frac{\sum (a_i - \bar{a})(b_i - \bar{b})}{\sqrt{\sum (a_i - \bar{a})^2 \sum (b_i - \bar{b})^2}}$$

geschätzt werden. Deshalb müssen wir nach einer anderen Schätzung suchen. Wir machen für unser Modell die übliche Annahme, daß jeweils gleiche Verteilungen vorliegen für a_1, \dots, a_k , für b_1, \dots, b_k , für die e_{ij} sowie für die d_{il} . Die zugehörigen Varianzen bezeichnen wir mit $\sigma_a^2, \sigma_b^2, \sigma_e^2, \sigma_d^2$. Außerdem nehmen wir an, daß Unabhängigkeiten vorliegen zwischen a_i und a_j , b_i und b_j , a_i und e_{ij} , b_i und d_{il} , a_i und d_{il} , b_i und e_{ij} , e_{ij} und

Tabelle 4

Angefallene antibiotische Leistungen und nichtbeobachtbare feste mittlere Leistungen von k Selektanten auf zwei verschiedenen Testebenen

Selektante	Leistungen auf Testebene 1	mittl. Leistg.	Leistungen auf Testebene 2	mittl. Leistg.
1	$a_1 + e_{11}, \dots, a_1 + e_{1m_1}$	a_1	$b_1 + d_{11}, \dots, b_1 + d_{1n_1}$	b_1
2	$a_2 + e_{21}, \dots, a_2 + e_{2m_2}$	a_2	$b_2 + d_{21}, \dots, b_2 + d_{2n_2}$	b_2
\vdots	\vdots	\vdots	\vdots	\vdots
k	$a_k + e_{k1}, \dots, a_k + e_{km_k}$	a_k	$b_k + d_{k1}, \dots, b_k + d_{kn_k}$	b_k

d_{il} . Dann erhalten wir

$$\text{Var } x_{ij} = \text{Var } a_i + \text{Var } e_{ij} = \sigma_a^2 + \sigma_e^2$$

$$\text{Var } y_{il} = \text{Var } b_i + \text{Var } d_{il} = \sigma_b^2 + \sigma_d^2$$

$$\text{Cov } (x_{ij}, y_{il}) = \text{Cov } (a_i, b_i) + \text{Cov } (b_i, e_{ij}) + \text{Cov } (b_i, d_{il}) + \text{Cov } (e_{ij}, d_{il}) = \text{Cov } (a, b).$$

Außerdem ergibt sich

$$\text{Cov } (\bar{x}_i, \bar{y}_i) = \frac{1}{m_i} \frac{1}{n_i} E \sum_{j=1}^{m_i} x_{ij} \sum_{l=1}^{n_i} y_{il} - E\bar{x}_i E\bar{y}_i = Eab - EaEb = \text{Cov } (a, b).$$

Bekanntlich ist $\frac{1}{k-1} \sum (\bar{x}_i - \bar{x})(\bar{y}_i - \bar{y})$ eine (erwartungstreue) Schätzung von

$\text{Cov } (\bar{x}_i, \bar{y}_i)$ und damit von $\text{Cov } (a, b)$. Somit können wir den Zähler von $\varrho(a, b)$ aus den Paaren $(\bar{x}_1, \bar{y}_1), \dots, (\bar{x}_k, \bar{y}_k)$ schätzen. Schwieriger ist die Schätzung des Nenners, d. h. die Schätzung von σ_a^2 und σ_e^2 . Es handelt sich dabei um ein Problem der Varianzkomponentenschätzung. In GUIARD und HERBENDÖRFER (1977) sind im Zusammenhang mit einem anderen Korrelationsproblem zwei unterschiedliche Schätzungen von σ_a^2 und σ_b^2 angegeben. Wir entschieden uns für folgende, in der Idee auf SNEDECOR (1948) zurückgehende Schätzungen:

$$\hat{\sigma}_a^2 = \frac{\sum_{i=1}^k (\bar{x}_i - \bar{x})^2}{k-1} - k_x \frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{m_i} (x_{ij} - \bar{x}_i)^2}{m_1 + \dots + m_k - k}$$

$$\hat{\sigma}_b^2 = \frac{\sum_{i=1}^k (\bar{y}_i - \bar{y})^2}{k-1} - k_y \frac{\sum_{i=1}^k \sum_{l=1}^{n_i} (y_{il} - \bar{y}_i)^2}{n_1 + \dots + n_k - k}$$

wobei

$$k_x = \frac{\sum_{i=1}^k \frac{1}{m_i}}{k}, \quad k_y = \frac{\sum_{i=1}^k \frac{1}{n_i}}{k}.$$

Damit erhalten wir als Schätzung $\varrho(a, b)$ die Größe

$$r(a, b) = \frac{\frac{1}{k-1} \sum_{i=1}^k (\bar{x}_i - \bar{x})(\bar{y}_i - \bar{y})}{\sqrt{\hat{\sigma}_a^2 \hat{\sigma}_b^2}},$$

wobei $r(a, b) - 1$ bzw. $+1$ zu setzen ist, falls sich ein Wert kleiner als -1 bzw. größer als $+1$ ergibt.

Aus Gründen des Vergleichs und der numerischen Berechnung erscheint es sinnvoll, den Zusammenhang zwischen $r(a, b)$ und $r(\bar{x}, \bar{y})$ anzugeben. Beide Größen haben den gleichen Zähler. Es ergibt sich

$$r(a, b) = r(\bar{x}, \bar{y}) \sqrt{\frac{\frac{\sum (\bar{x}_i - \bar{x})^2}{k-1} \frac{\sum (\bar{y}_i - \bar{y})^2}{k-1}}{\left[\frac{\sum (\bar{x}_i - \bar{x})^2}{k-1} - k_x \frac{\sum \sum (x_{ij} - \bar{x}_i)^2}{\sum m_i - k} \right] \left[\frac{\sum (\bar{y}_i - \bar{y})^2}{k-1} - k_y \frac{\sum \sum (y_{ij} - \bar{y}_i)^2}{\sum n_i - k} \right]}}$$

Da der Ausdruck unter der Wurzel stets kleiner als 1 ist, ist $r(a, b)$ stets größer als $r(\bar{x}, \bar{y})$. Folglich wird die interessierende Korrelation unterschätzt, falls $r(\bar{x}, \bar{y})$ als Maß verwendet wird. Da

$$\frac{\sum \sum (x_{ij} - \bar{x}_i)^2}{\sum m_i - k} \quad \text{und} \quad \frac{\sum \sum (y_{ij} - \bar{y}_i)^2}{\sum n_i - k}$$

Schätzungen von σ_e^2 und σ_d^2 sind, wird der Unterschied zwischen $r(a, b)$ und $r(\bar{x}, \bar{y})$ besonders groß ausfallen, wenn σ_e^2 und σ_d^2 relativ groß sind, d. h. wenn große Meßfehler und breite Leistungsverteilungen bei den einzelnen Selektanten auftreten.

Für die routinemäßige Berechnung des vorgestellten Korrelationskoeffizienten wurde ein Computerprogramm erarbeitet.

In der Arbeit von GUIARD und HERRENDÖRFER (1977), in der es um ein Problem der tierzüchterischen Genetik geht, ist ohne nähere Herleitung ein Korrelationsmaß angegeben, das bis auf einen für das dortige Problem spezifischen Faktor mit unserem $r(a, b)$ identisch ist. Das in unserer Arbeit vorgestellte statistische Modell und das zugehörige Korrelationsmaß $\rho(a, b)$ bzw. $r(a, b)$ sind nicht nur in der hier beschriebenen biologischen Situation einsetzbar, sondern überall dort, wo die Korrelation von nichtbeobachtbaren mittleren Meßwerten interessiert.

Erwähnt sei, daß auf der Grundlage von GUIARD und HERRENDÖRFER (1977) eine Planung von k , m_i und n_i möglich ist. In unserem Falle heißt das, daß die Anzahl von Selektanten und die Anzahlen von Parallelbestimmungen angegeben werden können, die nötig sind, um $\rho(a, b)$ mit einer vorgegebenen Genauigkeit zu schätzen.

In Tabelle 5 sind die Werte von $r(a, b)$ und $r(\bar{x}, \bar{y})$ angegeben, die aus den Daten der Selektanten berechnet wurden, deren Mittelwerte in den Tabellen 1 und 2 prozentual angegeben sind. Wegen der relativ starken Schwankungen der Potenzindizes bei *Penicillium chrysogenum* ist dort der Unterschied zwischen $r(a, b)$ und $r(\bar{x}, \bar{y})$ besonders groß, und die interessierende Korrelation erreicht mit $r(a, b) = 0,72$ eine beachtliche Höhe. Bei *Streptomyces noursei* JA 3890 b erreicht $r(a, b)$ den relativ hohen Wert 0,78. Der Unterschied zu $r(\bar{x}, \bar{y})$ ist allerdings unbedeutend.

Tabelle 5

Schätzwerte $r(a, b)$ des Koeffizienten $\rho(a, b)$ der Korrelation zwischen mittleren antibiotischen Leistungen zweier Prüfebene und Schätzwerte $r(\bar{x}, \bar{y})$ aus den arithmetischen Mitteln (zum Vergleich)

Stamm	$r(a, b)$	$r(\bar{x}, \bar{y})$
<i>Streptomyces noursei</i> JA 3890 b	0,78	0,74
<i>Penicillium chrysogenum</i>	0,72	0,47

Professor Dr. F. BERGTER veranlaßte mit Nachdruck die Untersuchung der Korrelation von antibiotischen Leistungsangaben verschiedener Prüfebene. Mit Dr. V. GUIARD fanden mehrere sehr wertvolle Diskussionen zur statistischen Fragestellung statt. Er verwies auf entsprechende Litera-

turstellen und stellte Literatur zur Verfügung. Dr. W. RAUSCH hat wesentliche Arbeiten zur rechnerischen Auswertung geleistet. Unter seiner Anleitung entstand ein entsprechendes Rechnerprogramm. Für diese Bemühungen sei den drei Herren Dank und Anerkennung ausgesprochen.

Literatur

- BALL, G. and MCGONAGLE, M. P., 1978. Development and evaluation of a potency index screen for detecting mutants of *Penicillium chrysogenum* having increased penicillin yields. J. Appl. Bacteriol., **45**, 67—74.
- BRADLER, G. und THRUM, H., 1963. Nourseothricin A und B, zwei neue antibakterielle Antibiotica einer *Streptomyces noursei*-Variante. Z. allg. Mikrobiol., **3**, 105—112.
- DITCHBURN, P., GIDDINGS, B. and McDONALD, K. D., 1974. Rapid screening for the isolation of mutants of *Aspergillus nidulans* with increased penicillin yields. J. appl. Bacteriol., **37**, 515—523.
- GRÄFE, U., BOCKER, H. und THRUM, H., 1979. Regulation der Glutaminsynthetasebildung in Streptomyceten. Z. allg. Mikrobiol., **19**, 235—246.
- GUIARD, V. and HERRENDÖRFER, G., 1977. Estimation of the genetic correlation coefficient by half sib analysis if the characters are measured on different offsprings. Biom. J., **19**, 31—36.
- KNÖLL, H., BRADLER, G., SCHICHT, G. und FORBERG, W., 1981. Das Autoselect-System — ein Automaten-system zur Selektion von Antibiotikaproduzenten. Acta biotechnol., **1**, 167—174.
- MÜHLIG, P., FREYSOLDT, CH., BRADLER, G. und KÜHNE, CH., 1981. Einsatz der automatischen Bildanalyse beim screening von leistungsfähigen Selektanten Turimycin-bildender Stämme. Z. allg. Mikrobiol., **21**, 591—600.
- MÜLLER, G., FIEDLER, G., NOACK, D. und SCHICHT, G., 1980. Wachstumskinetik der Kolonien und Hemmhöfe von Leistungsvarianten des Turimycinbildners *Streptomyces hygroscopicus* JA 6599. Z. allg. Mikrobiol., **20**, 335—344.
- SCHICHT, G., BRADLER, G., STEINIGER, H. und KNÖLL, H., 1981. Das Autoselectsystem — ein Automaten-system zur Selektion von Antibiotikaproduzenten. Acta biotechnol., **1**, 300—303.
- SNEDECOR, G. W., 1948. Statistical Methods. The Iowa State College Press, Ames, Iowa (4th Edition).
- TRILLI, A., CONSTANZI, I., LAMANNA, F. and DI DIO N., 1982. Development of the agar disc method for the rapid screening of strains with increased productivity. J. Chem. Techn. Biotechnol., **32**, 281—291.

Anschrift: Dr. M. HORN, Zentralinstitut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie der AdW, DDR-6900 Jena, Beutenbergstr. 11