Entwicklungszyklen bei Bakterien.*)

Von

Franz Fuhrmann,

Privatdozent an der Technischen Hochschule zu Graz.

Mit Tafel I.

Aus zahlreichen Untersuchungen entnehmen wir, daß die Bakterienzelle keineswegs unter allen Umständen ihre Form und Gestalt beibehält, weshalb jetzt von einer Unveränderlichkeit der Bakterien im Sinne Cohns nicht mehr die Rede sein kann. Während des ganzen Lebenslaufes ändert die Bakterienzelle ununterbrochen ihre Gestalt und die Summe aller dieser Veränderungen, die sich nicht nur an ihrer Gestalt, sondern auch an ihrer feineren Struktur abspielen, ist eben ihr Entwicklungskreis. Durch die Verwendung ganz bestimmter Nährmedien zur Zucht und ausgewählter äußerer Bedingungen gelingt es, ganz bestimmte Phasen aus dem Entwicklungskreis auszuwählen und nur diese sich immer wieder wiederholen zu lassen. Züchten wir beispielsweise den *Bacillus typhi abdominalis* auf schief erstarrtem Nähragar beim Temperaturoptimum in der Weise, daß wir nach zwölfstündigem Wachstum die Zellen immer wieder auf frisches Agar überimpfen, so werden wir im hängenden Tropfen ausschließlich kurze lebhaft bewegliche Stäbchen erkennen. Die fortwährende Erneuerung des Nährsubstrates hat zur Folge, daß sich die beweglichen Schwärmzellen unseres Bakteriums wieder in Schwärmtochterzellen und so fort teilen. Setzen wir aber mit den Überimpfungen aus und untersuchen eine mehrere Tage alte Agarkultur im hängenden Tropfen, dann beobachten wir neben beweglichen Zellen auch solche, die etwas verlängert sind und die Bewegungsfähigkeit ver-

[1]) Nach den beiden während der 78. Versammlung Deutscher Naturforscher und Ärzte in Stuttgart im September 1906 in der Abteilung für Botanik und Hygiene einschließlich Bakteriologie gehaltenen Vorträgen als vorläufige Mitteilung zusammengestellt. Dementsprechend entfielen Literaturangaben, die in der zusammenfassenden später folgenden Abhandlung über die Entwicklungskreise mehrerer *Pseudomonas*-Arten eingehende Berücksichtigung finden werden.

loren haben. Erst bei neuerlicher Überimpfung werden die letztgenannten Zellen zu Schwärmern, die sich weiter in bewegliche Tochterzellen teilen, welch letztere sich nach Erschöpfung des Nährbodens wieder in ruhende Zellen umwandeln. Wir haben also einen kleinen Entwicklungskreis vor uns, in dem zwei Formen scharf charakterisiert auffallen, die durch eine Reihe von weniger auffallenden Übergangsformen verbunden sind.

Auch bei den sporenbildenden Bakterienarten sind Entwicklungskreise bekannt. Ich erinnere an den Erreger des Milzbrandes, das *Bacterium Anthracis;* auch hier werden durch einige Generationen hindurch Kurzstäbchen gebildet. In der Folge treten gegliederte Fäden in den Vordergrund. Nach der Fadenbildung werden in diesen die Dauerformen, Sporen, erzeugt. Die restliche Sporenmutterzelle zerfällt und die freien Sporen können nun lange Zeit hindurch lebend bleiben und die verschiedensten schädigenden Einflüsse ertragen. Werden sie auf einen frischen Nährboden gebracht, keimen sie in ganz bestimmter Art und Weise und die neuentstandenen Kurzstäbchen durchlaufen wieder die gleichen Entwicklungsstadien, wie die Sporenmutterzelle.

Wir wissen aber weiter, daß in lange nicht überimpften Reinkulturen die Bakterien sehr verschiedene Wuchsformen annehmen, die von den meisten Untersuchern als Degenerationsprodukte oder Involutionsformen gedeutet werden; ähnliche Erscheinungen werden auch noch durch eine ganze Reihe äußerer Einflüsse hervorgerufen.

Es hat aber auch nicht an Forschern gefehlt, welche in diesen veränderten Formen entweder das Zeichen einer weitgehenden Pleomorphie der betreffenden Bakterienart sahen oder aber ganz bestimmte Phasen eines großen Entwicklungskreises. Haben doch zahlreiche Untersuchungen an den Erregern des Rotzes, der Pest, der Diphtherie und Tuberkulose Formen aufgedeckt, die die Zugehörigkeit dieser Mikroben zu den Bakterien sehr in Frage stellen.

Besonders eingehend und oft wurde der Erreger der asiatischen Cholera und überhaupt die verschiedenen Vibrionen auf ihre Formveränderlichkeit untersucht. Ich erwähne aus den vielen einschlägigen Publikationen nur die Arbeiten von Weibel, Kohlbrugge, Marx und Woithe, Matzuschita, Almquist, Maaßen, Gamaleia, Fischer und Hammerl, auf die hier des näheren nicht eingegangen werden kann.

Im allgemeinen geht aus allen Untersuchungen hervor, daß die Vibrionen inbezug auf ihre Form äußerst labil sind. Schon die in wenige Tage alten Vibrionenkulturen angehäuften Stoffwechselprodukte, nach Ruata insonderheit das gebildete Ammoniak, bewirken tiefgreifende Veränderungen in der feineren Struktur und in der Form der Zellen. Die gleiche Wirkung üben gewisse Neutralsalze des Natriums, Kaliums und besonders des Lithiums aus, wenn sie in geringeren oder höheren Konzentrationen in der Fleischbrühe oder im Nähragar vorhanden sind. Diese Ver-

suche haben auch die interessante Tatsache ergeben, daß die Formveränderungen keineswegs immer mit schweren Schädigungen des Bakterienprotoplasten verbunden sein müssen, sondern daß die andersgestalteten Zellen ihre Lebensenergie vollständig bewahrt haben und in entsprechende Bedingungen gebracht wieder Individuen der ursprünglichen Form hervorzubringen vermögen.

Daß wir nun berechtigt sind, in dem konstanten Auftreten dieser ungewöhnlichen Formen gewisse Typen der verschiedenen Stadien von Entwicklungszyklen der Bakterien zu erblicken, sollen die folgenden Untersuchungen zeigen.

Gelegentlich der bakteriologischen Untersuchung von Flaschenbieren züchtete ich Bakterienarten rein, die unter bestimmten Bedingungen immer bestimmte Formveränderungen aufwiesen. Diese sind immer von bestimmten Veränderungen des Zellinhaltes begleitet. Am genauesten habe ich diese Verhältnisse an *Pseudomonas cerevisiae* untersucht. Von einer eingehenden Besprechung aller Versuche sehe ich hier ab und hebe im Folgenden nur die wichtigsten heraus.

Die genannte Bakterienart[1]) gedeiht auf allen üblichen Laboratoriumsnährböden bei einer Temperatur von ungefähr 22° C. am besten. Die beispielsweise innerhalb von 48 Stunden auf neutraler zehnprozentiger Nährgelatine gewachsenen Zellen erscheinen im hängenden Tropfen untersucht annähernd gleich. Eine genaue Feststellung ihrer Größe ergibt nur geringfügige Unterschiede derselben. Die Mehrzahl der an den Enden leicht abgerundeten Stäbchen ist ausgezeichnet beweglich. Daneben finden sich verhältnismäßig wenig unbewegliche etwas verlängerte Zellen. Um nun den ganzen Verlauf der Entwicklung an einer Zelle in neutraler Nährbouillon bequem verfolgen zu können, fing ich die Bakterienzellen in den Maschenräumen von sehr dünn geschnittenen und dann sterilisierten Hollundermark- oder Sonnenblumenmarkplättchen. Diese beschickten Plättchen wurden dann in der sterilen feuchten Kammer gehalten und so dauernd beobachtet. In der Nährbouillon verläuft die Entwicklung nun folgendermaßen: Das bewegliche Kurzstäbchen verlängert sich ungefähr auf die doppelte Zellenlänge. Dabei wird die Bewegung träger. Diese besteht dann in einem geringen Hin- und Herwandern der verlängerten Zelle. Hierauf findet die Durchschnürung in der Mitte statt und plötzlich fahren die beiden Tochterzellen auseinander. Beide Tochterzellen verlängern sich dann ohne Einstellung ihrer Bewegung, die nur mit zunehmender Länge verlangsamt wird und unmittelbar vor der Durchschnürung beider Zellen den früher geschilderten Typus annimmt. Dann trennen sich die neuen Tochterzellen wieder. Diese Zellbildung wiederholt sich noch etliche Male. Die Bewegungsfähigkeit der Zellen nimmt allmählich ab. Es kommt

---

[1]) Vergl. Fuhrmann, F., Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres. I. *Pseudomonas cerevisiae.* (Centralbl. f. Bakteriolog. Abt. II. Bd. XVI. 1906.)

zur Bildung längerer Zellen, die in der Folge sich nicht mehr von einander trennen, wodurch Fadenbildungen entstehen. Die kürzeren Fäden, an denen die Gliederung noch gut zu erkennen ist, führen schlängelnde Bewegungen aus, während die langen Fäden kaum mehr eine Gliederung zeigen und bewegungslos ruhen. Sowohl in den kurzen als auch in den längeren Fäden bemerkt man größere und kleinere etwas stärker lichtbrechende Pünktchen und Körnchen und an den Enden zahlreicher Zellen birnförmige Auftreibungen. Die Fäden lagern sich nun innig aneinander, ihre Konturen verschwinden mehr und mehr und schließlich ist nur mehr ein sogenannter Detritus vorhanden, in dem noch die genannten stärker lichtbrechenden Körnchen auffallen. In diesem Ruhestadium erhält sich eine Kultur von *Pseudomonas cerevisiae* Monate lang lebend. Auf einen frischen Nährboden übertragen entwickeln sich aus diesem Detritus neue Bakterienvegetationen.

Auf die färberischen Eigentümlichkeiten dieser stärker lichtbrechenden Kügelchen und Körnchen in den Fadenbildungen und im Detritus kommen wir später zurück.

Züchten wir nun *Pseudomonas cerevisiae* auf der schief erstarrten Agarfläche bei 34—35° C., so findet nur eine spärliche Vermehrung der Zellen statt und die oben angedeuteten Entwicklungsphasen werden in kurzer Zeit durchlaufen, wobei noch die Mehrzahl der Stäbchen den gleichen Entwicklungszustand zeigt, was natürlich die Beobachtung wesentlich erleichtert. Außerdem bewirkt die hohe Temperatur eine geringe Vergrößerung der Zellen, wodurch wieder die Protoplasmastruktur deutlicher zur Anschauung gelangt.

Die oben mitgeteilte Beobachtungsmethode mit Hollundermark in der feuchten Kammer hat viele Vorzüge, aber den Nachteil, daß nach kurzer Zeit Sauerstoffmangel eintritt. Durch öfteres Lüften kann dem allerdings vorgebeugt werden, dadurch erhöht sich aber die Gefahr einer Verunreinigung von außen. Aus diesen Gründen benutzte ich diese Versuchsanordnung in der Folge nur zur Beobachtung der verschiedenen Stadien innerhalb weniger Stunden.

Schon nach wenigen Stunden findet in der hohen Temperatur eine geringe Vergrößerung der Zellen in allen Dimensionen statt. Nach 12 Stunden finden sich nur mehr sehr wenig gut bewegliche Kurzstäbchen. Die Tochterzellen bleiben zu Fadenverbänden vereinigt, die zuerst noch eine Gliederung erkennen lassen, später aber den Eindruck echter Fäden machen. Nach 24 Stunden findet man fast ausschließlich lange Fäden, die im hängenden Tropfen untersucht Schlangenwindungen ausführen. Sie sind nicht im ganzen Verlauf gleich dick, sondern zeigen Einschnürungen und besonders an den Enden mehr oder weniger deutlich kolbige Auftreibungen. Nach 48 Stunden fallen schon im ungefärbten Zustande etwas stärker lichtbrechende Kügelchen und Körnchen in den Fäden und in den verlängerten Stäbchen auf. Letztere sind teilweise gebläht und besitzen dann ein homogenes nur äußerst wenig lichtbrechendes Plasma. Die Enden der Fäden und auch mittlere Partien sind

durch etwas stärkeres Lichtbrechungsvermögen und schwach gekörnten Inhalt ausgezeichnet. Nach drei Tagen gewahrt man schon den Bakteriendetritus vom oben geschilderten Typus, aus dem sich nach Überimpfung auf frisches Agar bei Zimmertemperatur neue Reinkulturen unseres Bakteriums entwickeln.

Die Veränderungen der Protoplasmastruktur der Bakterien in den verschiedenen Entwicklungsphasen bringen mit Methylenblau tingierte Ausstrichpräparate sehr gut zur Anschauung. Ich benutzte dazu wenigstens ein halbes Jahr alte wässrige Lösungen dieses Farbstoffes. Die Färbedauer betrug eine halbe Stunde bei Zimmertemperatur. Wie bekannt erleiden durch das Altern Methylenblaulösungen insofern eine Veränderung, als Methylenazur gebildet wird, welches basophile Zellbestandteile rot oder rotviolett färbt. Auch das Chromatin gewisser Protozoen färbt sich damit leuchtendrot.

Wenn wir nun Ausstrichpräparate von 24 stündigen bei 34·5° C. gehaltenen Agarkulturen unseres Bakteriums mit alter wässriger Methylenblaulösung färben, so finden wir neben homogen blautingierten Zellfäden von gleichmäßiger Dicke solche, deren Protoplasma eine feine Körnelung erkennen läßt. Diese kleinen Granula haben eine etwas dunklere Farbe angenommen. In den Ausstrichpräparaten älterer bei hoher Temperatur gehaltener Agarkulturen bemerkt man in Fäden und wenigen Einzelindividuen verstreut im Protoplasma bereits größere Granula, dessen Farbe rotviolett ist. In der Folge fließen die kleineren Körnchen zu größeren zusammen und endlich sieht man nur mehr ein einziges oder nur wenige in einem Zellfaden. Es hat eine endständige Lage. In den kolbigen Auftreibungen bemerkt man in der blau gefärbten Grundsubstanz oft mehrere rote Körner. Im gefärbten Bakteriendetritus finden sich die genannten Körner vollständig in einer schwach blau gefärbten Masse eingebettet. Allem Anscheine nach handelt es sich bei diesen Körnchen um ähnliche Gebilde, wie sie Babes und Ernst und Andere in den Bakterienzellen beschreiben und die mitunter auch als sporogene Körner bezeichnet wurden. Ich möchte nur mit Nachdruck hervorheben, daß diese Gebilde keineswegs Degenerationsprodukte sind, sondern gewiß eine große Bedeutung für die Erhaltung der Art besitzen, nachdem sich aus ihnen selbst nach Monaten noch Bakterienvegetationen entwickeln. Ob wir in diesen Bildungen eine kondensierte Kernsubstanz der Bakterienzelle erblicken dürfen, vermag ich nicht zu entscheiden. Jedenfalls aber ist ihr färberisches Verhalten gegenüber Methylenazur sehr auffällig, nachdem der genannte Farbstoff gerade die Kernsubstanz der Malariaprotozoen und anderer niederer Tiere ebenso färbt. Aus diesem färberischen Verhalten allein einen Schluß auf die Chromatinnatur dieser roten Körner des Bakteriendetritus zu ziehen, erscheint mir dennoch nicht zulässig. Wohl aber sprechen viele andere Erscheinungen dafür, auf die ich hier nicht näher eingehen kann, die aber in einer später erscheinenden Abhandlung berücksichtigt werden sollen. Bezüglich dieser Körnchen möchte ich nur noch hinzufügen, daß sie bei Differenzierungs-

färbungen den Farbstoff bedeutend länger zurückhalten als die übrige Bakterienzelle oder der Bakteriendetritus. Sogenannte endogene Sporen konnte ich bei *Pseudomonas cerevisiae* niemals nachweisen, weshalb wir in diesen Körnchen auch keine Sporenvorstufen erblicken dürfen.

Aus dem bisher mitgeteilten geht hervor, daß *Pseudomonas cerevisiae* in der Tat einen großen Entwicklungskreis durchläuft, dessen einzelne Phasen durch das Auftreten ganz bestimmter Formen und Zellstrukturen gekennzeichnet sind, die unter den genannten Bedingungen immer zu beobachten sind.

Bisher wurden Verhältnisse erörtert, die sich bei der Zucht von *Pseudomonas cerevisiae* in Fleischbrühe, Nährgelatine oder Agar finden. Die genannten Nährsubstrate enthalten noch sehr hoch zusammengesetzte Stickstoffquellen und fördern das Wachstum der meisten Bakterien ganz wesentlich. Man hat aber auch schon früh erkannt, daß wenigstens für eine große Anzahl von Bakterienarten sehr einfache Stickstoff- und Kohlenstoffquellen genügen, wenn gewisse Salze in sehr geringen Quantitäten gleichzeitig vorhanden sind. Die von Arthur Mayer angegebene „stickstofffreie, mineralische Nährlösung II (M-Nährlösung)“ enthält alle zum Aufbau der Bakterienzelle nötigen Elemente in entsprechenden Verbindungen mit Ausnahme des Stickstoffes, den ich als Chlorammonium in ein- bis zweiprozentiger Menge zufügte. Außerdem setzte ich noch als besondere Kohlenstoffquelle ein halb Prozent Saccharose zu. Es ist wohl überflüssig, die schon allseits anerkannten Vorzüge einer aus chemisch genau definierten und jederzeit in reiner Form erhältlichen Chemikalien hergestellten Bakteriennährsubstanz noch anzuführen. In der oben beschriebenen Nährlösung gedeiht unsere Bakterienart bei Zimmertemperatur noch gut, wenn auch die Vermehrung der Zellen verhältnismäßig langsam geschieht. Im allgemeinen sind die Wuchsformen dabei etwas vergrößert. Auch hier teilen sich die eingeimpften Kurzstäbchen zuerst in bewegliche Zellen, die sich von einander anfangs trennen, später aber zu Ketten vereint bleiben und ihre Bewegungen einstellen. Einzelne Glieder der Ketten und die zu zweit vereinten Stäbchen ändern dann ihre Form und nehmen eine Keulengestalt an, die an Diphtheriebazillen erinnert. Die an einem Zellpol aufgetretene Auftreibung wird immer größer; der Inhalt dieser Gebilde ist nicht mehr homogen, sondern ein oder mehrere etwas stärker lichtbrechende Kügelchen werden darin sichtbar. Die gegliederten Kettenverbände sind von zwei bis drei derartigen Bildungen ungleich abgeteilt. Auffallend ist die Erscheinung, daß sich in den Ketten immer zwei Auftreibungen oder Kolben mit ihrem Scheitel berühren, während die Endauftreibungen der zu zweit vereinten Stäbchen an den von einander entfernten Zellpolen auftreten. Während nun die kolbigen Auftreibungen immer größer werden, nimmt die Anzahl der etwas stärker lichtbrechenden Körperchen in den von Anschwellungen freien Zellen des Fadens ab und ihr Inhalt verliert mehr und mehr sein ursprüngliches Lichtbrechungsvermögen. Sobald die Kolben ihre volle Größe er-

reicht haben, hat auch der nichtkolbig verdickte Teil des einseitig kolbig verdickten Stäbchens seinen Inhalt fast vollständig verloren und erscheint etwas zusammengezogen und leer. Dadurch nähert sich die Gestalt der fertigen Endkolben der Kugelform, ohne aber jemals vollständige Kugelform anzunehmen. Diese Kolben bleiben nun wochen- und monatelang in diesem Nährsubstrat lebensfähig. Im gefärbten Ausstrichpräparat sind sie nach Methylenblautinktionen entweder homogen dunkelblauviolett gefärbt oder enthalten in einer hellblauen Grundmasse ein oder mehrere rotviolette Kügelchen. In sehr alten Chlorammoniumkulturen bildet sich ein Bodensatz, in dem sich neben sehr großen gut färbbaren Kolben in überwiegender Mehrheit die schon oft genannten Körnchen und Kügelchen finden. Aus den Kolben und den zuletzt genannten Kügelchen entwickeln sich nach Übertragung auf einen frischen Nährboden neuerlich schwärmende Kurzstäbchen.

Gerade im letztgenannten Nährboden sind die einzelnen Entwicklungsformen sehr scharf charakterisiert.

Die Untersuchungen von Matzuschita, Hammerl und Anderen haben ergeben, daß gewisse Neutralsalze, darunter auch $ClNH_4$, einen gestaltgebenden Einfluß auf Bakterienzellen, insonderheit Vibrionen, ausüben. Ich kann diese Befunde bestätigen, jedoch mit der Einschränkung, daß nur die Größe der Zellen mit zunehmendem Salzgehalt bis zu einem gewissen Grade zunimmt und der Ablauf der einen Entwicklungsphasen dadurch beschleunigt wird. Dies gilt ganz besonders für das Chlorammonium. Erst ein großer Zusatz dieses Salzes von mindestens fünf Prozent bewirkt plötzliche Veränderungen der Bakterienformen, ohne daß dabei die einzelnen Entwicklungsstadien durchlaufen werden. Durch plötzlich erzeugte hohe Salzkonzentrationen wird aber das Wachstum vollständig unterdrückt und die Zellen deformiert. Es kommt dann überhaupt nicht zur Bildung aller jener Formen, die derartig schädigende Einflüsse zu überdauern vermögen. Von der Richtigkeit dieser Anschauung belehrt uns folgender einfacher Versuch: Bringen wir etwas einer mehrere Monate alten Agarkultur von *Pseudomonas cerevisiae* in die früher angegebene Chlorammonium-Saccharose-Nährlösung mit einem Gehalt von zehn Prozent $ClNH_4$ und bewahren diese Aufschwemmung zwei Wochen hindurch auf, so findet keine formelle Veränderung der Kügelchen des Bakteriendetritus statt. Eine Entwicklung unterbleibt. Säen wir nun diese Aufschwemmung nach Abzentrifugieren der Chlorammoniumlösung auf Nähragar aus, so entwickeln sich zahlreiche Kolonien unseres Bakteriums. Behandeln wir aber eine 18stündige Agarkultur ebenso, so werden die Zellen getötet, trotzdem das davon angefertigte Präparat eine Menge hypertropher Wuchsformen zeigt. Dieser Versuch zeigt aber noch mehr. Wie wir sehen, sind die jungen Schwärmzellen gegen schädigende Einflüsse viel weniger widerstandsfähig als die Formen des Endstadiums im Entwicklungskreis.

Dies liegt aber auch in der Natur des Entstehens der einzelnen Formen des Entwicklungszyklus. Die verschiedenen scharf unter-

scheidbaren Formen entstehen entsprechend der Abnahme der günstigen Ernährungsbedingungen. Solange sozusagen optimale Bedingungen herrschen, entwickelt unser Bakterium ausschließlich Schwärmzellen. Erst später kommt es zur Bildung aller jener Formen, die unter den immer ungünstiger werdenden äußeren Verhältnissen für die Erhaltung der Art durch ihre zunehmende Widerstandsfähigkeit von der größten Bedeutung sind. Ganz analoge Verhältnisse finden wir ja auch bei den sporenbildenden Bakterien. Die in der freien Natur vegetierenden Bakterien sind nun so manchen plötzlich auf sie einstürmenden Schädlichkeiten ausgesetzt und solchen, die allmählich in verstärktem Maße auf sie wirken. Gegen erstere werden sie schutzlos, gegen letztere aber durch die Endformen ihres Entwicklungskreises gefeit sein. Solche langsam wirkende Einflüsse können wir nun künstlich in den Reinkulturen dadurch schaffen, daß wir die betreffende Bakterienspezies in Nährsubstraten züchten, die eben noch eine Vermehrung der Zellen zulassen. Dieses ist nun durch die Verwendung sehr einfacher Stickstoffquellen, wie es $ClNH_4$ ist, leicht erreichbar. Andere Bakterienarten, die sich nur bei der Darreichung komplizierter Stickstoffquellen zu vermehren vermögen, müssen wieder bei der für sie eben noch ausreichenden N.-Quelle kultiviert werden.

Es erhebt sich nun die Frage, ob jede Zelle den ganzen geschilderten Entwicklungskreis durchmachen muß oder ob durch Übertragung auf optimale Nährböden sich aus jeder Zwischenform die Stäbchenform wieder rückbilden kann. Für *Pseudomonas cerevisiae* läßt sich die Frage dahin entscheiden, daß in der Tat sich jede Form des Entwicklungskreises wieder in die Kurzstäbchenform zurückführen läßt. Jede Chlorammoniumreinkultur enthält ja die verschiedenen Entwicklungsformen gleichzeitig, da bei der Verimpfung durchaus nicht nur gleichaltrige und gleichwertige Zellen übertragen werden. Wenn wir daher in einem hängenden Tropfen etwas von einer Chlorammoniumkultur oder einer bei höherer Temperatur gezüchteten Agarkultur unseres Bakteriums in Peptonwasser verimpfen, können wir die Neubildung der Kurstäbchen direkt unter dem Mikroskop verfolgen. Es ergibt sich dabei die bemerkenswerte Tatsache, daß bei der Rückentwicklung der Zwischenformen genau die bereits durchlaufenen Stadien in umgekehrter Reihenfolge bis zum Kurzstäbchen zurückgelegt werden, wenn das Stadium der Endkolben noch nicht vollständig erreicht ist. Die etwas stärker lichtbrechenden Kügelchen verteilen sich in den Fadenbildungen in Form immer kleinerer Körnchen, wodurch der Zellinhalt ein immer homogeneres Aussehen erhält. Dann findet ein Zerfall in die einzelnen noch verlängerten Glieder statt, die sich dann durch Teilung in die schwärmenden Kurzstäbchen verwandeln. Sobald aber die Endkolben vollständig ausgebildet sind, wird nicht mehr das Stäbchen durch rückläufige Durchwanderung des Kolbenbildungsprozesses gebildet. Die Endkolben zeigen dann in ihrem Inhalt untereinander gleichgroße Körnchen und bekommen das Aussehen von Sporangien. Am verschmälerten Ende des Kolbens treten dann diese Körnchen unter Zunahme ihrer Größe

in Gestalt von Stäbchen aus, die noch als Kette vereint dem Kolben anhängen. Dann erst werden die Glieder frei und schwärmen als Kurzstäbchen in der Flüssigkeit. Auch aus den mit Methylenazur rotviolett färbbaren Kügelchen des Bakteriendetritus bilden sich kurze Kettchen, die sich dann in die schwärmenden Zellen auflösen.

Eine andere bemerkenswerte Erscheinung möchte ich nicht verschweigen, trotzdem ich sie noch nicht weit genug verfolgen konnte, um sie vollkommen zu erklären. Bei der Rückbildung der Fäden und verlängerten Stäbchen, entstehen meistens seitlich an der Zellwand kleine Warzchen, die sich langsam vergrößern und schließlich als homogene schwach lichtbrechende Kugeln abgestoßen werden. In einzelnen solchen Gebilden beobachtet man in der Folge eine Zerteilung des Inhaltes in 6—8 sich scharf abhebende Kügelchen, die dann austreten und sich nur wenig bewegen. Sie sind sehr klein und besitzen eine runde Form. Später findet man sie nicht mehr in der Kultur. Trotz eifriger Bemühungen ist es mir bis jetzt nicht gelungen, festzustellen, was aus ihnen wird. Ich muß deshalb die Frage offen lassen, ob sie für die weitere Entwicklung der Bakterienart von Bedeutung sind oder nur vergängliche Ausscheidungen der Bakterienzelle darstellen. Anknüpfend an diese Beobachtung möchte ich nur hinzufügen, daß *Pseudomonas myxogenes,* eine aus Flaschenbier isolierte Bakterienart, auf die ich im folgenden noch zurückkomme, auf der Nährgelatine zwei differente Oberflächenkolonieformen regelmäßig bildet. Im Anfang dachte ich natürlich an eine Verunreinigung. Ich impfte nun unter dem Mikroskop von jeder Kolonie ab, und die davon angelegten Agarkulturen zeigten nicht die geringsten Unterschiede, ebensowenig konnte ich in gefärbten und ungefärbten Präparaten Differenzen zwischen den Stäbchen aus beiden Kolonien beobachten. Goß ich neuerlich Platten, so erhielt ich abermals beide Kolonieformen. So oft ich auch diese Versuche wiederholte, die Ergebnisse blieben gleich. Es wurden übrigens auch von Dahmen für den Erreger der asiatischen Cholera zwei konstant auftretende Formen von Gelatineoberflächenkolonien beschrieben. Auch *Pseudomonas cerevisiae* läßt geringe Unterschiede in den Kolonieformen auf der Gelatine bemerken, ebenso noch einige andere aus Flaschenbieren reingezüchtete Bakterienarten. Ob wir für das Auftreten der beiden verschiedenen Formen gerade Generationen unserer Bakterienart, die von den oben beschriebenen aus den Kugeln ausgetretenen kleinsten Formen abstammen, verantwortlich machen dürfen, vermag ich zur Zeit nicht zu entscheiden. Voreilige Schlüsse dürfen eben nicht gezogen werden.

Wir haben nun gesehen, daß sozusagen unter allen Bedingungen gewisse konstante Formveränderungen auftreten. Wenn ich kurz zusammenfassend meine Versuchsergebnisse mit *Pseudomonas cerevisiae* wiederhole, ergeben sich folgende Tatsachen:

Pseudomonas cerevisiae durchläuft während ihres Lebens in verschiedenen Nährsubstraten einen ganz bestimmten Entwicklungskreis, dessen einzelne Phasen durch das

Auftreten gut charakterisierten Formen gekennzeichnet sind. Die verschiedenen äußeren Bedingungen, wie erhöhte Temperaturen und mäßiger Zusatz von Chlorammonium oder andren Salzen verändern die dabei auftretenden Formen nur in Bezug auf die Größe, wodurch die Untersuchung der gebildeten Entwicklungsformen wesentlich erleichtert wird. Auch treten dabei die einzelnen Entwicklungsphasen viel deutlicher hervor, als in den mit Stoffwechselprodukten überladenen Reinkulturen in exquisit ausgezeichneten Nährsubstraten bei optimaler Temperatur. Aus diesen Gründen empfiehlt es sich, die Entwicklungskreise der Bakterien bei ihrer Zucht in einer das Wachstum eben noch zulassenden Nährlösung von ganz bestimmter Zusammensetzung, die jederzeit wieder genau gleich herstellbar ist. In solchen Nährlösungen bildet im Verlaufe der Entwicklung unsere Bakterienart verschiedene Formen, die von den meisten Autoren als Degenerationsprodukte bezeichnet wurden und noch werden, die sich aber bei genauerer Untersuchung als vollständig lebensfähig, ja sogar als widerstandsfähiger erweisen als die als normal und typisch betrachteten schwärmenden Kurzstäbchen. Wir haben also in den Endformen des Entwicklungskreises unserer Bakterienart Gebilde vor uns, die für die Erhaltung der betreffenden Bakterienspezies von der allergrößten Bedeutung sind. Freilich ist ihre Resistenz gegen hohe Temperaturen viel geringer als die der Sporen. Trotzdem vertragen sie eine längere Austrocknung und die Einwirkung einer Reihe von schädlichen Einflüssen, wie sie sich in der freien Natur finden. Dazu rechne ich in erster Linie die Einwirkung hoher Salzkonzentrationen. In der Natur finden sich Bakterien überall dort, wo Wasser ist. Die Wassermenge ist aber fortwährenden Schwankungen unterworfen und sehr oft wird den Bakterien dieses lebenswichtige Substrat für längere Zeit vollständig entzogen. Es ist also für die Erhaltung der Art geradezu die Bildung entsprechender, Trockenperioden überdauernder Entwicklungsstadien eine Notwendigkeit. Geschähe dies nicht, müßten in kurzer Zeit eine große Menge von bekannten Bakterienarten des Ackerbodens und der Erde überhaupt aussterben. Bis es aber zur kompletten Austrocknung kommt, wirken auf die Zelle immer zunehmende Konzentrationen der gelösten Bestandteile ein. Auch gegen diese die Zelle in gewissen Stadien ihrer Entwicklung äußerst schädigenden Einflüsse schützt sie sich durch die Bildung dagegen resistenter Formen.

Es haben sich schon zahlreiche Autoren mit der Frage nach der Ursache der formellen Veränderungen der Bakterienzelle beschäftigt und dafür chemisch-physikalische Einflüsse verantwortlich gemacht. So geben Schwankungen in der Konzentration der Salzlösungen zu osmotischen Störungen Anlaß, die sich natürlich auch in der Struktur und Form der Zelle wiederspiegeln werden. Ich erwähne nur die plasmolytischen Erscheinungen. Treten derartige Störungen plötzlich mit großer Intensität auf, kommt es zur Vernichtung der Zellen, schwellen sie aber allmählich an, dann sind sie eben nur ein äußerer Reiz für die Bildung der entsprechenden Schutzformen, denn es ist mit dem Begriff der lebenden Zelle un-

vereinbar, sie einfach als Spielball der auf sie einstürmenden äußeren Einflüsse aufzufassen.

Mit der Feststellung des Entwicklungszyklus von einer einzigen Bakterienart ist aber noch nicht viel getan. Daraus kann für die vielen anderen Bakterienarten nichts verallgemeinert werden. Es könnte ja die früher angegebene Chlorammoniumnährlösung auf alle darin überhaupt wachsenden Bakterienarten den gleichen Einfluß ausüben, womit allerdings die Zusammengehörigkeit aller Bakterien und eine Pleomorphie derselben im richtigen Sinne des Wortes erwiesen wäre. Anderseits könnte sich jede Bakterienart dem genannten Nährsubstrat gegenüber und inbezug auf die hohen Temperaturen anders verhalten, womit wieder auf eine sehr große Selbstständigkeit der einzelnen Bakterien hingewiesen und der bisher im allgemeinen nur auf physiologischen Merkmalen aufgebaute Zusammenhang zwischen einzelnen Bakterienarten noch mehr gelockert würde. Ich konnte nun aus Flaschenbier eine zweite Bakterienart isolieren, die ich wegen ihrer Fähigkeit, Schleim zu bilden, *Pseudomonas myxogenes* nannte. Diese Bakterienart ist etwas kleiner als *Pseudomonas cerevisiae* und besitzt die Fähigkeit, einen fluoreszierenden Farbstoff zu bilden. Sie unterscheidet sich noch durch viele andere physiologische Merkmale, auf die hier nicht eingegangen werden kann, und bildet überdies noch wesentlich anders aussehende Kolonien auf der neutralen zehnprozentigen Nährgelatine. Beide genannten Bakterienarten sind eigentlich nur durch ihre Begeißelung einander nähergebracht, da sie an einem Ende ein Büschel von Geißeln tragen. *Pseudomonas myxogenes* verhält sich nun hinsichtlich ihres Entwicklungskreises bei hohen Temperaturen und in Chlorammoniumnährlösung ebenso wie *Pseudomonas cerevisiae.* Wir müssen also diese beiden Bakterienarten trotz ihrer bedeutenden sonstigen Unterschiede verwandtschaftlich knapp aneinander reihen. Bei diesen Bieruntersuchungen fand sich noch eine Bakterienart, die im wesentlichen ebenfalls den gleichen Entwicklungskreis aufweist. Es erscheint mir überflüssig, hier nochmal auf die Besprechung der einzelnen Formen einzugehen. Ich habe dann noch eine sich kulturell und in ihrer Wirkung auf die verschiedenen Nährböden scharf von der überall vorkommenden *Pseudomonas fluorescens* unterscheidende *Pseudomonas dermatogenes* aus Bier isoliert, die ebenfalls einen fluoreszierenden Farbstoff bildet. Die letztgenannte Bakterienart unterscheidet sich von der fluoreszierenden *Pseudomonas mgxogenes* durch die von ihr hervorgerufenen Zersetzungen der Nährsubstrate verhältnismäßig nur wenig. Untersucht man aber ihren Entwicklungszyklus, so findet man wesentlich andere Formen, sodaß in verwandschaftlicher Beziehung diese beiden Arten weit von einander zu stellen sind, trotz ihres ähnlichen biologischen Verhaltens. Der Entwicklungszyklus von *Pseudomonas dermatogenes* gleicht aber dem von *Pseudomonas fluorescens* Mig. Diese wenigen Andeutungen werden genügen, um die Hinfälligkeit der Verwendung von Lebensäußerungen, bestehend in Veränderungen des Nährsubstrates und in Bildungen bestimmter Produkte, als artbestimmende Merkmale darzutun

Ebenso ungerechtfertigt ist es, die Tierpathogenität oder gar die Virulenz als charakteristisches Speziesmerkmal anzuführen. Andererseits aber besitzen wir in den Entwicklungskreisen der einzelnen Bakterienarten für sie scharf charakterisierte und soweit die Erfahrung bisher lehrt, dauernde Merkmale, auf die ein natürliches System der Bakterien aufgebaut werden kann. Auch werden dadurch neue verwandschaftliche Beziehungen der einzelnen Bakterienarten unter einander aufgedeckt. Welch reiche Ergebnisse entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen von sporenbildenden Bakterenarten liefern, haben die schönen Arbeiten von Migula und Arthur Mayer und ihre Schule und Andere gezeigt. Auch die neueren Abhandlungen über die Strukturen der sich teilenden Bakterienzellen haben für die Beurteilung der Stellung der Bakterienzelle in der belebten Natur beachtenswerte Winke gegeben. So interessant eine eingehende Erörterung aller dieser Befunde wäre, muß ich hier doch darauf verzichten und mir dieselbe für meine spätere umfassende Darstellung aufsparen, worin die Entwicklungszyklen noch einer Reihe von anderen *Pseudomonas*-Arten besprochen werden sollen.

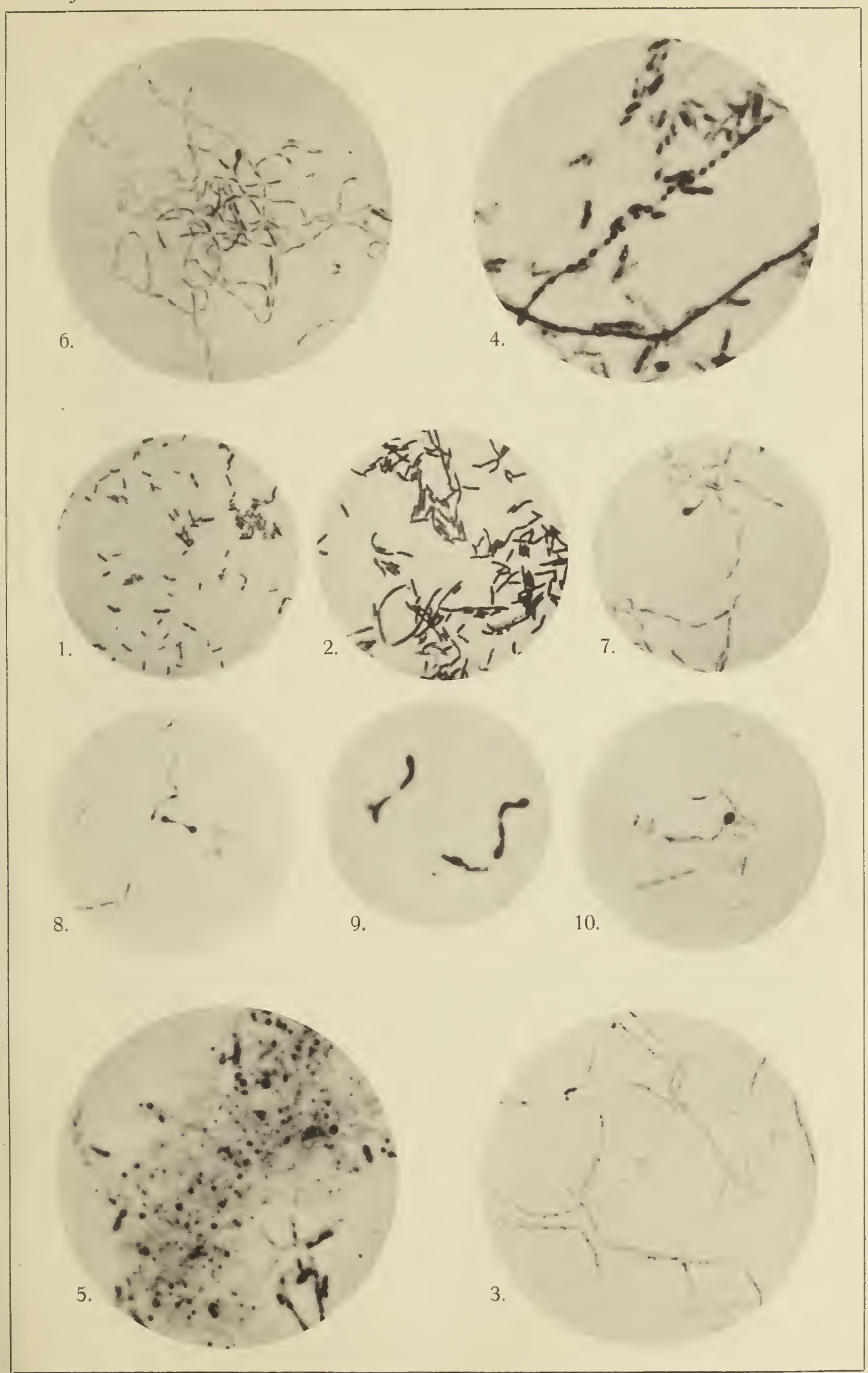
Tafelerklärung.

Fig. 1 stellt das Photogramm eines mit $^1/_3$ Karbolfuchsin gefärbten Ausstrichpräparates einer 24stündigen bei Zimmertemperatur gewachsenen Peptonwasserkultur von *Pseudomonas cerevisiae* bei 1000facher Vergrößerung dar. Wir sehen hier nur kurze an den Enden abgerundete Stäbchen, an denen keine besonderen färberischen Erscheinungen festzustellen sind.

„ 2. Von der in Figur 1 dargestellten Bakterienkultur wurde eine Abimpfung auf Fleischwasser-Agar gemacht und 18 Stunden bei 34,5° C. gehalten. Den nach dieser Zeit mit $^1/_3$ Karbolfuchsin tingierten Agarrasenausstrich von *Pseudomonas cerevisiae* zeigt unser Photogramm bei 1000facher Vergrößerung. Wir sehen die verlängerten und teilweise zu Fäden umgewandelten Stäbchen, in deren Inhalt durch die intensive Fuchsinfärbung ein Hervortreten von Strukturen verhindert ist.

„ 3. Der hier dargestellte Ausstrich stammt von einer durch 24 Stunden bei 34,5° C. gehaltenen Agarkultur von *Pseudomonas cerevisiae*, bei 1000facher Vergrößerung. Gefärbt wurde aber mit alter, wässriger Methylenblaulösung durch eine Viertelstunde. Die Fadenbildung ist weiter fortgeschritten. In dem nur blaßblau tingierten Plasma der Fäden sehen wir dunkle, verschieden große Körnchen, die sich an gewissen Stellen, besonders an den Polen zu größeren im Photogramm schwarz aussehenden Massen vereint haben. Alle diese Gebilde erscheinen im Präparat violettrot gefärbt.

„ 4. Dieses Photogramm entspricht einer 48 Stunden bei 34,5° C. gezüchteten Agarkultur von *Pseudomonas cerevisiae*, doch bei 2000facher Vergrößerung. Die kleinen Körnchen haben sich zu größeren Kugeln gesammelt, die im schwach gefärbten Plasma liegen. Das Bild erinnert an einen sporentragenden Zellfaden. Doch wurde auch hier mit Methylenblau gefärbt und die schwarzen Kügelchen sind im Präparat vom Methylenazur rot-



F. Fuhrmann phot. *Verlag von C. Heinrich, Dresden-N.*

BRITISH MUSEUM
B D
NATURAL HISTORY

violett tingiert. Bei der Anwendung der üblichen Sporenfärbungsmethoden entfärben sie sich in der vorgeschriebenen Differenzierung vollständig.

Fig. 5. Hier sehen wir den mit Methylenblau gefärbten Bakteriendetritus von *Pseudomonas cerevisiae*, bei 1800facher Vergrößerung. In der kaum gefärbten und nur wenig strukturierten Grundmasse liegen die schwarzen, in Wirklichkeit rotviolett tingierten Körnchen. die sich durch Resistenz gegen Trockenheit und höhere Salzkonzentrationen auszeichnen. Aus ihnen entwickeln sich auf frischen Nährböden neue Bakterienvegetationen.

„ 6. *Pseudomonas cerevisiae* wurde bei Zimmertemperatur durch fünf Tage in Chlorammonium-Saccharose-Nährlösung gezüchtet und von der entstandenen zarten Kahmhaut ein mit Methylenblau gefärbtes Ausstrichpräparat hergestellt. Vergrößerung 1200fach. Die Zellen sind vergrößert und zum Teil keulenförmig aufgetrieben. Dieser Teil ist dunkler gefärbt. Außerdem fallen die Kettenverbände auf. Die feinen Körnchen im Plasma kommen im Photogramm nicht mehr zur Anschauung.

„ 7. Auch hier sehen wir neben Fadenbildung und gering kolbig aufgetriebenen Zellen einen schön ausgebildeten Endkolben. Vergrößerung 1200.

„ 8. Dieses bei 1000facher Vergrößerung aufgenommene Photogramm eines Ausstriches einer Chlorammonium-Saccharose-Kultur von *Pseudomonas cerevisiae* zeigt sehr schön die Entstehung der Endkolben. Gefärbt wurde mit Methylenblau. Im linken Zellenpaar enthält die kolbige Auftreibung nur ein kleineres dunkel gefärbtes Korn, das in den rechten Zellen bereits die volle Größe erreicht hat und den ganzen Kolben erfüllt.

„ 9 entspricht ebenfalls einem aus Chlorammonium-Saccharose-Kultur von *Pseudomonas cerevisiae* hergestellten mit $^1/_3$ Karbolfuchsin gefärbten Ausstrichpräparat. In dem linken Zellenpaar sieht man an der unteren Zelle ein seitliches Knöpfchen, das später abgeschnürt wird und mitunter in kleinste Teile zerfällt, deren weiteres Schicksal ich noch nicht feststellen konnte. Die anderen Zellen zeigen sehr schöne kolbige Auftreibungen. Vergrößerung 2000.

„ 10. Es wurde der Bodensatz einer älteren Chlorammonium-Saccharose-Kultur von *Pseudomonas cerevisiae* in Peptonwasser verimpft. Nach 12 Stunden fertigte ich davon ein Ausstreichpräparat an und färbte es mit Methylenblau. Unser Photogramm zeigt uns einen Endkolben, aus dem sich die lichtblau tingierten Stäbchen entwickeln. Man sieht daran die Zellkette noch hängen. Die im Präparat gut sichtbare Struktur des Endkolbens, resp. die präformierten Stäbchen darin kommen im Photogramm nicht zum Ausdruck. Vergrößerung 1200.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Botanisches Centralblatt

Jahr/Year: 1908

Band/Volume: BH_23_1

Autor(en)/Author(s): Fuhrmann Franz

Artikel/Article: Entwicklungszyklen bei Bakterien. 1-13