Deutung der Beobachtungen über den Pleomorphismus von Sarcina flava.

Von FRITZ KLIMMEK und HERMANN ZIEGENSPECK.

Am leichtesten ist es bei allen Bakterienbeobachtungen, dem Untersucher den Vorwurf der Verunreinigung zu machen und irgend eine Fremdinfektion anzunehmen. Dieser Umstand bedeutet einerseits ein Hinausschieben, denn die Formen der vermeintlichen Fremdinfektion gehen in die ganz abweichenden Typen, wie amöboide Formen, unverkennbar über; andererseits ist damit eine Erklärung über die ganz eigenartige Infektion mit Körnchen abweichender Tingierbarkeit nicht im geringsten gegeben. Die anfangs muchnegativen Sarcinen werden muchpositiv und dazu noch an einer Zelle derselben Sarcina. Das kann man schlechthin nie als eine Fremdinfektion deuten. Zweitens haben wir gerade bei unseren Kulturen äusserst sauber gearbeitet und jede einmal geöffnete Platte für immer verworfen. Also diesen Einwand der Verunreinigung müssen wir als böswillig ablehnen.

Derjenige Forscher, welcher genetisch gerichtet ist, wird das Erscheinen der muchpositiven Formen einfach als Mutationen auffassen. Er wird darauf hinweisen, dass gerade in Sarcinakulturen Mutationen die Regel sind. Auch wir haben in unseren Kulturen eine weisse Form nach Art eine Sektors auftauchen sehen, und diese konstant gefunden. Er wird gerade das nesterartige Auftreten dieser Mutation willkommen betrachten. Gewisse Schwierigkeit wird erstens das Gleichbleiben dieser Muchnegativität auch bei der weissen Mutante bereiten. Zweitens konnten wir trotz vielen Plattens nie eine ganz junge Kultur bekommen, die nur muchpositiv oder negativ war, sondern es war zuerst immer die Kultur muchnegativ, dann kamen die positiven Nester heraus. Das Erscheinen der anderen Formen, wie Mikrostäbchen, Keulenformen, Amöben, Zysten, kleinen Plasmodien wird schon schwieriger als Mutation zu erklären sein. Ausserdem hätten unsere Plattenversuche und Plattenfixationen uns ausgedehnte Nester von solchen abnormen Formen in Reinkultur ergeben müssen. Das ist nicht der Fall. Wir lehnen daher diese bequeme Deutung durch eine Mutation schon im Hinblick

auf die nicht sicher nachgewiesene Sexualität ab, obwohl ja diese nicht ein unbedingtes Hindernis sein muss, und wir ja auch die Entstehung einer weissen Form ohne irgend welche gestaltlichen Abweichungen beobachteten. Die muchpositiven Formen könnten nun noch eine andere Deutung nach sich ziehen, die wir hier auch einmal durchdenken wollen. Es wäre etwa im Sinne von A. Meyer denkbar, dass die Sarcinen diese Reservestoffe zunächst in kleinen Körnchen ablagern, die muchpositiv sind. Diese schwellen dann an und könnten vielleicht den Ring- und Vakuolenformen den Ursprung geben. Gegen diese Deutung spricht die Entleerung der Zellen, wie ja überhaupt die leeren Hüllen eine ganze Reihe von Deutungen unwahrscheinlich machen.

Für gewöhnlich pflegt man die abweichenden Formen in alten Kulturen als Involutionsformen abzutun. Es ist nun erstens auffällig, dass diese „krankhaften" Formen gerade bei Sarcina flava nicht durch Schädigung der Kultur bei Hitze oder Lithiumchloridzusatz sich vermehrten. Auch bei einer weissen Sektormutante, die in unseren Kulturen auftrat, war es nicht möglich, eine Vermehrung der bei Sarcina bei starker Reinigung so seltenen Involutionsformen nachzuweisen. Wir werden also aus diesen Gründen die sehr einfache Deutung als Involutionsformen ablehnen.

Eine neue Arbeit, die Habilitationsschrift von Klieneberger,*) ist diesen relativ einfachen Weg gegangen. Man kann sogar noch ganz modern sein und die Eigentümlichkeit des züchtbaren Fermentes des Bakteriolysins heranziehen, und damit die Ursache der Involutionsformen erklären. Die Schädigung durch das Lithiumchlorid wird nun in vielen Fällen für diese Involutionsformen besonders verantwortlich gemacht. Es ist nun aber nicht richtig, dass diese Erscheinungsformen ohne Lithiumchlorid nicht auftreten. Sie pflegen bei der Mehrzahl der Bakterien bei Zusatz von Li Cl. häufiger zu sein, bei manchen Rassen und Formen wird man sehr lange suchen müssen, aber man findet die Formen dann auch. Gerade bei der allerdings sehr vielgestaltigen Gruppe des Coli hat in unserem Institute schon vor dem Erscheinen der Klieneberger'schen Arbeit Fliegel die Formen ohne Lithiumchlorid einwandfrei gefunden und nachgewiesen. Vielfach sind sie dann allerdings nicht mit einem Blicke durch das Mikroskop zu sehen, man muss eben ziemlich lange suchen.

*) E. Klieneberger: Bakterienpleomorphismus und Bakterienentwicklungsgänge. (Ergebnisse der Hygiene.)

Man kann ferner das PH für die Erscheinung heranziehen. Das geht nun aber gerade bei Sarcina nicht, denn die neutralen jungen Kulturen haben gerade die „Säurewirkung" und die alten nicht mehr.

Auch die Lithiumtheorie ist durch unsere Versuche zu erledigen. Unsere Sarcina hat gerade gar keine Reaktion auf Li Cl. gegeben. Es waren die Formen gleich häufig, einerlei ob wir Li Cl. anwendeten oder nicht.

Wir müssen also die Erscheinung des Pleomorphismus der Sarcinen als aus sich heraus, als endogen bedingt annehmen. Wenn wir die Involutionstheorie ablehnen, so können wir uns auf einen rein skeptischen Standpunkt stellen und gar keinen Deutungsversuch unternehmen. Das ist der bequemste und einfachste Weg.

Einen anderen Weg geht die Schule von Löhnis, Almquist und Enderlein. Diese würde in dieser Erscheinung die Auswirkung einer ganz eigenartigen Sexualität erblicken. Im Lichte dieser Gedankengänge würde man sagen: die grossen Riesenformen sind Gonidangien grossen Umfanges, aus ihnen gehen sehr kleine filtrierbare Schwärmformen hervor. Diese könnten sich unter Anschwellen in Sarcinen zurückverwandeln. Das ist allerdings nicht beobachtet worden. Die Siegelringformen würde man als Zysten betrachten, die, auf generativem Wege erzeugt, nun nach der Ruhezeit ebenfalls zu filtrierbaren Sarcinen keimen würden. Die Umwandlung würde genau die gleiche sein wie bei den Gonidangien. Beobachtet ist sie nicht. Die Sarcinen wären imstande, filtrierbare Formen zu erzeugen und die leeren Hüllen blieben als entleerte Sporangien zurück. Daneben vermögen aus den Sarcinen Mikrostäbchen zu entstehen, die ebenfalls wieder in filtrierbare Sarcinen zerfallen könnten, oder sich als Mikrogameten zu Symplasmen kleinen Umfanges umwandeln könnten. Weiterhin gäbe es Mikrogameten, die durch Vermischen sich ebenfalls in Symplasmen umwandeln könnten. Diese würden hier allein zur Zystenbildung schreiten, genau wie in der Regel die Entwicklung der Riesenformen ebenfalls zu Zysten führt. Gegen diese Deutung weist das Fehlen der Beobachtung des Ueberganges der filtrierbaren Formen (siehe die Arbeit von Smit) in Sarcinen weder im Experiment noch im Präparat. Der ganze Kreislauf wäre zudem reichlich verwickelt. Die Sexualität müsste hier relativ selten sein.

Als letzte unserer Ansicht nach wahrscheinlichste Deutung wäre die im Sinne von Kuhn und unserer Arbeitshypothese. Wir müssten dann streng unterscheiden zwischen dem Kreislauf des Bakteriums und dem eines in ihm lebenden Parasiten (Pettenkoferien). Alle dem Bakterium eignenden Formen sind muchnegativ gefärbt, was natürlich für unseren Fall nicht allgemein gilt. Das Bakterium keimt aus einer Dauerform der stark lichtbrechenden Sarcina dadurch, dass sich nur sehr kurze Zeit einzellige Kokken als „Schwärmer" bilden. Sehr bald gehen diese in Doppelstadien über. Das Einschalten von Stabformen haben wir auch nach Zugabe von Li Cl. nicht beobachten können, wobei nicht gesagt ist, dass vielleicht bei anderen Formen unter anderen Bedingungen nicht eine Stabform als erster Schwärmer erscheinen kann. Die Diploform (2) geht in die Tetraform (4), diese dann weiter in das 16er und 32er Stadium über. Hierbei werden die Einzelzellen verkleinert, wie das ja im allgemeinen bei längerer Kultur von Bakterien der Fall ist. Bei Ueberimpfung auf frische Böden und am Rande der Kultur konnten wir immer die grossen Einzelzellen sehen. Beim Altern der Platten und dem Schwinden der vegetativen Entfaltung des Rasens kommen Dauerformen heraus. Es häufen sich irgend welche Reservestoffe innerhalb des noch rot gefärbten Plasmas an. Gleichzeitig damit bemerken wir ein Aufgeben der nahen Beziehungen der Zellen im Sarcinaverbande, die Zellen isolieren sich und vereinzeln dadurch mehr. Die Inhaltsstoffe häufen sich sehr stark an und wir bekommen die stark lichtbrechenden Sarcinen, die eine Art von Dauersporen darstellen. Bei der Aussat solcher alter Sarcinen geht aus der Einzelzelle ein neues Sarcinapaket hervor.

Neben diesem Formenkreislauf läuft der Entwicklungszyklus der Parasiten des Bakteriums. Alle diese Glieder sind durch den Gehalt von Körnchen, ja manchmal sogar von sehr kernartigen Gebilden ausgezeichnet. Der Ausgang bildet hier die Dauerform des Parasiten, die Zyste oder Siegelringform, wie wir sie in Parallelisierung zu Azotobakter nennen wollen. Aus dieser keimt unter Ausbildung einer amöboiden Form ein Bruchsack, der lauter winzige Körner entsendet. Eine feinere Gestaltung war kaum zu beobachten. Das muss aber nicht immer der Fall sein. Es können auch mehr langgestreckte Mikrostäbchen herauskommen. Diese tragen in ihrem Innern ebenfalls die muchpositiven Körnchen. Diese Mikrostäbchen

wandeln sich bald in die sogen. Rosenkranzform um und zerfallen danach in Körnchen. Inwieweit die Erzeugung von Mikrostäbchen eine Jugendschwärmform darstellt, die durch die Anwesenheit von Bakterien zur Bildung von Infektionsträgern Anlass gibt, ist nicht mit absoluter Sicherheit zu entscheiden. Wir fanden die Körnchen im Lebendpräparat bei Vitalfärbung den Sarcinen anliegend, desgleichen auch beim Platten-Fixationsverfahren. Die Körnchen hoben sich absolut deutlich durch ihre muchpositive Färbung von den Sarcinen ab. Nach unseren Beobachtungen findet dieses Anliegen nie an stark lichtbrechende, ja sogar nie an Ringsarcinen statt, deren Einzelzellen sich abgegrenzt und eine schleimige Hülle von gewisser Ausdehnung um sich erzeugt haben. Diese Sarcinen waren dann „immunisiert". Das kann uns auch die geringe Verbreitung dieser Erscheinungsformen in älteren Kulturen erklären. Die Sarcina wäre als nur in der jungen noch dünnbehäuteten Form für diesen Erreger infizierbar. Sicher finden wir dann diesen Erreger innerhalb der Zellen. Sehr häufig beobachteten wir ein Abnehmen des färbbaren Inhaltes der Sarcinen. Von der Kontrastfarbe, die bei kleinen Körnchen noch deutlich eine Umrandung zeigt, finden wir später nichts mehr. Oft ist nur eine einzelne Zelle des Sarcinenpaketes infiziert, oft aber auch mehrere. Innerhalb der Einzelzelle kann es nun zu einer Vermehrung der Körnchen kommen. Diese können die Einzelzelle verlassen. Vielfach konnten wir völlig leere Zellen mitten in gefüllten Paketen beobachten, oft Körnchen ausserhalb der Zelle, durch die Muchfärbung deutlich zu sehen. Nicht immer aber muss die Infektion der anderen Zellen von aussen erfolgen. Wir konnten oft ein Uebergreifen der Körnelung von einer Zelle in die anderen beobachten. Das Kennzeichen der Körnelung mit muchpositiver Natur ist das Zusammenliegen in Nestern. Auch solche Nester liessen sich beobachten, die innen aus leeren Zellen gebildet waren, besonders schön von muchpositiven Sarcinen umrandet.

Wenn die Kulturen altern, also lichtbrechende und Ringsarcinen erscheinen, dann pflegen diese Erscheinungsformen immer seltener zu werden. Wir finden dann vorübergehend die Mikrostäbchen auftauchen, die ebenfalls in Körnchen zerfallen. Je älter die Kulturen werden, desto weniger Befall finden wir im allgemeinen. Dafür beobachten wir Verschmelzung der Stäbchen und Anschwellen zu Keulenformen, die immer umfang-

reicher werden. Besonders die Körner nehmen unverkennbar an Grösse zu. Aus Sarcinen können dann auch unmittelbar grössere Formen, also amöboide Gebilde ausschlüpfen. In diesen finden wir ein einziges grosses Korn, und häufig ist die Färbung derart, dass ein Hof um das Korn lagert, darauf folgt nach aussen eine Verdichtung in Ringform. Das Ganze hat eine gewisse Aehnlichkeit mit einem Kerne. Die Amöben-Formen haben wir nie in grosser Zahl, aber doch ca. 3—4 Stück zusammenliegend gefunden. Das Verschmelzen zu kleinen „Plasmodien" ist zu beobachten. Aus diesen bilden sich die ovalen Zysten, die hier andere Gestalt als bei Azotobakter besitzen. In ziemlich alten Platten werden auch diese Formen sehr selten. Die Ringsarcinen beherrschen in überwiegender Zahl das Gesichtsfeld. Nun kommt etwas ganz Unerwartetes heraus. Es finden sich abnorme Formen, die Zelle der Sarcina schwillt an, man möchte glauben, dass die Zellen nun nacheinander von den Parasiten angefallen werden. Vorn an der Spitze haben diese Involutionsformen einen häufig rot färbbaren Pol, hinten rücken die Körnchen nach. Hierbei ist das Hinterende vielfach völlig leer. Diese Formen können ganz grosse Gebilde erzeugen. Der unvoreingenommene Beobachter könnte an unendlich kleine Pilze glauben, aber die Dimension ist für diese zu klein und wir haben nie bei unserer sauberen Arbeit einen Schimmel oder gar irgendwie umfangreicheres Mycel gesehen. Aus diesen „Gonidangien" haben wir zumeist Zysten hervorgehen sehen. Seltener scheint ein körneliger Zerfall einzutreten. Niemals aber haben wir daraus richtige Sarcinen wieder entstehen sehen. Das wären also richtige Involutionsformen, hervorgerufen durch eine Art Gallenbildung aus der Sarcina durch den Parasiten.

Besonders hervorheben müssen wir in diesem Zusammenhange die grosse Seltenheit der späteren Formen in älteren Sarcinakulturen, die gar keine Degenerationserscheinungen makroskopisch und auch bei schwachen Vergrösserungen aufwiesen. Von einer Knopfbildung, Runzelung oder anderen Erscheinungen war gar keine Rede. Die Sarcina war entweder durch unser sehr häufiges Platten von den spezifischen Erregern befreit, oder diese Rasse oder Art zeigte eben einen Befall nur in der allerjüngsten Wuchsform, wobei wir allerdings nie vergessen dürfen, dass in der Natur solche grossen Bakterienmassen viel seltener erzeugt werden als in unseren Platten. Das

mag wohl das Abkultivieren in den Laboratorien hervorrufen. Wir sehen solche Gleichgewichte von Lebewesen mit ihren Parasiten in Makro- und Mikrosiedlungen immer gewahrt.

Die in der Arbeit von Klimmek angeführte Literatur kann leicht auf diesem Wege geklärt werden. Ja wir möchten glauben, dass gerade die Behandlung der Bakteriophagie vom Gesichtspunkte der Morphologie zu dieser Deutung drängt.

Die Versuchshypothese, die Ziegenspeck mit Koch unter dem Einfluss von Kuhn entwickelt hat, hat sich bisher mit der Präzisierung der Kreisläufe bewahrheitet. Wir möchten auch diesen Baustein in diesem Sinne als ein Indizium für diese Arbeitshypothese gewertet wissen.

Wollen wir diese vielleicht kurz umreissen, so können wir sie als eine Kombinatiou der Löhnis'schen Zyklen-Auffassung mit der Phagentheorie bezeichnen. Es lassen sich durch die Annahme der Ueberlagerung der Morphologie der Bakterien durch die eines Myxomyceten die Tatsachen gut in Einklang bringen. Ein Gedankengang ähnlicher Art ist bereits von v. Preiss geäussert worden, nur ist da unklar, was die Formen erzeugt. v. Preiss neigt immer noch etwas dazu, die nicht genau studierten Formen als eine Art Involutionsform unter Einwirkung des Bakteriophagen zu deuten.

Zur Illustration, wie wir alle Erscheinungsformen in einer Hypothese zusammenfassen, haben wir ein Bild wiedergegeben, das mit dem in Wilke's Arbeit verglichen, ausser der grossen Aehnlichkeit in den Hauptzügen doch seine spezifischen Unterschiede aufweist.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Berichte des naturwiss. Vereins für Schwaben, Augsburg

Jahr/Year: 1931

Band/Volume: 49

Autor(en)/Author(s): Klimmek Fritz, Ziegenspeck Hermann

Artikel/Article: Deutung der Beobachtungen über den Pleomorphismus von Sarcina flava 92-98