

# ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA

Editor: G. WOLF

---

*E 396/1961*

## **Proteus** **Vermehrung und Koloniebildung**

Mit 3 Abbildungen

GÖTTINGEN 1975

---

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

## **Proteus**

### **Vermehrung und Koloniebildung**

G. POETSCHKE, München

#### **Allgemeine Vorbemerkungen<sup>1</sup>**

Die Bakteriengattung *Proteus* gehört zur Familie der Enterobacteriaceae. Sie ist in unserer Umwelt weit verbreitet, insbesondere in zerfallendem oder faulendem organischen Material, ferner in Darm und Kot. Auch als Krankheitserreger des Menschen spielen *Proteus*-Arten keine geringe Rolle, besonders bei Infektionen der Harnwege. Die Gattung hat ihren Namen nach dem griechischen Meergott Proteus erhalten, der seine Gestalt dauernd wechseln konnte.

In der Tat ist der Gestaltwandel, zu dem alle Arten, besonders aber *Proteus mirabilis* und *Proteus vulgaris* befähigt sind, besonders groß. Diese beiden *Proteus*-Arten zeichnen sich auch durch ein Bewegungsverhalten aus, das in dieser Form nur bei ihnen vorkommt. Es handelt sich um eine Ausbreitung über die ganze Oberfläche feuchter Nährböden.

Näheres darüber in der Beschreibung des Films „Proteus-Bewegungsverhalten“ (POETSCHKE [3]).

#### **Filmbeschreibung<sup>2</sup>**

*Proteus vulgaris*, beweglich

4 B/min

Die beiden ersten Einstellungen zeigen die normale Multiplikation durch Zweiteilung. Die einzelnen stäbchenförmigen Keime strecken sich, um sich schließlich in der Mitte zu teilen. Je nach dem verfügbaren Raum bleiben die Tochterzellen entweder in der vorherigen Position liegen, oder es kommt (insbesondere bei weiterem Längenwachstum) zu Verschiebungen der gebildeten Stäbchen gegeneinander. Gegen Ende

<sup>1</sup> Angaben zum Film und kurzgefaßter Filminhalt (deutsch, englisch, französisch) s. S. 10.

<sup>2</sup> Die *Kursiv*-Überschriften entsprechen den Zwischentiteln im Film.

des Vorganges kommt es zu einer Hemmung der Querteilung bei weitergehendem Längenwachstum. Von einer gewissen Länge der Keime an beginnen sie, sich aktiv zu bewegen und wandern rasch aus dem Gesichtsfeld ab. Es handelt sich hierbei um den Beginn des „Schwärmen“ genannten, typischen Bewegungsverhaltens von *Proteus mirabilis* und *vulgaris* auf feuchten Oberflächen. Dieser Vorgang macht es unmöglich, den Multiplikationsvorgang weiter zu verfolgen.

Bildfeldbreite 30  $\mu\text{m}$ ; Phako; Aufn.-Freq. 4 B/min

Um den Multiplikationsvorgang länger beobachten zu können, wurde ein unbeweglicher Stamm (OX 19) für weitere Untersuchungen benutzt.

### *Proteus OX 19, unbeweglich*

#### *4 B/min*

Die einzelnen Stäbchen sind deutlich länger als die des *Mirabilis*-Stammes. Unter lebhafter Querteilung entsteht eine größere Mikrokolonie von unregelmäßigem Umriß. Die einzelnen Stäbchen zeigen deutliche Innenstrukturen. Dunklere und hellere Teile wechseln ab. Die helleren Stellen enthalten die Kernstrukturen, die dunkleren sind reich an RNS.

Bildfeldbreite 30  $\mu\text{m}$ ; Phako; Aufn.-Freq. 4 B/min

Bei einigen Stäbchen links unten ist ein verzögerter Übergang zur Multiplikation zu beobachten (verlängerte Lag-Phase). Rechts oben setzt nach mehreren Teilungen eine deutliche Teilungshemmung ein.

Bildfeldbreite 30  $\mu\text{m}$ ; Phako; Aufn.-Freq. 4 B/min

#### *2 B/min*

Wegen der starken Vermehrung werden eine geringere Vergrößerung und eine stärkere Raffung (2 B/min) gewählt.

Infolge der lebhaften Multiplikation wird die Kolonie so groß, daß der Wachstumsdruck im Inneren nicht mehr ausreicht, die peripheren Stäbchen nach außen wegzudrängen. Es entsteht im Zentrum eine zweite Schicht sich vermehrender Keime.

Einige Keime zeigen eine dauernde Teilungshemmung und wachsen zu langen Fäden aus. Zwei von ihnen verfallen der Lyse (durch Bakteriophagen?).

Bildfeldbreite 50  $\mu\text{m}$ ; Phako; Aufn.-Freq. 2 B/min

Es muß noch einmal eine kleinere Vergrößerung gewählt werden. Mehrere Mikrokolonien konfluieren. Im Zentrum entsteht eine dritte Schicht von Keimen.

Bildfeldbreite 90—140  $\mu\text{m}$ ; Phako; Aufn.-Freq. 2 B/min

## Quantitative Ergebnisse

### I. Größe der Stäbchen

Berücksichtigt wurden nur Zellen, die sich noch aktiv teilten. Es zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen den beiden benutzten Stämmen:

	Mittlere Länge	Mittlere Breite
<i>Proteus mirabilis</i> 28	1,7 $\mu\text{m}$	0,6 $\mu\text{m}$
OX 19	2,8 $\mu\text{m}$	0,5 $\mu\text{m}$

### 2. Generationsdauer

Mit diesem Begriff bezeichnet man die Zeit von einer Teilung zur anderen. Diese ist bisher im allgemeinen aus der Zeit berechnet worden, die zur Bildung einer gewissen Anzahl von Keimen benötigt wurde. Hier konnte sie bei jedem Teilungsvorgang einzeln an Hand des Films gemessen werden. Zu unserem Erstaunen schwankt die Zeit von Teilung zu Teilung erheblich. Sie schwankt bei *Proteus mirabilis* 28 zwischen 19,0 und 26,8 min um ein Mittel von 22,7 min. Beim Stamm OX 19 sind die Extremwerte 25,3 und 55,8 min. Der Mittelwert ist 40,6 min.

### 3. Multiplikation und Wachstum

Wegen der geringen Größe unserer Objekte wurden bisher wachsende Keime im allgemeinen nicht direkt gezählt, sondern der Zahl der Kolonien gleichgesetzt, die nach Aussaat verschiedener Verdünnungen der zu zählenden Population in oder auf Nährböden gewachsen waren. Hierbei waren die Fehlerbreiten beim Agargußplatten-Verfahren sehr groß, beim Membranfilter-Verfahren erträglich gering (UEHLEKE und POETSCHKE [2]).

Die Betrachtung des Films macht jedoch folgendes deutlich.:

1. Die Zahl der wachsenden Kolonien ist nur ein sehr ungenauer Ausdruck für die Zahl der ausgesäten Keime.

2. Die Zahl der produzierten Stäbchen ist nur ein ungenauer Ausdruck für die globale Syntheseleistung der beobachteten Mikroorganismen, da Teilungshemmungen das Ergebnis stark verfälschen können.

Die kinematographische Dokumentation der Koloniebildung gibt die Möglichkeit, den komplexen Vorgang von Wachstum und Multiplikation nicht nur im Detail zu analysieren, sondern auch quantitativ besser zu erfassen.

Der beste Parameter für die Messung der unter den Begriffen „Wachstum“ und „Vermehrung“ gemeinten Syntheseleistung der Keime dürfte das Volumen aller entstehenden Bakterien sein. Bei einer wachsenden Mikrokolonie von Stäbchen, die alle in einer Ebene liegen, bilden die Werte von Volumen und Flächenausdehnung parallele Kurven (Abb. 1). Be-

trachtet man einfachheitshalber die Stäbchen als Zylinder, so müssen beide Werte um den Faktor  $\frac{r \cdot \pi}{2}$  differieren. Es ist daher in solchen Fällen möglich, die Flächenausdehnung einer Kolonie als quantitativen Ausdruck ihres „Wachstums“ oder besser ihrer gesamten Syntheseleistung zu benutzen.

Ob wir nun das Volumen oder die Flächenausdehnung der wachsenden Kolonien aufzeichneten, es zeigte sich dabei immer folgendes:

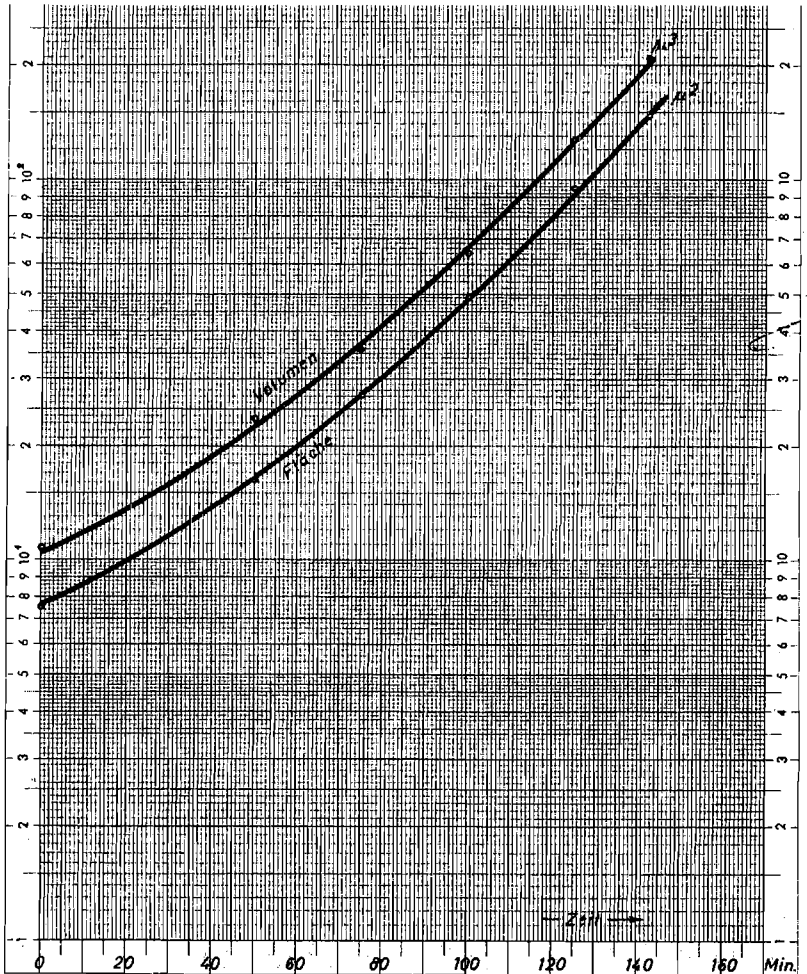


Abb. 1

Die Werte des unbeweglichen Stammes OX 19 ergaben in einem halb-logarithmischen System gerade Linien (Abb. 2 und 3), die des beweglichen Stammes *Proteus mirabilis* 28 gebogene Kurven. Bei ersterem war also die Syntheseleistung aller Keime während der ganzen Zeit immer gleich groß. Sie folgte also einer Exponentialfunktion. Beim beweglichen Stamm 28 wird die Kurve allmählich steiler. Die Syntheseleistung nimmt also mit der Zeit etwas zu. Welche Ursachen

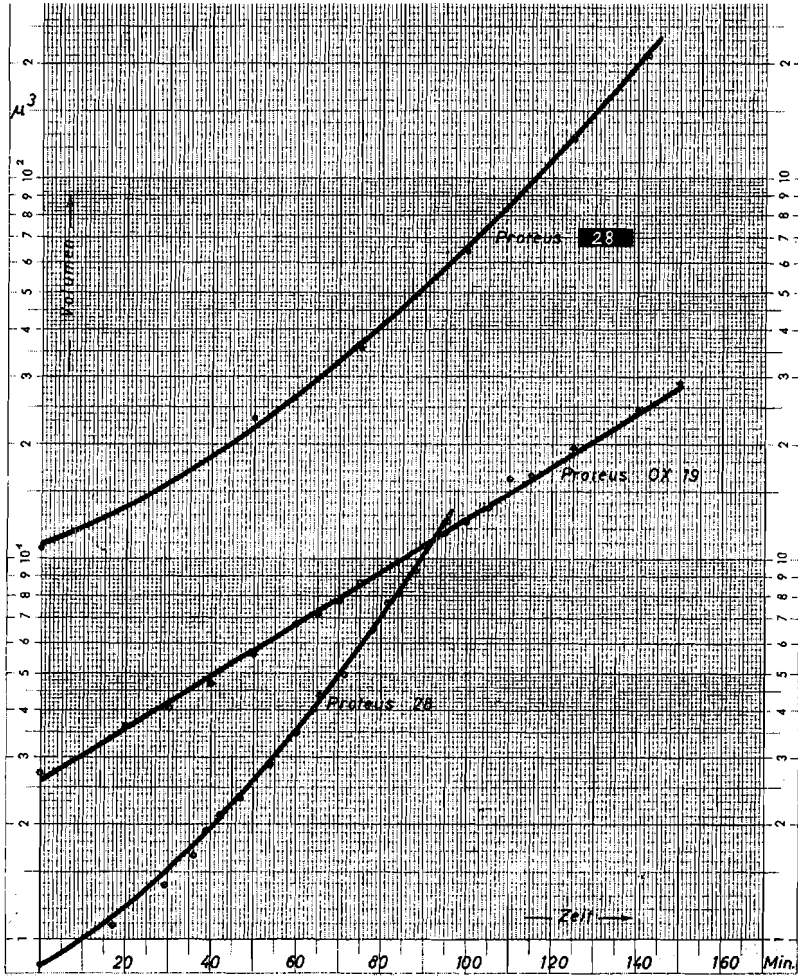
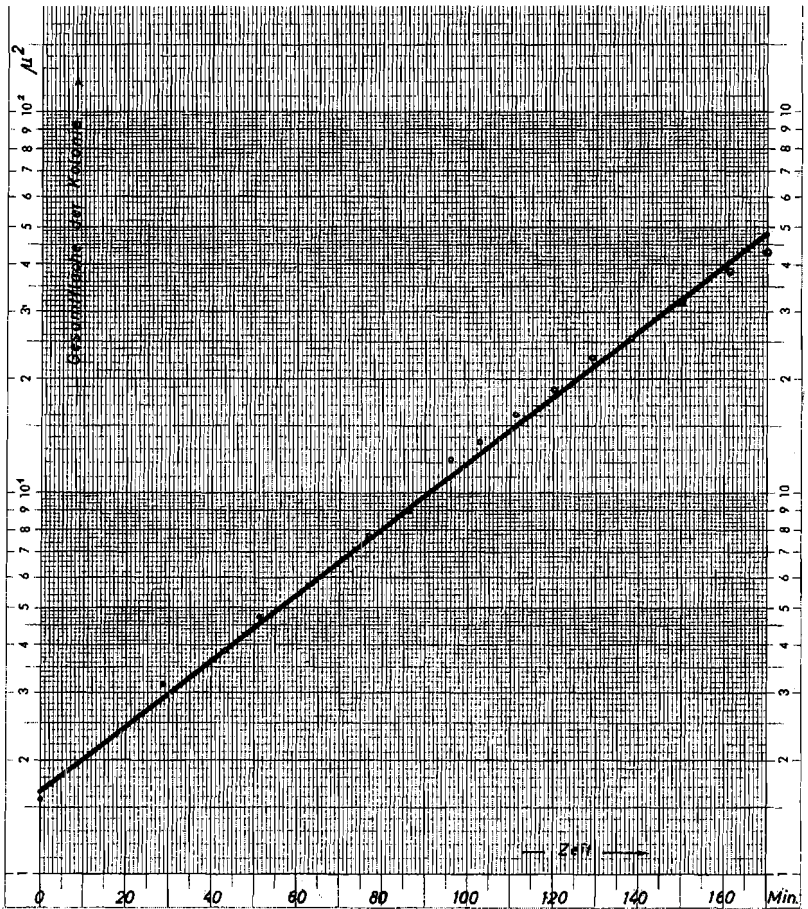


Abb. 2

dieses Verhalten bestimmen, ist uns unbekannt. Man könnte unter anderem annehmen, daß die Utilisation gewisser Nährsubstanzen erst durch die während der Multiplikation in das Nährmedium diffundierenden Enzyme verbessert wird. Man könnte ferner erwägen, ob bei beweglichen Keimen die Geißelbewegung (die auch in der Ruhe statt-



Abb, 3

findet) in der kapillaren Flüssigkeitsschicht zwischen Deckglas und Agarfläche einen besseren Stoffaustausch bewirkt, als bei unbeweglichen Keimen. Wachsende Kolonien beweglicher *Proteus*-Stämme kann man

nur bis etwa zur 150. bis 160. Minute exakt messen. Zu dieser Zeit setzt eine Teilungshemmung ein. Die Stäbchen werden länger und vermögen dann abzuwandern (beginnendes Schwärmen).

Bei dem unbeweglichen Stamm OX 19 kann die Flächenzunahme der Kolonien auch nach diesem Zeitraum verfolgt werden. Der Kurvenverlauf zeigt zwischen der 200. und 300. Minute einen Knick. Die Kurve verläuft danach wieder gradlinig, aber weniger steil. Ob die Verarmung an Nährstoffen oder die Schädigung durch angesammelte Stoffwechselprodukte oder die Erschöpfung des im Nährboden gelösten Sauerstoffs oder alles zusammen die Ursache der verlangsamten Syntheseleistung ist, entzieht sich unserer Kenntnis. Das Letztere ist das Wahrscheinlichste.

Bei noch längerer Beobachtung zeigt sich, daß die Produktion von Zellsubstanz schließlich ganz zum Erliegen kommt.

Denjenigen, der die Multiplikation von Keimen mit anderen Methoden verfolgt hat, wird bei der Betrachtung der Abb. 1—3 auffallen, wie nahe die Meßpunkte an den gezeichneten, z. T. geraden Kurven liegen. Die kinematographische Dokumentation ist die bisher genaueste Methode, um Multiplikations- bzw. Wachstumsvorgänge bei Bakterien zu messen. Bedenkt man weiter, daß diese Methodik schon bei sehr kleinen Keimzahlen diese schönen Kurven gibt, bei denen andere Methoden noch viel zu unempfindlich sind, so wird die Überlegenheit der kinematographischen Methodik besonders klar.

Bei Betrachtung von Abb. 2 fällt auf, daß beide Kurven von *Proteus mirabilis* 28 ziemlich verschiedene Steilheit zeigen. Es kann leider nur vermutet werden, warum die Syntheseleistung in einem Fall so viel schneller ist als im anderen. Eine Reihe verschiedener Parameter kann die Produktion neuer Bakterienzellen in einer solchen Mikrokultur beeinflussen. (Zusammensetzung des Nährbodens, O<sub>2</sub>-Zufuhr, zugefügtes Serum, Dichte der Aussaat u. a. m.).

Dem Mikrobiologen mag auffallen, daß die Kurven keine Lag-Phase zeigen. Dies dürfte zwei Gründe haben:

1. Die Mikrokulturen wurden mit Keimen beschickt, die bereits 2—3 Stunden vorbebrütet waren, also sich bereits in der Multiplikationsphase befanden.
2. Von der Beimpfung der Mikrokultur bis zum Beginn der Aufnahme vergingen 10—15 Minuten, in denen die Lag-Phase bereits schon abgelaufen sein konnte.

#### Danksagung

Herrn H. H. HEUNERT möchte ich auch an dieser Stelle für das große Verständnis und die unermüdliche Unterstützung bei der mühsamen und zeitraubenden Durchführung der Aufnahmen danken, deren technische Leitung in seiner Hand lag. Fräulein BRIGITTE MILTHALER hat mit großer Einfühlungsgabe die schwierige meßtechnische Auswertung durchgeführt.



Die Durchführung der Filmaufnahmen und ihre Auswertung wurden durch die großzügige Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Bad Godesberg, und des Instituts für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, ermöglicht.

### Literatur und Filmveröffentlichung

- [1] POETSCHKE, G.: Kinematographische Studien an *Proteus*. Path. Mikrobiol. **24** (1961), 1019—1034.
- [2] UEHLEKE, H., und G. POETSCHKE: Keimzählung und Ermittlung von Absterbevorgängen mit Hilfe von Membranfiltern. Eignung und Technik des Membranfilterverfahrens. Zbl. Bakt. I Orig. **168** (1957), 141—151.
- [3] POETSCHKE, G.: *Proteus* — Bewegungsverhalten. Film E 271 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1960.

---

### Angaben zum Film

Das Filmdokument wurde 1961 zur Auswertung in Forschung und Hochschulunterricht veröffentlicht. Stummfilm, 16 mm, schwarzweiß, 49 m, 4 ½ min (Vorführgeschw. 24 B/s).

Die Aufnahmen entstanden im Jahre 1959. Veröffentlichung aus der Abteilung für Mikrobiologie und Serologie der Deutschen Forschungsanstalt für Psychiatrie, München, Prof. Dr. G. POETSCHKE, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. K.-H. HÖFLING; Aufnahme: H. H. HEUNERT.

### Inhalt des Films

Die Multiplikation und Koloniebildung beweglicher Stämme von *Proteus mirabilis* und des unbeweglichen Stammes OX 19 von *Proteus vulgaris* werden bei verschiedenen Vergrößerungen und Raffungsgeschwindigkeiten gezeigt.

Die Ergebnisse der quantitativen Auswertung werden im Begleittext eingehend beschrieben.

### Summary of the Film

The multiplication and colony formation of mobile strains of *Proteus mirabilis* and of the immobile strain OX 19 of *Proteus vulgaris* are shown in various magnifications and rates of time lapse photography.

The results of quantitative evaluation are described in detail in the accompanying text.

### Résumé du Film

La multiplication et la formation de colonies de souches mobiles de *protéus mirabilis* et de la souche OX 19 immobile de *protéus vulgaris* sont démontrées à l'aide de différents agrandissements et différentes vitesses de fixation. Les résultats de l'évaluation quantitative sont décrits en détail dans le contexte.