DIE LOCHKARTEI ALS HILFSMITTEL BEI DER
KLASSIFIZIERUNG VON STREPTOMYCETEN

K. H. Wallhäusser

Laboratorium für Mikrobiologie
Farbwerke Höchst AG
Frankfurt-am-Main, Germany

Wir hielten es für wünschenswert, wenn die allgemeinen Bestrebungen zunächst weniger auf eine strenge Klassifizierung hinzielten, sondern sich zunächst mehr auf eine "vergleichende Systematik" beschränken würden. Noch ist bei den Streptomyceten alles im Fluss und ein eben aufgestellter Bestimmungsschlüssel ist, noch bevor er erscheint, bereits wieder überholt. Bis er jedoch neu aufgelegt wird, vergehen oft Jahre. In der Zwischenzeit aber bestimmt jeder nach dem veralteten Schlüssel weiter, mit dem Ergebnis, dass zahlreiche Streptomyces-Arten in den verschiedensten Laboratorien der Welt "neu" entdeckt werden.

Um dieser Entwicklung entgegenzutreten, schlagen wir die Benutzung einer Lochkartei, anstelle der bisher benutzten Bestimmungsschlüssel, vor. Es wäre sehr zu begrüßen, wenn jeder, der mit Streptomyceten arbeitet, seine "neue" Streptomyces-Art auf eine solche Karteikarte eintragen, und diese zusammen mit dem Stamm an eine noch festzulegende "Internationale Kultursammlung" einreichen würde. Dort würde eine Nachbestimmung durchgeführt, die Karteikarte nochmals überprüft, vervielfältigt, und an alle sich dafür interessierenden Institute und Firmen verschickt. Auf diese Weise würde jeder ständig auf dem Laufenden gehalten werden.

Die Benutzung von Lochkarten würde noch weitere Vorteile bringen. Es wäre so möglich, die einzelnen Arten, hinsichtlich aller Merkmale, viel besser untereinander zu vergleichen, als das beispielsweise bisher der Fall war, oder auf Tabellen möglich ist. Man kann bei der Bestimmung auch weiterhin nach jedem beliebigen Schlüssel vorgehen und so die Zuverlässigkeit der einzelnen Schlüssel prüfen. Werden beispielsweise nacheinander Sporophorentyp, Farbe des Luftmycels, Farbe des vegetativen Mycels, Farbe des löslichen Pigmentes, Braunfärbung auf Pepton-Nährböden usw., jeweils als Primärmerkmal gewählt, so

muss man, wenn der jeweilige Schlüssel richtig arbeitet, immer bei der selben Art enden.

Auch die Zuverlässigkeit bzw. Variabilität der einzelnen Merkmale kann bei Parallelbestimmungen an den Stämmen der gleichen Art, in verschiedenen Laboratorien, mit Hilfe der Lochkarteikarten sehr leicht ausgewertet werden. Man wird auf diese Weise später einmal exakter entscheiden können, welche Merkmale nun für die Bestimmung von Streptomyceten unbedingt erforderlich und zuverlässig sind, und welche man entbehren kann.

Im demnachfolgend näher beschriebenen Karteischlüssel haben wir zunächst noch sehr viele Merkmale aufgenommen. Wir sind uns dessen bewusst, dass nicht allen notwendig sind, aber erst die Erfahrung wird zeigen, welche wir vernachlässigen können. Auch die Zahl der benutzten Nährmedien ist noch sehr hoch, und man wird versuchen müssen, diese auf möglichst wenige zu beschränken.

Die Karteikarte* ist nun so angelegt, dass in der linken oberen Ecke die Art- bzw. Stammbezeichnung eingetragen wird. Die 5 oberen Lochpaare (18 - 14) der linken Seite (L) dienen zur Registrierung des Anfangsbuchstabes der Artbezeichnung, z. B. albus = a, wird nach dem Alphabet-Schlüssel gestochen.

Fangen sehr viele Arten mit dem gleichen Buchstaben an, so kann noch der zweite Buchstabe (1, bei albus) mitgestochen werden (Lochpaare 13-9). Auf der rechten Karten-seite wird das von dem Streptomyceten gebildete Antibiotikum vermerkt und mit Hilfe der Lochpaare R 1-5, bzw. 6-10, auf der rechten Seite gestochen.

Auf dem oberen Rand der Lochkarte (O 1-28) werden die morphologischen Eigenschaften und unten (U 1-28) die physiologischen Eigenschaften erfasst. Das Vorhandensein einer bestimmten Eigenschaft wird mit (+), das Fehlen mit (-) bezeichnet. Im ersteren Falle wird tief, im letzteren flach gestochen.

Durch das Lochpaar 28 werden die Stämme mit Luftmycel und Sporenbildung (+) von den unversporteten Arten getrennt. Die Lochpaare 24-27 kennzeichnen den Sporophorentyp und die Beschaffenheit des Luftmycels. Für die Charakterisierung der Sporophoren haben wir die von Pridham u. Mitarb.

*Die Karteikarte wurde in Stockholm von Dr. Wallhäusser an die Teilnehmer des Streptomyceten-Meetings verteilt.

BACTERIOLOGICAL NOMENCLATURE AND TAXONOMY

(1958) vorgeschlagene Nomenklatur benutzt.

Neben den Sporophorentypen (Kennzahl 1-7) wird in der ersten Rubrik zugleich die morphologische Beschaffenheit des Luftmycels charakterisiert (Kennzahl 8-10). Hierfür haben wir die von Lindenbein vorgeschlagenen Bezeichnungen teilweise übernommen:

pulverulentus	(mehlig, pulverig)
vellereus	(sammetig)
lanatus	(wollig)

Mit Hilfe des Zahlenschlüssels (1, 2, 4, 7-Schlüssel), der hier mehrfach benutzt wird, können bei 4 Lochpaaren 10 Eigenschaften erfasst werden. Die Kennzahlen 1, 2, 4 und 7 sind auf die Schlüsselkarte, oberhalb der Lochpaar-Nummer, aufgedruckt. Die Eigenschaften mit den Kennzahlen 1, 2, 4 und 7 werden gemäss dem Schlüssel tief, die restlichen flach gestochen.

Sporen-Form (1, 2, 4, 7-Schlüssel)

Zur Charakterisierung der Sporenform werden lichtmikroskopische und elektronenmikroskopische Beobachtungen herangezogen. Als Standardnährboden wird Stärkeagar benutzt. Die Kennzahlen 1-3 beziehen sich auf die lichtmikroskopisch erfassbaren morphologischen Eigenschaften [(sphäroid (kugelig), langoval und zylindrisch)] und die Kennzahlen 6-9 auf die Charakterisierung der elektronenoptisch beobachteten Anhänge, bzw. Oberflächenbeschaffenheit der Sporen.

Farbe von Sporen und Luftmycel (1, 2, 4, 7-Schlüssel)

Die Angabe der Farbe erfolgt nach den auf Glukoseagar bzw. Emerson-Agar gemachten Beobachtungen. Es wurde dabei bewusst auf die Angabe von Zwischentönungen (z. B. hellgrau, mausgrau, usw.) verzichtet, und nur 10 Hauptfarben festgelegt.

Vegetatives Mycel (Substrat-Mycel)

Die Angaben erfolgen nach den Ergebnissen auf Glukose-Agar, Emerson-Agar und Stärke-Agar. Zur Beurteilung der Beschaffenheit des Mycels werden 8 Eigenschaften, zur Charakterisierung der Färbung 10 Hauptfarben aufgeführt.

Lösliches Pigment

Unter "löslichem Pigment" verstehen wir gefärbte Substanzen, die in das Nährmedium (Agar oder Kulturlösung) ausgeschieden werden und dieses verfärben. Die pH-Abhängigkeit der Farbe wird durch Extraktion der Kulturlösung mit n-Butanol bei pH 2 und 8, und des Mycels mit Methanol, geprüft. Nachdem Eindampfung des Butanols bzw. Methanols im Vakuum erfolgt die Prüfung auf Wasserlöslichkeit. Butanolische, methanolische und wässrige Lösung werden anschliessend unter der UV-Lampe auf das Vorhandensein fluoreszierender Eigenschaften untersucht.

Für die Einstufung in die Farbskala wurden 7 Grundfarben gewählt.

Auf der unteren Seite der Schlüsselkarte sind die physiologischen Eigenschaften aufgeführt.

Zur Abtrennung jener Arten, die auf Peptonnährböden (Pepton-Gelatine) eine Braunfärbung ergeben, dient das Lochpaar Nummer 1.

Für die Bestimmung des Temperaturoptimums haben wir lediglich zwei Temperaturstufen gewählt, 22 und 37°C. Gerade hierbei ergeben sich, hinsichtlich der enzymatischen Reaktionen, markante Unterschiede.

Produktion antibiotisch wirksamer Substanzen

Wir haben uns auf einige wenige Aussagen beschränkt, die zunächst nur orientierenden Charakter haben und die mit verhältnismässig einfachen Versuchen ermittelt werden können. So wird erfasst, ob das Antibiotikum in der Kulturlösung oder im Mycel vorkommt und ob es daraus mit Butanol (pH 2 und 8) bzw. Methanol extrahierbar ist. Durch Verwendung von Testorganismen, die gegen bekannte Antibiotika resistent gemacht wurden, lässt sich auch die Gruppenzugehörigkeit bestimmen. Weiters Aussagen, welcher Vertreter dieser Gruppe nun vorliegt, lassen sich jedoch nur an Hand papierchromatographischer Untersuchungen machen.

Die Festlegung des orientierenden Wirkungsspektrums (Kennzahlen 1-4) erfolgt im Strichtest. Die Auswertung gegen Trichomonaden, Viren und Sarkome—die Aktivität geht hier häufig mit der Wirksamkeit gegen Hefen parallel—dürft wohl von besonderem Interesse sein, wird aber wohl nicht in jedem Laboratorium durchgeführt werden können.

BACTERIOLOGICAL NOMENCLATURE
AND TAXONOMYC- und N-Quellen-Spektrum

Die Versuche zur C-Quellen- und N-Quellen-Verwertung führen wir in graduierten 10-ml-Zentrifugenglassern, mit 3 ml Füllung, durch. Die Auswertung erfolgt nach 5-tägiger Kultivierung auf der Schüttelmaschine (200 Umdr./Min.) bei 28°C, durch Zentrifugieren, 10 Min. bei 6000 Umdr. Der prozentuale Anteil des Sedimentes wird bestimmt und mit der Normalkultur (Czapek-Dox-Lösung) verglichen. Auch hier lässt sich sicherlich die Zahl der verwendeten C-Quellen noch einschränken.

Eine ausführliche Arbeit zu diesem Thema erscheint demnächst im "Archiv für Mikrobiologie."

Lochkarte Nr. 1

Lochkarte Nr. 2

BACTERIOLOGICAL NOMENCLATURE AND TAXONOMY

Flach		Tief	Tief		Flach
- Luftmycel und Sporen +					
1. Ractus flex.	6. Biverticillus	Sporoblasten f. f. f.	+ Braunfärbung auf Peptonmedien -		
2. Reticulatum op.	7. Biverticillus-spira		+ > 30° Temperaturoptim. < 30° -		
3. Spira	8. pulverulentes		+ Stärkehydrolyse -		
4. Monoverticillus	9. villosus (sammetig)		+ Gelatineabbau -		
5. Monovert. Spira	10. lanatus (wellig)		+ Caseinhydrolyse (Platte) -		
1. sphäroid	6. glatt	Sporen form	+ Milchsäuregärung -		
2. langoval	7. warzig		+ Milchsäurepeptonisierung -		
3. zylindrisch	8. haarig		+ Co-Malat-Abbau -		
4.	9. stachelig		+ Celluloseabbau -		
5.	10.		+ Nitratreduktion -		
1. weiß	6. rosa	Farbe veget. Mycel u. Luftmycel			
2. creme	7. rot				
3. gelb	8. leucis				
4. blau	9. braun				
5. grün	10. grau				
1. weich, zerstäubbar	6. knusprig, glatt	Vegetatives Mycel Form	+ Produkt, antibiot. Substanzen -		
2. hart, elastisch	7. runzelig		+ in der Kulturlösung -		
3. spröde	8. radial gefurcht		+ im Mycel -		
4. schleimartig, dünn	9.		+ extrahierbar -		
5. pastelig	10.		+ > 7 End-pH der Kulturlösung 7 < -		
1. weiß	6. orange	Farbe veget. Mycel	1. Tetracycline 6.		
2. violett	7. rot		2. Macrolide 7.		
3. blau	8. braun		3. Albamycin 8.		
4. grün	9. grau		4. 9.		
5. gelb	10. schwarz		5. 10.		
- Lösliches Pigment +		Lösliches Pigment	1. gramposit. Bakt. 6. Viren		
- Farbe pH abhängig +			2. gramnegat. Bakt. 7. Sarkome		
- wasserlöslich +			3. Mycobakterien 8.		
1. violett	6. rot		4. Pilze (Candida) 9.		
2. blau	7. braun		5. Trichomonaden 10.		
3. grün	8.				
4. gelb	9.				
5. orange	10.				

Lochkarte Nr. 3