

Aus dem Bakteriologischen Institut der Preuß. Versuchs- und Forschungsanstalt  
für Milchwirtschaft in Kiel.

# Über eine Flagellateninfektion in einer Hefenrohkultur.

Von

**Carl Robert Baier.**

Mit 3 Abbildungen im Text.

---

Bei Versuchen einer Futterhefefabrik, *Torula utilis* in einem Medium mit Ammonsulfat als Stickstoff- und Traubenzucker als Kohlenstoffquelle zu züchten, trat in einer täglich erneuerten und 8 Stunden belüfteten Zucht am 9. Tage plötzlich eine Massenentwicklung einer farblosen Flagellatenart ein. Gleichzeitig kam die Vermehrung der Hefe zum Stillstand. Nachdem vor dem Weiterimpfen der Kultur ein Ruhetag eingeschaltet worden war, war die Vermehrung der *Torula* wieder normal und die Flagellaten waren verschwunden. Der Ursprung der Infektion ist aus den Angaben der Fabrik nicht ersichtlich (Brunnenwasser?). Später wurde sie nicht wieder beobachtet.

Eine Probe der Kultur lag dem Verf. durch freundliche Vermittlung von Herrn Prof. HENNEBERG † zur Untersuchung vor, die u. a. eine eventuell technische Verwertbarkeit der Flagellaten zu prüfen hatte. Letztere scheidet jedoch schon allein an der Empfindlichkeit der Art gegenüber unkontrollierbaren Milieueinflüssen, die auch schon zum Absterben der Kultur während der Untersuchung führte. Da die Ergebnisse der Untersuchung nicht ohne wissenschaftliches Interesse sein dürften, seien sie im folgenden mitgeteilt.

### Morphologie.

Form und Größe der Zellen sind sehr verschieden und wechseln mit dem Kulturmedium. Bei guter Ernährung und guter Durchlüftung sind die Zellen größer, plumper und formveränderlicher als bei schlechter Ernährung und Durchlüftung. Die Zellen sind beim Durchkriechen von Hindernissen formveränderlich. Pseudopodien werden nicht gebildet. Die Zellform ist langgestreckt walzenförmig (Länge : Breite = 4 : 1) bis gedrungen eiförmig (Länge : Breite = 11 : 10)



Abb. 1. Rohkultur der Futterhefe mit Flagellateninfektion (Flagellaten mit Pfeilen bezeichnet).  
Vergr. 500  $\times$ .

sind ungefähr gleichlang und  $1\frac{1}{4}$ — $2\frac{1}{2}$  mal so lang wie der Körper. Die Fortbewegung ist rotierend.

Bei der ersten Betrachtung der Rohkultur dieser Flagellaten könnte man annehmen, zwei oder drei verschiedene Formen vor sich zu haben. Die Unterschiede liegen in Größe, Form und Starrheit der Zelle, relative Länge der Geißeln und Art der Nahrung. In diesen Eigenschaften zeigen sich die kleinsten Individuen recht verschieden von den größten. Ein genaueres Studium zeigt jedoch, daß es sich hierbei um fluktuierende Variationen im Sinne des QUETELET'Schen Gesetzes handelt. Die Größenklasse 12—14  $\mu$  ist unter guten Lebensbedingungen die stärkste. Von hier aus nimmt mit zu- und ab-

oder spindelförmig. In eintrocknender, daher zähflüssiger Molke wird die Form langgestreckt stromlinienförmig. Die Zelle kann durch größere gefressene Partikel stark deformiert werden. Die Größe der Zelle schwankt zwischen 6 und 22  $\mu$  Länge und 3 und 18  $\mu$  Breite. Die Zelle ist von einer zarten Hautschicht umgeben. Die Geißeln, eine Schwimm- und eine Schleppgeißel, inserieren seitlich am Vorderende. Sie besitzen je ein Basalkorn, jedoch keinen Rhizoplasten. Sie

nehmender Größe die Häufigkeit der Individuen ab. Der Verlauf der Häufigkeitskurve der Größenklassen, der dem der theoretisch zu fordernden Binominalkurve nahesteht, zeigt, daß es sich tatsächlich nur um eine Art handelt. Die Variabilität der Größe der Individuen erscheint in Verbindung mit der eigenartigen Ernährung der Tiere (s. u.) als der primäre Faktor, der die übrigen Variablen lenkt. So erklärt sich die Beobachtung, daß die kleinsten Individuen nur äußerst selten mit gefressenen Hefezellen angetroffen werden, daraus, daß die meisten Hefezellen zu groß sind, um von diesen Tieren gefressen

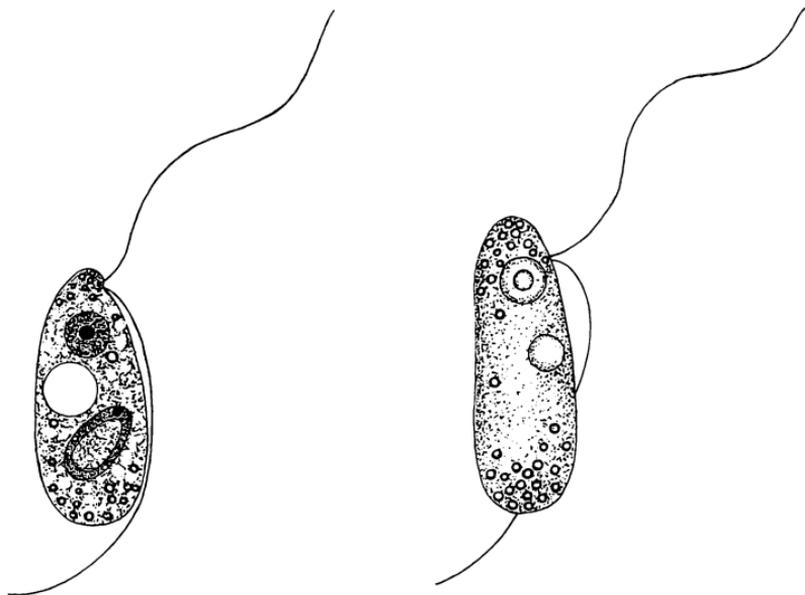


Abb. 2. Flagellat mit Kern, Kernkörper, kontraktiler Vakuole, Fetttröpfchen und gefressener Hefezelle. Vergr. 2000  $\times$ . LEITZ Ok. IV, Obj.  $\frac{1}{12}$  Ölimm. Osmiumsäure, Karbolgentianaviolett.

Abb. 3. Flagellat mit Kern, Kernkörper, kontraktiler Vakuole und Fetttröpfchen. Vergr. 2000  $\times$ , LEITZ Ok. IV, Obj.  $\frac{1}{12}$  Ölimm. Betäubt mit Kokain.

zu werden. Die größeren, mit Hefezellen vollgestopften Tiere haben allgemein relativ kürzere Geißeln als die kleinen ohne gefressene Hefezellen. Dies erklärt sich daraus, daß die Geißellänge nicht in Beziehung zur scheinbaren Größe der Tiere steht, sondern von der tatsächlichen Masse des Protoplasten abhängig ist. Diese nimmt jedoch durch gefressene, in Nahrungsvakuolen eingeschlossene Hefezellen zunächst nicht zu, wohl aber die Körpergröße der Tiere; daher die scheinbar geringere relative Länge der Geißeln. Mit der Volumvergrößerung der Zelle ist auch eine Dehnung und Verdünnung der Zellhautschicht verbunden. Die Folge hiervon ist, daß die

größeren, mit Hefe vollgestopften, plumperen Individuen bei Berührung mit Hefezellen u. ä. leicht mit Formveränderung reagieren als die kleineren. Beim Anlegen von Färbepreparaten wirkt sich die Verdünnung der Hautschicht dahin aus, daß die betreffenden Tiere bei der Fixierung leicht platzen und zerfließen, während bei den kleineren die Zellkontur erhalten bleibt.

Der Zellkern ist rund, besitzt einen großen Nucleolus und liegt im Vorderende der Zelle nahe der Geißelbasis. Ein besonderer Kinetonucleus ist nicht vorhanden. Eine kontraktile Vakuole wurde in der Körpermitte beobachtet. Als Reservestoffe werden Öltröpfchen vorwiegend an den Körperenden gespeichert. Am Hinterende der Zelle sind die Kügelchen meist etwas größer als am Vorderende. Hier werden sie in dichter, schalenförmiger Anordnung unter der Zelloberfläche abgelagert und füllen später das ganze Volum der Zellspitze, den Kern an der Vorderseite umhüllend. Beim Absterben des Tieres fließen sie oft zu einem Tropfen zusammen. Im Hinterende ist ihre Lagerung meist weniger dicht.

Unter ungünstigen Lebensbedingungen werden Dauerzellen gebildet. Diese entstehen durch Abrundung des Körpers und Ausbildung einer Membran. In der Cyste sind der zentrale Kern und Fetttropfchen erkennbar.

### Systematik.

Das Fehlen von Chromatophoren und eines lokalisierten Zellmundes (s. u.) sowie die Ablagerung von Fett als Stoffwechselprodukt verlangen die Einreihung der Art in die Ordnung der *Pantostomatinae*. Körperbau und Geißeln weisen weiter auf die Gattung *Cercobodo*. Gegen eine solche Bestimmung spricht das Fehlen von Pseudopodien und amöboider Bewegung und eines Rhizoplasten. Auch von *Bodopsis* ist die Art durch das Fehlen der Pseudopodien und der muldenförmigen Vertiefung an der Geißelbasis unterschieden. Trotz äußerer Ähnlichkeit spricht die Art der Nahrungsaufnahme an beliebiger Stelle der Körperoberfläche und das Fehlen eines Kinetonucleus gegen die Zugehörigkeit zur Gattung *Bodo*. Vorliegende Art weist, besonders ökologisch, viel Ähnlichkeit mit einem von H. ZICKES (Allg. Z. f. Bierbrauerei u. Malzfabr., 1910) beobachteten Flagellat auf, bei dem es sich nach der allerdings lückenhaften Diagnose jedoch tatsächlich um *Bodo* zu handeln scheint. Eine Einreihung als chlorophyllose Form in für gewöhnlich Chloro-

phyll führende Gattungen ist nicht möglich. Ob es sich bei vorliegendem Flagellat um eine neue Art handelt, kann an Hand des vorliegenden Untersuchungsmaterials nicht entschieden werden.

### Vermehrung.

Die ungeschlechtliche Vermehrung geschieht durch Längsteilung. Diese wird durch Teilung der Geißeln eingeleitet. Die Abschnürung erfolgt vorwiegend von vorn nach hinten. Nicht selten tritt eine inäquale Längsteilung auf, deren Endstadien eine Querteilung vortäuschen können. Dabei sind die durch Längsteilung entstehenden Tochterindividuen ungleich groß und die kleinere dreht sich vor dem Abreißen der letzten, an das Hinterende verschobenen, Plasma- brücke soweit ab, daß die Längsachsen der beiden Zellen zuletzt einen gestreckten Winkel bilden. Erst dann reißt die Verbindung ab. Die Nahrungsvakuolen und der überwiegend größte Teil des Reservefettes verbleibt dem größeren der Tochterindividuen allein. Geschlechtliche Vermehrung wurde nicht beobachtet.

Zur Klärung physiologischer Fragen wurde versucht, die Flagellaten von der begleitenden Hefe zu trennen. Sämtliche Versuche in dieser Richtung schlugen fehl. Der Grund hierfür ist nicht klar ersichtlich. Die Flagellaten wurden dadurch isoliert, daß sie durch eine 0,1proz. Lösung von prim. Kaliumphosphat in eine Kapillare gelockt, in steriles Leitungswasser überführt und erneut eingefangen wurden. Nach sechsmaliger Wiederholung dieser Passage wurden die Tiere in Dextrosehefewasser gegeben. Es trat jedoch in zahlreichen Versuchen keine Vermehrung der Flagellaten, wohl aber nicht selten eine Vermehrung der Hefe ein, die wohl unverdaut in Nahrungsvakuolen mitverschleppt wurde. Um festzustellen, ob der Grund für das Nichtgedeihen der Flagellaten in der sterilen Nährlösung durch das Fehlen geformter Nahrung bedingt war, wurden die isolierten Tiere in Reinkulturen von *Bct. coli*, *Bct. vulgare*, *B. mesentericus*, *Streptococcus cremoris* und *Torula pulcherrima* in Dextrose-Hefewasser gegeben. Das Ergebnis war: keine Vermehrung der Flagellaten in den Bakterienreinkulturen, dagegen Vermehrung in 16 von 20 *Torula*-Kulturen. Auch Reinzuchtversuche in durch Hitze abgetöteten *Torula*-Kulturen blieben erfolglos. Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, daß eine Reinkultur unmöglich ist, da die Tiere auf lebende Hefe als Nahrung angewiesen sind. Im folgenden wurde daher mit einer Rohkultur aus Flagellaten, *Torula utilis*, *Oospora lactis* und Bakterien gearbeitet.

Verschiedene physikalische, chemische und biologische Faktoren sind für die Vermehrung der Tiere von Bedeutung. Von solchen wurde untersucht der Einfluß des Lichtes, der Temperatur, der Durchlüftung, der Reaktion des Mediums, der Ernährung und des relativen Lebensraumes. Geringen Einfluß auf die Vermehrung hat das Licht, wie Parallelkulturen in Dunkelheit, Sonnenlicht und Lampenlicht zeigten. Indirektes Licht zeigte gar keinen Einfluß auf die Vermehrung. Direktes Sonnenlicht führte jedoch zu Vermehrungsstillstand und Absterben.

Von starkem Einfluß auf die Vermehrung der Flagellaten ist die Temperatur. Das Temperaturminimum liegt bei  $10^{\circ}\text{C}$ , das Optimum bei  $28^{\circ}$  und das Maximum zwischen  $30$  und  $35^{\circ}$ . In den ersten 24 Stunden erfolgte bei bestimmten Ernährungs- und Durchlüftungsverhältnissen eine Verdoppelung der Individuenzahl bei  $15^{\circ}$  in 8, bei  $20^{\circ}$  in 4,7, bei  $25^{\circ}$  in 3,2, bei  $28^{\circ}$  in 2,7 und bei  $30^{\circ}$  in 3,9 Stunden. Bei  $35^{\circ}$  ist schon eine deutliche Schädigung der Tiere festzustellen. Abgetötet oder wenigstens nicht mehr vermehrungsfähig sind die Tiere bei  $40^{\circ}$  nach 10, bei  $45^{\circ}$  nach 5, bei  $50^{\circ}$  nach 1 Minute und bei  $60^{\circ}$  nach 15 Sekunden.

Von großer Bedeutung für die Vermehrung der Tiere ist ferner die Durchlüftung des Mediums. Die Vermehrungsgeschwindigkeit einer Kultur in zylindrischen Gefäßen ist in großen Zügen direkt proportional dem Verhältnis von freier Oberfläche zur Tiefe der Kultur. Die rührt wohl daher, daß eine Vermehrung vorwiegend an der Oberfläche der Kultur stattfindet und die Tiere dieser Schicht dann beim Durchmischen auf die ganze Tiefe der Kultur verteilt werden. In Glasröhrchen ist eine deutliche Niveaubildung etwa 1—3 mm unter der Oberfläche bemerkbar. Sie verschwindet bei Luftabschluß. Ebenso sammeln sich die Tiere unter dem Deckgläschen an Luftblasen an und entfernen sich nach einiger Zeit wieder, wenn der Sauerstoff heraus- bzw. die Kohlensäure hineindiffundiert ist.

Der Gehalt des Mediums an organischer Substanz kann sehr weit gespannt sein. Die Flagellaten gedeihen sowohl in konzentrierter wie auch in 10fach verdünnter Molke (in letzterer besser) oder auch in 10proz. Traubenzuckerlösung mit anorganischen Salzen.

Auch die Reaktion des Mediums darf in weiten Grenzen schwanken. Aus rein technischen Gründen konnten hierüber jedoch nur wenige Beobachtungen gemacht werden. Reaktionen von  $\text{pH}$  4,3 bis 8,6 werden gut und dauernd vertragen. Über die Vermehrung dabei kann jedoch nichts Näheres ausgesagt werden. Sie ist stark bei einem  $\text{pH}$  um 5,5. In verdünnter Molke wird 0,5 Proz. Milchsäure vertragen; Vermehrung findet dabei jedoch nicht statt. Schwache

Vermehrung ist erst bei 0,2 Proz., starke bei 0,1 Proz. möglich. Durch 1 Proz. Säure werden die Tiere nicht abgetötet, sondern sie vermehren sich nach Säurezehrung durch die Kahlmhefen wieder. Säurezehrung scheint durch die Flagellaten nicht verursacht zu werden, sondern im Gegenteil wird in der Rohkultur die Säurezehrung der Kahlmhefen durch die Flagellaten gehemmt.

Weiter wurden Untersuchungen über den Einfluß des relativen Lebensraumes auf die Vermehrung der Flagellaten angestellt. In etwa den ersten 24 Stunden erfolgt die Vermehrung regelmäßig, ungefähr nach der Formel  $Z = a \cdot v^t$ , wobei  $Z$  die Individuenzahl pro Kubikzentimeter nach  $t$  Stunden,  $a$  die Individuenzahl pro Kubikzentimeter zu Beginn des Versuches und  $v$  die Vermehrung in 1 Stunde ist. Später geht die Vermehrungskurve jedoch in eine Form über, die einer Kurve der Gleichung  $Z = (v-h)^t$  ähnlich ist, wobei  $h$  eine Vermehrungshemmung ausdrückt, die mit wachsender Individuenzahl ( $Z$ ) wächst, aber nicht so regelmäßig, daß man sie rechnerisch erfassen könnte. Diese Vermehrungshemmung muß durch mehrere Faktoren bedingt sein. Als solche könnte man annehmen: Mangel an Nahrung, Anhäufung von Stoffwechselprodukten und einen räumlich wirkenden Faktor, der einer Überfüllung des Lebensraumes entgegenarbeitet. Nach Erreichung eines maximalen Wertes nimmt die Individuenzahl einer Kultur gleichmäßig wieder ab. Daß stabile toxische Stoffwechselprodukte nur von geringer Bedeutung für die Abnahme der Vermehrungsgeschwindigkeit und der Individuenzahl sein können, zeigt die Tatsache, daß in Kulturen, die wiederholt durch Erwärmung oder Filtration sterilisiert und erneut geimpft wurden, die maximale Individuenzahl nur wenig geringer und der Abfall der Kurve der Individuenzahl nach Überschreitung des Maximums nur wenig steiler war als in unbehandelten Kulturen. Eine Hemmung der Vermehrung durch Nahrungsmangel kann bei dem verwendeten Kulturmedium (Dextrose-Hefewasser) nicht angenommen werden und wird auch durch die Ergebnisse vorstehenden Versuches widerlegt. Daß im unbehandelten Teil der Kultur die Maximalvermehrung die im behandelten nicht wesentlich übertrifft, daß also — wie auch wiederholt beobachtet wurde — eine bestimmte Individuenzahl im Kubikzentimeter nicht überschritten wird, läßt auf das Vorhandensein eines räumlich wirkenden Faktors schließen. Unwahrscheinlich ist es, daß dieser durch eine rein mechanische gegenseitige Beeinflussung der Tiere bedingt wird. Naheliegender ist vielmehr, daß gewisse toxische Stoffwechselprodukte, die schnell wieder zerfallen, sich um so mehr ansammeln, je mehr Tiere gleich-

zeitig vorhanden sind, während die Menge der vorher erwähnten, nicht labilen Stoffwechselprodukte von der Gesamtzahl der in der Kultur vorhandenen und vorhanden gewesenen lebenden und abgestorbenen Tiere abhängt. Entsprechende Verhältnisse liegen in Bakterienkulturen vor (vgl. C. R. BAIER, A. f. Hydrobiol. Bd. 29, 1936).

Seine Bestätigung findet der oben besprochene Versuch in einem weiteren, in dem die Individuenzahl dadurch vermindert wurde, daß in einem Teile einer Kultur mit frischem Kulturmedium verdünnt wurde. Die Vermehrung in dem verdünnten Teil erfolgte schneller und zu einem etwas höheren Maximalwert als in dem unverdünnten Teil der Kultur, offenbar weil durch die Verdünnung auch die hemmenden stabilen Stoffwechselprodukte verdünnt wurden. Das Maximum der Individuenzahl war in beiden Kulturen jedoch nicht sehr verschieden, wohl infolge der begrenzenden Wirkung der nicht verdünnten (weil erst nachher ausgeschiedenen) labilen Stoffwechselprodukte. Der für die ersten 24 Stunden angegebene, sich mit dem theoretischen deckende Verlauf der Vermehrung erfolgt nur, wenn im Kulturmedium schon vor der Einsaat der Flagellaten die Hefe vorgezchtet ist. Wird die Hefe erst mit der Rohkultur der Flagellaten zugegeben, so erfolgt die erste Vermehrung infolge von Nahrungsmangel langsamer, später jedoch in derselben Weise.

### Ernährung.

Die Ernährung der Tiere ist animalisch. Die Nahrungsaufnahme geschieht durch Vakuolenbildung an irgendeiner Stelle der Körperoberfläche, vorwiegend jedoch der hinteren Körperhälfte. Pseudopodienbildung bei der Nahrungsaufnahme findet nicht statt. Wohl kann die in Bildung begriffenen Nahrungsvakuolen eine geringe Vorwölbung der Körperoberfläche verursachen. Die Defäkation erfolgt ebenfalls meist im hinteren Körperabschnitt.

Die bevorzugte Nahrung dieser Flagellaten sind Hefezellen<sup>1)</sup>. Sie werden in allen möglichen Größen aufgenommen. Ihr Durchmesser kann manchmal sogar die Breite der tierischen Zelle übertreffen. Durch eine große oder mehrere kleinere Hefezellen kann der Körper des Tieres vollkommen deformiert sein. Zuweilen läßt sich beobachten, daß ein langer Mycelfaden an einer Körperseite gefressen und an der gegenüberliegenden sogleich wieder angestoßen

<sup>1)</sup> Daß verschiedene *Bodo*-Arten gelegentlich Hefezellen aufnehmen, wurde nach freundlicher Mitteilung von Herrn Prof. Dr. PASCHER in seinem Laboratorium von VLK und KLUG wiederholt beobachtet. Desgleichen wird es schon von STEIN und KLEBS erwähnt.

wird. In der kurzen Zeit seines Aufenthaltes im Inneren des Tieres erleidet sein Protoplasma eine deutliche, an der Lichtbrechung erkennbare Veränderung. Bei der Verdauung der Hefezellen ändert sich zunächst die Lichtbrechung des Protoplasmas; dann bilden sich „Vakuolen“ und zuletzt bleibt noch die Zellwand mit einem dünnen Belag zurück. Das Volutin und Glykogen der Hefe wird bald verdaut, nicht dagegen die Fetttropfchen. Zuweilen kommt es auch vor, daß die Hefezellen unverdaut und vermehrungsfähig wieder ausgestoßen werden.

Als Nahrung aufgenommen und verdaut werden auch die Fetttropfchen der Molke. Die Verdauung geht so vor sich, daß sich auf der Oberfläche der Fettkugel gestreckte, verzweigte Korrosionen bilden, die sich allmählich zu unregelmäßig umgrenzten Löchern verbreitern, so daß die Fettkugel zur Halbkugel und Kugelkappe oder Kugelzone wird und schließlich ganz verschwindet. Interessant ist, daß das Milchfett, nicht dagegen das gleichzeitig vorhandene Reservefett und das Fett der Hefezellen verdaut wird. Dies erklärt sich wohl durch die verschiedene Zusammensetzung der verschiedenen Fette.

Bakterien werden auch gefressen, treten aber neben der Hefe an Bedeutung weit zurück. Wie aus den oben beschriebenen Kulturversuchen hervorgeht, scheinen sie keine vollwertige Nahrung für diese Flagellaten darzustellen. Wird jedoch in einer Zucht die Hefe später, nachdem die Flagellaten sich stark vermehrt haben, durch unverschlingbare Mycelpilze und Bakterien verdrängt, so scheinen die Bakterien neben wenig Hefezellen die Ernährung der Flagellaten allein zu bestreiten. Dem geht jedoch eine bedeutende Reduktion der durchschnittlichen Körpergröße der Tiere parallel.

Eine Nahrungswahl findet bei den Tieren nicht statt, denn Tusche- und Karminpartikel werden wahllos aufgenommen. Gelegentlich werden auch kleinere, schwach bewegliche Exemplare der eigenen Art und Cysten gefressen. Ob neben der animalischen Ernährung auch eine saprophytische einhergeht, konnte durch Kulturen nicht entschieden werden, doch ist sie nach den oben geschilderten Reinzuchtversuchen nicht anzunehmen.

### Zusammenfassung.

Es wurde eine in synthetischer Hefenährlösung als Infektion auftretende Flagellatenart beschrieben, die sich vorwiegend von Hefezellen ernährt und weitgehende Anpassungen an das eigenartige Milieu zeigt.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Archiv für Protistenkunde](#)

Jahr/Year: 1936

Band/Volume: [88\\_1936](#)

Autor(en)/Author(s): Baier C.R.

Artikel/Article: [Über eine Flagellateninfektion in einer Hefenrohkultur.  
27-35](#)