Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 32 (1941)

Heft: 1

Artikel: Zur Frage der Mutationsähnlichen Änderung des Gärungsvermögens bei Bakterien

Autor: Burri, R. / Koestler, G.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-983657

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 12.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

MITTEILUNGEN

AUS DEM GEBIETE DER

LEBENSMITTELUNTERSUCHUNG UND HYGIENE

VERÖFFENTLICHT VOM EIDG. GESUNDHEITSAMT IN BERN

OFFIZIELLES ORGAN DES SCHWEIZ. VEREINS ANALYTISCHER CHEMIKER

TRAVAUX DE CHIMIE ALIMENTAIRE ET D'HYGIÈNE

PUBLIÉS PAR LE SERVICE FÉDÉRAL DE L'HYGIÈNE PUBLIQUE À BERNE

ORGANE OFFICIEL DE LA SOCIÉTÉ SUISSE DES CHIMISTES ANALYSTES

ABONNEMENT: Schweiz Fr. 10.– per Jahrgang. Preis einzelner Hefte Fr. 1.80
Suisse fr. 10.– par année. Prix des fascicules fr. 1.80

BAND XXXII 1941 HEFT 1

ZUR FRAGE DER MUTATIONSÄHNLICHEN ÄNDERUNG DES GÄRUNGSVERMÖGENS BEI BAKTERIEN

Von Prof. Dr. *R. Burri.*

(Mitteilung aus der Eidg. milchw. und bakt. Anstalt Liebefeld, Vorstand: Dr. G. Koestler.)

Der in den Jahren 1906/1907 von M. *Neisser*[1]) und R. *Massini*[2]) mitgeteilte Fall einer *anscheinend plötzlich erfolgenden Erwerbung des Gärungsvermögens für Lactose* durch einen bestimmten Vertreter der Coli-Gruppe hat seinerzeit nicht geringes Aufsehen erregt. Die genannten Autoren belegten die betreffende Bakterienart mit dem Namen *Bact. coli mutabile.* Diese verwandelte sich durch die Aenderung in ein gewöhnliches *Bact. coli.* Mit diesem Fall verwandte Befunde wurden in der Folge von verschiedenen Forschern gemacht. Im Jahre 1910 konnte ich[3]) über einen Vertreter der Coli-Gruppe berichten, der bemerkenswerterweise sich gegenüber *Saccharose* in gleicher Weise verhielt wie das *Bact. coli mutabile* gegenüber *Lactose.* Dieser Befund hatte mich mit Befriedigung erfüllt, nicht nur weil er ein interessantes Seitenstück zu dem von *Massini* eingehend geschilderten Fall bildete, sondern auch weil es mir aufgrund meiner Versuche gelungen war, die Anschauungen des genannten Autors über das Wesen des rätselhaften Vorganges in zwei wesentlichen Punkten zu berichtigen. Die von mir gefundene eigentümliche, für Saccharosevergärung anscheinend nicht befähigte Bakterienart hatte ich mit dem Namen *Bact. imperfectum* und

den daraus auf dem Wege eines einfachen Experimentes zu gewinnenden Saccharosevergärer als *Bact. perfectum* bezeichnet. Die Analogie der von *Massini* und mir beschriebenen Fälle lag auf der Hand. Der Unterschied in den beidseitigen Auffassungen betraf folgende zwei Punkte: Einmal glaubte *Massini* aus seinen Versuchen schliessen zu müssen, dass von den die Ausgangskultur zusammensetzenden Bakterienzellen nur ein äusserst geringer Prozentsatz zur Umwandlung von einem Lactosenichtvergärer in einen Lactosevergärer befähigt war, während nach meinen Erfahrungen mit *Bact. imperfectum* sämtliche Zellen der Ausgangskultur das Vermögen zur Saccharosevergärung erwerben können. Sodann vertrat *Massini* die Ansicht, dass der Vorgang der Umwandlung einen so raschen Verlauf nimmt, dass man von «Plötzlichkeit» sprechen kann, während meine Versuche darauf hinwiesen, dass die Aenderung nicht eine sprunghafte ist, sondern in einem zeitlich messbaren Ablauf erfolgt.

Nachdem meine Arbeit im Laufe der Jahre in gelegentlichen Abhandlungen über die sog. Bakterienmutationen ohne Widerspruch erwähnt worden war, so u. a. von *Hadley*[4]) in seiner kritischen Zusammenstellung, überraschte es mich, in einer kürzlichen Arbeit von *Martin Kristensen*[5]), betitelt: Recherches sur la fermentation mutative des bactéries, eine ausgesprochene Ablehnung meiner Befunde und der daraus gezogenen Schlüsse zu finden. *Kristensen* sagt, dass meine Anschauungen in der Frage der Bakterienmutationen vorübergehend eine bedeutende Verwirrung (embrouillement considérable) hervorgerufen haben und äussert die Meinung, dass eine mangelhafte Technik (technique défectueuse) meine irrtümlichen Ergebnisse veranlasst habe. Im übrigen weist er auf die «zutreffende» Kritik hin, welche J. M. *Lewis*[6]) meiner Arbeit zuteil werden liess. Leider ist mir die Abhandlung von *Lewis*, welche im Jahre 1934 erschienen ist, seinerzeit entgangen, ansonst ich schon früher Gelegenheit genommen hätte, mich mit derselben zu befassen. Deren Erwähnung durch *Kristensen* gibt mir nun willkommenen Anlass, das Versäumte nachzuholen. Die folgenden Ausführungen werden also in erster Linie einer Untersuchung über die Berechtigung der von *Lewis* an meiner Arbeit geübten Kritik gewidmet sein. Da *Kristensen* diese Kritik vorbehaltlos zu der seinen macht, wird das Ergebnis meiner Untersuchung auch als Antwort auf die oben zitierten Behauptungen des letztgenannten Autors dienen können.

KRITISCHE BETRACHTUNGEN ZU *MARTIN LEWIS'* ARBEIT ÜBER BAKTERIENMUTATIONEN

A. Die Zahl der Varianten bzw. Mutanten in mutierenden Kulturen.

Die Frage nach der Zahl der Varianten in mutierenden Bakterienstämmen ist ausserordentlich viel diskutiert worden. Alle Autoren, die sich mit der bakteriellen Mutation beschäftigten, von *Neisser* und *Massini* angefangen bis zu *Kristensen*, scheinen übersehen zu haben, dass die Frage an und für sich eine

verfehlte ist. Man liess sich täuschen durch das bekannte Bild der knötchen- oder papillenartigen Sekundärkolonien, welche nach einiger Zeit in wechselnder Zahl innerhalb der ursprünglich homogen beschaffenen Primärkolonien auftraten. Diese Sekundärkolonien erwiesen sich bei näherer Untersuchung mit einem Gärungsvermögen ausgestattet, das die Primärkolonien nicht besassen, und ihr Auftreten war an das Vorhandensein eines bestimmten Zuckers im Nährboden gebunden, im Falle des *coli mutabile* an *Lactose*, im Falle des *imperfectum* an *Saccharose*. Da die Zahl der in einer Primärkolonie auftretenden Sekundärkolonien durchschnittlich etwa 5—100 beträgt, so wird der Eindruck erweckt, dass von den vielen Millionen von Zellen, welche die Kolonie bilden, nur vereinzelte zur Vergärung des in Frage kommenden Zuckers befähigt sind und dadurch zur Bildung vereinzelter Kolonien von bestimmt orientierten Zuckervergärern innerhalb der Unmasse von Zellen Anlass geben, welche für die Vergärung gerade dieses Zuckers nicht eingerichtet sind. Den gleichen Eindruck erhält man, wenn man von einer mutierenden Stammkultur eine kräftige Aussaat auf einen passenden festen Nährboden, also Lactoseagar für *coli mutabile*, Saccharoseagar für *imperfectum*, macht. Unter den Hunderttausenden oder Millionen von Kolonien treten nur vereinzelte auf, die sich von den übrigen durch Grösse unterscheiden und sich bei näherer Prüfung als zur Vergärung des fraglichen Zuckers befähigt erweisen. Dabei ist es gleichgültig, ob man die Aussaat in Form von Plattenkulturen oder Schüttelkulturen macht; nach beiden Verfahren gewinnt man den Eindruck, dass zweierlei Zellen in der Kultur vorhanden sind, wobei die zur Vergärung des fraglichen Zuckers befähigten nur einen verschwindend kleinen Prozentsatz der Gesamtmasse ausmachen. *Aber dieser Eindruck täuscht, und darin liegt die Quelle zahlreicher Irrtümer, welche bei der Deutung der verschiedenen Erscheinungen im Gebiete der Bakterienmutation unterlaufen sind.*

Die Frage nach der Zahl der Varianten bzw. Mutanten ist aus zwei Gründen eine verfehlte; in erster Linie darum, weil in der mutierenden Ausgangskultur nicht etwa mutierte Zellen neben nicht mutierten Zellen vorhanden sind, sondern Zellen, die erst während der Vermehrung unter dem Einfluss eines bestimmten Zuckers zu Vergärern gegenüber diesem Zucker, d. h. *zu Mutanten werden;* in zweiter Linie darum, weil *sämtliche* Zellen einer mutierenden Kultur die Eigentümlichkeit aufweisen, unter geeigneten Ernährungsbedingungen in Gegenwart eines bestimmten Zuckers diesem gegenüber ein Gärungsvermögen zu entwickeln, das sie vorher nicht besessen haben. Diese zwei Gründe umschreiben das Wesen der mutierenden Kultur, das auch mit folgenden Worten charakterisiert werden kann: Eine mutierende Kultur liegt vor, wenn ihre sämtlichen Zellen die Bereitschaft besitzen, in kurzer Zeit eine bisher nicht gezeigte Eigenschaft, in unserem Falle ein Vergärungsvermögen gegenüber bestimmten Zuckerarten, zu entwickeln. Die Bereitschaft zur Entwicklung eines bestimmten Gärvermögens und die Entwicklung dieses Gärvermögens sind zwei Dinge, die nicht verwechselt werden dürfen. Zur Verdeutlichung sei ein in bezug auf Sac-

charose mutierender Stamm der Coli-Gruppe nicht mutierenden Stämmen dieser Gruppe gegenübergestellt. Unter den letztern gibt es *Saccharose* vergärende wie *Saccharose* nicht vergärende Stämme. Die erstern sind bereits auf die in Frage stehende Gärung eingestellt: Sie vergären den Zucker in passenden Nährböden prompt. Die letzteren vergären den genannten Zucker überhaupt nicht, weil ihnen die Bereitschaft zur Entwicklung des spezifischen Gärvermögens für *Saccharose* fehlt. Charakteristisch ist ferner für die nicht mutierenden Stämme, dass bei Verarbeitung auf Platten- oder Schüttelkulturen nur einerlei Kolonien entstehen, und dass also mit Erscheinungen, die auf eine eventuelle Unreinheit der Kulturen hinweisen, wie das allgemein bei mutierenden Stämmen vorkommt, nicht zu rechnen ist.

Wenn man von dieser Auffassung des Wesens der uns beschäftigenden Bakterienmutationen ausgeht, so erscheint es recht unwahrscheinlich, dass eine beliebige mutierende Kultur nur einen geringen Bruchteil, z. B. 1/100000 an mutationsfähigen Zellen enthalten soll. Solche Kulturen sind doch wie andere Kulturen der Sammlungen bakteriologischer Institute im allgemeinen auf eine Kolonie zurückzuführen, die mit grosser Wahrscheinlichkeit ihren Ursprung einer einzelnen Zelle verdankte. Im grossen ganzen ist aber die Nachkommenschaft einer Zelle unter sich und mit dieser Zelle identisch, und diese Gesetzmässigkeit wird auch Bestand haben, wenn die Ausgangszelle mit der merkwürdigen Eigenschaft der Bereitschaft zur raschen Entwicklung eines Gärvermögens gegenüber einer bestimmten Substanz ausgestattet ist. Das bedeutet, dass die mutierenden Kulturen sehr wahrscheinlich gerade wie andere Reinkulturen nur aus einerlei Zellen, allerdings Zellen von ganz besonderer Art, bestehen.

Die Behauptung, dass *sämtliche* Zellen einer mutierenden Kultur die Fähigkeit besitzen, unter geeigneten Bedingungen rasch ein bestimmtes Gärungsvermögen zu entwickeln, das sie vorher nicht besessen haben, wurde in meiner vor 30 Jahren geschriebenen Arbeit (1. c. S. 329—331) durch ein einfaches Experiment begründet. Im Bewusstsein der grundsätzlichen Wichtigkeit desselben wurden zur Sicherstellung der Beobachtung zahlreiche Wiederholungen mit immer demselben Erfolg vorgenommen und die Beschreibung so klar und ausführlich als möglich gestaltet. Ich ging von der Beobachtung aus, dass in Schüttelkulturen des mutierenden *Bact. imperfectum* bei dichter Aussaat in Saccharoseagar unter vielen Hunderttausenden der gewachsenen Kolonien nur wenige, etwa 30—100, im Verlauf einiger Tage wegen zunehmender Grösse sich auszeichneten und darum etwas Besonderes zu sein schienen. In der Tat erwiesen sich diese verhältnismässig grossen Kolonien nach Abimpfung und Verarbeitung auf neue Schüttelkulturen aus kräftigen Saccharosevergärern zusammengesetzt. Meine Ausgangskultur hatte demnach, genau wie die Kulturen von *coli mutabile* in den Händen anderer Forscher, darunter M. *Lewis*, auf 100 000 ausgesäte Zellen höchstens *einen* Mutanten geliefert. *Lewis* hat in einem Fall nach einem besondern Verfahren auf die Gesamtzahl von 3 540 000 000 Zellen 6300 Mutanten erhalten, was einem Verhältnis von ungefähr 500 000 : 1 entspricht.

Wenn ich mein Impfmaterial stufenweise um je $^1/_{10}$ verdünnte, bekam ich eine Reihe von Schüttelkulturen, von denen die letzte nur noch eine beschränkte Zahl gut getrennter Kolonien aufwies. Das Auffallende dieser Reihe bestand nun im Wechsel des Verhältnisses zwischen kleinen und grossen Kolonien. Hatte die Zahl der letztern im 1. Gläschen der Reihe 50 betragen, so betrug sie im 2 Gläschen (Verd. $^1/_{10}$) nicht etwa 5, wie zu erwarten war, sondern wiederum etwa 50. Dasselbe war der Fall bei der Verd. $^1/_{100}$ und so fort, bis in die höhern Verdünnungen, wo die Unterschiede zwischen grossen und kleinen Kolonien sich verwischten, während in der obersten Verdünnung nur noch einige wenige und zwar ausschliesslich grosse Kolonien sich entwickelt hatten. Aus diesem Verhalten war nach meiner Meinung nur *ein* Schluss zu ziehen, nämlich dass die grossen Kolonien der höchsten Verdünnung den Millionen kleinster Kolonien der niedrigsten Verdünnungen entsprachen und nicht anderes als Mutanten-Kolonien, d. h. entschiedene Saccharosevergärer sein konnten. Die Prüfung einer solchen Kultur höchster Verdünnung, die 6 grosse Kolonien enthielt, hat diese Annahme bestätigt, indem sämtliche Kolonien bei Verarbeitung auf Saccharoseagar-Schüttelkulturen innerhalb 24 Stunden kräftige Gärung mit Gasbildung ergaben. Es braucht kaum besonders betont zu werden, dass diese saccharosevergärenden Kolonien mit den grossen saccharosevergärenden Kolonien der untersten Verdünnungen nichts zu tun haben, denn nachdem diese letztern im 1. Gläschen der Reihe nur mit der Zahl 50 vertreten sind, können sie in der Verdünnung $^1/_{10}$ nur mit 5 figurieren und müssen schon in der Verdünnung $^1/_{100}$ fehlen, geschweige denn in den Verdünnungen von $^1/_{100\,000}$ und darüber. Was hier in Form von saccharosevergärenden Kolonien zur Entwicklung kommt, sind also einzelne umgewandelte der Hunderttausende von kaum sichtbaren, nicht-saccharosevergärenden Kolonien der niedrigsten Verdünnungskulturen der Reihe. Bezüglich der Erklärung des eigenartigen Zusammenhanges der Verdünnung der Kulturen mit dem prozentualen Auftreten von Mutanten möchte ich, um Wiederholung zu vermeiden, auf meine zitierte Arbeit verweisen. *Ich beschränke mich hier auf die Feststellung, dass in mutierenden Kulturen des in Diskussion stehenden Typus alle Zellen gleichwertig sind und die Frage nach der Zahl der Mutanten in einer solchen Kultur keine Berechtigung hat, indem je nach den Versuchsbedingungen alle beliebigen Werte erzielt werden können.*

Man wird gespannt sein, zu vernehmen, welche Argumente M. *Lewis* zur Begründung seines ablehnenden Standpunktes gegen die vorstehend formulierte Feststellung anzuführen hat. Diese Argumente sind teils sachlicher, teils persönlicher Natur, nach beiden Richtungen aber jedenfalls als ausgeprägte Fehlschläge zu bewerten.

In sachlicher Beziehung ist zu sagen, dass *Lewis* nach richtiger Darstellung meines Experimentes betreffend die Schüttelkulturen mit abgestuften Verdünnungen folgendes sagte: «Sein (Burris) fundamentaler Irrtum bestand darin, nicht erkannt zu haben, dass die grossen Kolonien der dicht besetzten Schüttel-

kulturen aus lauter Variantenzellen bestanden, während die grossen Kolonien der spärlich besetzten Kulturen, welche überhaupt nur grosse Kolonien enthielten, sowohl Varianten als Originalzellen enthielten.» Im Anschluss daran steht die Bemerkung zu lesen, dass in der ganzen Arbeit von *Neisser* und *Massini* kein Beleg dafür zu finden sei, dass je reine Variantenstämme erhalten wurden.

Was den «fundamentalen Irrtum» betrifft, so mag er in der Meinung von *Lewis* eine Rolle spielen. Tatsache ist, dass, wie ich weiter oben angeführt habe, sämtliche 6 Kolonien einer Saccharoseschüttelkultur höchster Verdünnung sich wie Reinkulturen eines kräftigen Saccharosevergärers verhielten und folglich ganz vorherrschend aus Mutanten bestanden haben müssen. Dass in den Kolonien noch einzelne nicht mutierte Originalzellen enthalten sein konnten, ist ganz nebensächlich und übrigens höchst unwahrscheinlich. Die von *Lewis* zur Stütze seiner Behauptung herangezogene Arbeit von *Massini* leistet der Beweisführung meines Kritikers einen möglichst schlechten Dienst, indem dort (S. 274) gerade das Gegenteil von dem zu finden ist, was *Lewis* glaubte festgestellt zu haben. Die Stelle lautet: «Wird von einer rot wachsenden (d. h *Lactose* vergärenden) Kolonie wieder abgeimpft und ein neuer Endosatz ausgestrichen, so entstehen nur rote Kolonien, keine einzige weisse, und auch bei weiterer Verimpfung bleiben alle folgenden Kolonien rein rot; es gelingt nie mehr, auf Endo eine weisse Kolonie zu erhalten.» Das bedeutet doch wohl nichts anderes, als dass *Massini* aus seinem *Bact. coli mutabile* nicht nur ausnahmsweise, sondern ganz allgemein *reine* Mutantenstämme erhalten hat.

Das von *Lewis* zur Erklärung meiner angeblichen Irrtümer herangezogene Argument persönlicher Natur besteht in dem Vorwurf, dass ich die Arbeit von *Neisser* und *Massini* nicht genügend studiert habe! Ich kann es mir ersparen, diesen Vorwurf zu entkräften, obwohl ich dazu anhand von seinerzeit gemachten Aufzeichnungen sehr wohl in der Lage wäre. Hingegen kann ich es mir nicht versagen, in diesem Zusammenhang nochmals auf den im vorigen Alinea hervorgehobenen grellen Widerspruch hinzuweisen, der zwischen einer von *Lewis* angeblich aus der Arbeit von *Neisser* und *Massini* entnommenen Feststellung und dem in Frage kommenden Originaltext jener Arbeit besteht.

Wenn somit die Argumente von *Lewis* gegen die Richtigkeit meiner Auffassung betreffend die einheitliche Natur aller Zellen einer mutierenden Kultur bei richtiger Würdigung der von mir seinerzeit vorgebrachten Tatsachen hinfällig sind, so wird diese Richtigkeit noch weiter gestützt durch Angaben, welche in den Arbeiten von *Massini* und *Lewis* selber enthalten sind. Beispielsweise sei auf Folgendes hingewiesen:

a) *Massini* äussert sich bei Besprechung der auf Platten des *Bact. coli mutabile* auftretenden Sekundärkolonien ungefähr so: «Es wollte nicht gelingen, bei Ausgang von einer Kolonie durch das Plattenverfahren eine Trennung in knötchenhaltige und knötchenfreie Kolonien zu bekommen, auch nicht wenn man das Plattenverfahren 10 mal wiederholte und immer wieder von einer Kolonie ausging. Verf. ist sicher, dass eine Reinkultur vorlag und nicht ein Gemisch

von Keimen: das bedeutet aber, dass es zu den Eigenschaften des verwendeten Coli-Stammes gehört, immer Kolonien mit Knötchen zu liefern.» Genau dieselbe Feststellung konnte ich bei meinem *Bact. imperfectum* machen. Wenn *Massinis* Aeusserung die Tatsache der einheitlichen Natur aller Zellen der mutierenden Kultur durchblicken lässt, so unterlässt er es doch, die Konsequenz zu ziehen, ohne Zweifel beeinflusst durch das trügerische Bild der knötchentragenden Kolonien, welche dafür zu sprechen scheinen, dass nur vereinzelte Keime zur Bildung von Varianten bzw. Mutanten befähigt sind. Bei genauerer Ueberlegung kommt man aber zum Schlusse, *dass die Unmöglichkeit, auf dem Wege des Plattenverfahrens die knötchenhaltigen Kolonien bzw. die Knötchen aus der Kultur auszuschalten, nur durch die Einheitlichkeit aller Zellen der Ausgangskultur erklärt werden kann und eigentlich eine notwendige Folge dieser Einheitlichkeit ist.*

b) Auch *Lewis* hat sich aufgrund seiner Versuche für berechtigt gehalten, an der Reinheit seiner Kulturen nicht zu zweifeln und das anscheinend gegen die Reinheit sprechende Verhalten mit dem Auftreten von Varianten in Zusammenhang gebracht. Die Zahl der Varianten soll, wie bereits bemerkt, sehr klein sein, nämlich gegenüber den (nicht variierten) Originalzellen höchstens das Verhältnis 1 : 100 000 aufweisen. Diesen seinen Feststellungen stehen anderseits Angaben gegenüber, welche wie bei *Massini* für eine Einheitlichkeit aller Zellen der Ausgangskulturen sprechen, so z. B. wenn der Autor zeigt, dass die Prüfung von Kolonien, die auf sehr verschiedenen Nährböden gewachsen sind, immer wieder das oben angegebene Verhältnis von Varianten zu Originalzellen liefert. Wenn *Lewis* daraus den Schluss zieht, dass unter allen möglichen Wachstumsbedingungen, z. B. auch bei Abwesenheit des in Frage kommenden Zuckers, die Variation stattfinde, so gibt er sich einer verhängnisvollen Täuschung hin. Nicht weil die Variation beim Wachstum des Organismus auf den verschiedenen Nährböden schon stattgefunden hat, zeigt die Prüfung der Kolonien das Vorhandensein von Varianten, sondern weil schon die Ausgangskultur eine mutierende war und in einer solchen sämtliche Zellen mit der Bereitschaft behaftet sind, in passendem Nährboden, der einen bestimmten Zucker enthält, in kurzer Zeit ein Gärvermögen gegenüber letzterem zu entwickeln, das er vorher nicht besessen hat. An dieser Bereitschaft vermag offenbar das Wachstum der Kultur unter sehr verschiedenen Bedingungen nichts zu ändern. Wenn nun die Prüfung der unter verschiedenen Verhältnissen herangewachsenen Kolonien mit grosser Gleichmässigkeit die erwähnte spärliche Zahl der Varianten liefert, so ist daran einzig das ungeeignete Prüfungsverfahren schuld.

c) In *Lewis'* Versuchen betreffend *Verstärkung des Gärungsvermögens durch serienweise Weiterimpfungen* finden sich Widersprüche, die nur durch die von mir vertretene Auffassung über das Wesen der fermentativen Mutation gelöst werden können. *Lewis* benutzte seinen Stamm 1, der im allgemeinen bei schwacher Impfung auf Lactose-Peptonwasser 72 Stunden bis zur Hervorrufung des Reaktionsumschlages braucht. Aber schon nach 24 Stunden ist die Kultur

mit ungefähr 1 Milliarde Zellen pro 1 cm^3 bevölkert. Zu diesem Zeitpunkt zeigt die Kultur so wenig Varianten, dass ihre Zahl nach dem üblichen Plattenverfahren nicht festgestellt werden kann; auch nach 48 Stunden sind die Originalzellen weitaus vorherrschend. Anschliessend folgt der Satz: «Augenscheinlich braucht man also nur die Kultur geeignet zu verdünnen, um die Variantenzellen auszuschalten.» Nach den Angaben von *Lewis*, wonach in jungen Kulturen auf 100 000 bis 1 Million Originalzellen höchstens 1 Variante kommt, müsste die Ausschaltung der Varianten also bei einer Konzentration von 10 bis 1 Million pro 1 cm^3 erreicht sein. Es ist daher nicht überraschend, wenn der Versuch ergibt, dass bei Konzentrationen von 1, 10 und 100 Millionen Zellen bei Verimpfung von je 1 cm^3 alle 24 Stunden während 30 Tagen die für das Eintreten der Gärung (Reaktionsumschlag) nötige Zeit nicht verändert wurde. Sehr überraschend ist aber, dass bei der Konzentration 100 000, bei welcher Varianten ausgeschlossen sein sollten, diese Zeit von 72 auf 36 Stunden verkürzt wurde, und dass bei noch niedrigeren Konzentrationen, wobei Varianten absolut nicht mehr in Frage kommen sollten, eine «rapide Transformation» stattfand, was wohl bedeutet, dass in den Kulturen schon nach 24 Stunden eine kräftige, mit Säure- und Gasbildung verbundene Laktosegärung zu verzeichnen war. Das Versuchsergebnis steht in krassem Widerspruch mit der Auffassung von *Lewis* von der Verschiedenartigkeit der Zellen der Ausgangskulturen. Die Erklärung ist aber einfach, wenn man von der Auffassung ausgeht, *dass alle Zellen der Ausgangskultur einheitlicher Natur sind, dass aber bei dichter Besetzung infolge gegenseitiger Hemmung nur vereinzelte Zellen das ihnen zukommende Gärungsvermögen entfalten können, während in dem Masse, als durch Verdünnung der Kultur die Hemmungen schwinden, nach und nach sämtliche Zellen zur Ausübung der Funktionen gelangen, zu welchen ihre besondere Konstitution sie befähigt.*

B. Die Frage der Uebergangsformen zwischen Originalzelle und Variant.

Einer der Schlussätze meiner damaligen Mitteilung lautete wie folgt: Der Uebergang vom latenten zum aktiven Gärungsvermögen ist ein verhältnismässig rasch erfolgender, doch kein sprunghafter. Es lässt sich zeigen, dass zwischen dem nicht erregten und dem erregten, aktiven Zustand sowohl bei Kolonien als bei einzelnen Zellen Zwischenstadien existieren.

Ich habe vorstehendes Urteil in dieser Frage, deren Lösung gewisse Schwierigkeiten bietet, nicht leichthin gefasst. Ich war mir bewusst, dass *Massini* und andere Forscher den Standpunkt einnahmen, der Uebergang vom latenten zum aktiven Gärungsvermögen sei ein plötzlicher, und ich gab mir Mühe, meine gegenteilige Ansicht experimentell zu belegen. Inwieweit mir dieses gelungen ist, mögen die ernsthaften Leser meiner Arbeit (1. c. S. 332—337) entscheiden. Ich möchte hier nur den Plan meiner Beweisführung skizzieren und eigentliche Wiederholungen vermeiden. Die in Frage stehenden Versuche waren dreierlei Art:

1. Aus Schüttelkulturen des *Bact. imperfectum* hoher Verdünnung in Saccharoseagar entnahm ich einzelne Kolonien in verschiedenem Alter und machte Uebertragungen auf neue Schüttelkulturen. Kolonien im Alter von 2 Tagen lieferten Schüttelkulturen mit Eigenschaften, wie sie bei Verarbeitung von Originalkolonien zu beobachten sind, d. h. um mehrere Tage verzögerte Säure- und Gasbildung. Kolonien im Alter von 7 Tagen lieferten Schüttelkulturen mit kräftiger Gasbildung schon nach 1 Tag. Kolonien mittleren Alters lieferten Schüttelkulturen mit Gärungserscheinungen, die bezüglich der Zeit des Auftretens und Intensität zwischen den genannten Extremen lagen.

2. Aus einer flüssigen Kultur (Pepton-Saccharoselösung), die mit wenigen Zellen des *Bact. imperfectum* geimpft war, wurde zu verschiedenen Zeiten 1 Oese voll entnommen und auf Saccharoseagar-Schüttelkulturen verarbeitet. Bei Entnahme einer Probe aus der 2 Tage alten Kultur zeigte die Schüttelkultur nach 3 Tagen von Auge sichtbare Kolonien, aber erst nach 4 Tagen mehrere Gasblasen. Die Schüttelkultur aus der 6 Tage alten flüssigen Kultur zeigte schon vor 19 Stunden viel Gas. In der Zwischenzeit entnommene Proben lieferten Schüttelkulturen mit entsprechend abgestufter Gärungsintensität.

3. Gleichzeitig mit Entnahme des Impfmaterials für obige Schüttelkulturen wurden Abimpfungen in Form von Strichkulturen auf gewöhnlichen Nähragar ausgeführt. Es sollte festgestellt werden, ob das in verschiedenem Grade ausgebildete Gärvermögen in Abwesenheit von *Saccharose* auf dem im einzelnen Fall erreichten Stand stehenbleiben oder sich zu voller Intensität weiter entwickeln würde. Die Agar-Strichkulturen wurden nach Verlauf von 3 Wochen wieder auf Saccharoseagar-Schüttelkulturen verarbeitet. Diese Versuche sprachen deutlich für eine erbliche Fixierung des partiell ausgebildeten Gärungsvermögens, indem sich die verschiedenen Grade des Gärungsvermögens der Ausgangskulturen in deutlicher Weise in den End-Schüttelkulturen wiederspiegelten.

Dieses sind die experimentellen Unterlagen, auf welche ich meine Behauptung betreffend Zwischenformen des latenten und des aktiven Gärungsvermögens stützte. Sehen wir zu, was *Lewis* zugunsten seiner gegenteiligen Ansicht vorzubringen hat.

Von einer Nachprüfung meiner Versuche ist in seiner Arbeit nirgends die Rede. Die ganze Angelegenheit wird mit folgenden Sätzen abgetan: «Seine (Burris) Schlussfolgerung, dass die Umwandlung eher ein stufenweiser als ein plötzlicher, mutationsähnlicher Vorgang ist, war auf den Umstand gestützt, dass junge, auf Schüttelkulturen überimpfte Kolonien eine längere Zeit bis zum Auftreten von Gärungserscheinungen benötigten als ähnliche, ältere Kolonien. Er scheint geglaubt zu haben, dass die Kolonie als Ganzes umgewandelt wird dank

dem Einfluss von Saccharose auf die Bildung von Enzymen.» *Lewis* hat sich nicht getäuscht. Tatsächlich habe ich so etwas geglaubt und glaube es heute noch. Wird denn nicht allgemein im Gebiete der Mikrobiologie bei Behandlung physiologischer Fragen wegen der Kleinheit der Objekte mit Zellmassen gearbeitet anstatt mit einzelnen Zellen? Ein durch eine Zellmasse, sei es nun eine Kolonie in festem Nährboden oder eine flüssige Kultur, geäussertes Gärungsvermögen von bestimmter Intensität kann im allgemeinen zwanglos als Ausdruck des Gärvermögens der einzelnen am Aufbau der Zellmasse beteiligten Zellen betrachtet werden. Höchstens könnte man den Einwand machen, dass die Leistung der Masse die Resultierende von sehr verschieden grossen Leistungen der einzelnen Zellen sei. Im vorliegenden Fall lassen aber die beschriebenen Versuche auffallende Unregelmässigkeiten, die sich als Folge einer wesentlich verschiedenen Leistungsfähigkeit der einzelnen Zellen ergeben müssten, nicht erkennen; im Gegenteil, die den Erwartungen entsprechenden Ergebnisse über das je nach dem Alter der verimpften Zellen abgestufte Gärungsvermögen stimmen vorzüglich zu meiner Theorie betreffend die Einheitlichkeit aller Zellen einer mutierenden Kultur.

Aufgrund der vorliegenden Ausführungen sehe ich mich nicht veranlasst, an den vor 30 Jahren bei einem gegenüber Saccharose mutierenden Stamm der Coligruppe erhaltenen Versuchsergebnissen etwas zu ändern. Ich halte gegenüber den Behauptungen meiner Kritiker *Martin Kristensen* und *J. M. Lewis* daran fest,

1. dass sämtliche Zellen einer fermentativ mutierenden Kultur von einheitlicher Beschaffenheit sind und unter geeigneten Bedingungen in kurzer Zeit gegenüber bestimmten Zuckern oder Alkoholen ein Gärungsvermögen entwickeln, das sie vorher nicht besessen haben;
2. dass der Uebergang der Kultur und damit der sie zusammensetzenden Zellen vom gärungs-inaktiven zum gärungs-aktiven Zustand nicht ein plötzlicher, sprunghafter ist, sondern kontinuierlich über zeitlich erfassbare Zwischenstufen verläuft.

*

Im Anschluss mögen einige Bemerkungen folgen betreffend *die Rolle der spezifischen Kohlenstoffverbindung (Zucker oder Alkohol) beim Auftreten des bezüglichen Gärungsvermögens.*

Diese Frage wurde schon von verschiedener Seite behandelt, ohne dass es zu einer einheitlichen Lösung gekommen wäre. Zur Zeit neigt man mehrheitlich der Auffassung zu, dass die spezifische Substanz, also z. B. die *Lactose* beim *Bact. coli mutabile,* nicht etwa als Erreger (stimulus) der neu auftretenden Lactosevergärung, sondern nur als selektiver Faktor zu betrachten sei. Auch *Lewis* nimmt diesen Standpunkt ein, wenn er in der Zusammenfassung seiner Arbeit sagt: «Zucker und Alkohole wirken als selektive Agentien, üben aber

keinen spezifisch anregenden Einfluss auf die Entstehung der Varianten aus.» Nach *Lewis'* Auffassung enthalten die mutierenden Kulturen bereits Varianten, wenn auch in sehr geringer Zahl. Die Entstehung dieser Varianten scheint er in unklarer Weise in irgendwelche vorausgegangene Kulturen zu verlegen, auf welche er dann sein quantitatives Varianten-Bestimmungsverfahren anwendet. Nachdem er z. B. aus einem Glukoseagar wie auch aus einem gewöhnlichen Fleischwasser-Peptonagar Kolonien abgeimpft hat, welche nach seinem Verfahren die übliche geringe Zahl von Varianten lieferten, zieht er folgenden Schluss: «Es scheint, dass Variation unter irgendwelchen Bedingungen vorkommen kann, welche für das Wachstum des Organismus geeignet sind.»

Auf das Irrtümliche dieser Auffassung hatte ich schon weiter oben (S. 3) Gelegenheit hinzuweisen. Die Umwandlung vom Nichtlaktosevergärer zum Laktosevergärer hat sich nicht schon im Glukoseagar oder im gewöhnlichen Agar abgespielt, sondern sie findet erst bei der Prüfung im Laktosenährboden statt. Die Zellen der Kultur auf Glukose- oder gewöhnlichem Agar waren aber dank ihrer Eigenschaft als Zellen eines mit *Laktose* mutierenden Stammes bereit, *in Kontakt mit Laktose* bei im übrigen günstigen Entwicklungsbedingungen das Gärungsvermögen gegenüber diesem Zucker zu entfalten und auf ein gewisses Maximum zu steigern. Ich kann daher der Ansicht, dass bei dem Vorgang dem Zucker keine stimulierende, sondern nur eine selektive Funktion zukommt, nicht beipflichten. *Die Erweckung des den Zellen innewohnenden latenten Gärvermögens gegenüber einem bestimmten Zucker oder Alkohol zu einer aktiven Gärtätigkeit und die Steigerung der letztern (durch Ausbildung des spezifischen Enzymapparates) im Kontakt mit der in Frage kommenden Substanz darf als typische Reizwirkung erklärt werden.*

Literatur

[1]) *Neisser M.*, Zentralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref., 1906; Bd. 38, Beiheft; S. 98.
[2]) *Massini Rud.*, Arch. f. Hyg., 1907, Bd. 61; S. 250.
[3]) *Burri R.*, Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., 1910, Bd. 28; S. 321.
[4]) *Hadley Ph.*, Journ. Inf. Dis. Vol. 40; S. 1—312.
[5]) *Kristensen Martin*, Acta Path. et Microb. Scand., 1940, Bd. 17; S 193.
[6]) *Lewis J. M.*, Journ. of Bact., 1934, Bd. 28; S. 619.