

ZUR TAXONOMIE DER AKTINOMYCETEN

E. KÜSTER

Institut für Mikrobiologie und Landeskultur

– Mikrobiologie –

Justus-Liebig-Universität Giessen

Bundesrepublik Deutschland

Eingegangen: am 10.01.1982.

Taxonomie ist ein relativ junger Zweig der Mikrobiologie. Robert Koch und seine Schule, denen viele Neuentdeckungen an Organismen zu verdanken sind, waren in erster Linie daran interessiert, Reinkulturen mit spezifischer Leistungsfähigkeit zu gewinnen. Mit steigender Zahl von untersuchten Bakterien erschien es angebracht, diesen einen Namen zu geben und sie in einer bestimmten Weise zu ordnen. Die Voraussetzung dafür waren eine Beschreibung und Charakterisierung der Stämme, so genau wie es unter den damaligen Zeitumständen möglich war. Viele Teilgebiete in den Naturwissenschaften sind rein akademischer Art, oder sie haben ihren Ursprung in theoretischer Grundlagenforschung. Das trifft für Taxonomie nicht zu. Dieser Zweig entstand aus pragmatischen Gründen, um eine allgemeine und bessere Verständigung zu erreichen, was Mikroorganismen sind. Das ist eine allgemein bekannte Tatsache, und es sollte überflüssig sein, sie besonders zu erwähnen. Einige Leute vergessen jedoch diese Grundsätze, verschlechtern die augenblickliche Situation auf diesem Sektor und machen sie komplizierter, als sie ohnehin ist.

In Taxonomie werden alle Daten und Ergebnisse aus morphologischen Beobachtungen und physiologischen Experimenten zusammengefaßt und verwertet. Taxonomie ist somit der letzte Schritt einer wissenschaftlichen Untersuchung von Mikroorganismen, mehr oder weniger abhängig von den anderen Teilgebieten. Taxonomie wird nach Cowan (1965b) definiert als Identifizierung, Klassifizierung und Benennung.

Identifizierung ist die Technik – oder vielleicht besser die Kunst, einen Organismus in ein System einzugliedern.

Klassifizierung ist die Wissenschaft, ein System von Klassen für Organismen aufzustellen.

Benennung ist die Pflicht, sich stets der Regeln für eine Namensgebung zu erinnern.

Die logische Reihenfolge dieser drei Begriffe hängt weitestgehend von der persönlichen Ansicht des Taxonomen ab. Eine möglichst ausführ-

liche und genaue Beschreibung eines Organismus ist absolut notwendig für eine Identifizierung und Klassifizierung. Alle Beobachtungen und Erkenntnisse an morphologischen, physiologischen und ökologischen Eigenschaften sind mit einzubeziehen.

Taxonomie bedeutet eine geregelte Anwendung der Taxa. Unter einem Taxon versteht man eine Einheit oder eine Gruppe von Einheiten mit gewissen Ähnlichkeiten. Eine genaue Auslegung und Bestimmung eines bestimmten Taxons ist nicht immer gegeben. Stämme mit gleichen Eigenschaften werden in einem Taxon zusammengefaßt. Hier erhebt sich bereits die Frage, welche Eigenschaften wichtig sind für das Taxon „Gattung“ und welche für das Taxon „Art“. Die ungleiche Behandlung dieser Frage gibt oft Anlaß zu Abweichungen und Verwirrung.

Ein Mikroorganismus soll durch eine bestimmte Anzahl von stabilen Merkmalen identifiziert werden. Ein Merkmal, das für taxonomische Zwecke verwendet werden soll, muß sich durch Konstanz und Stabilität auszeichnen. Wenn ein Merkmal einigermaßen konstant ist, kann es von Wert sein für eine Klassifizierung. Wenn ein Merkmal variiert, aber so, daß die Variation selbst noch charakteristisch ist, kann es noch einen gewissen Klassifizierungswert besitzen. Wenn ein Merkmal aber in einer unvorhersehbaren Weise variiert, kommt es für eine Klassifizierung bzw. Identifizierung nicht in Frage.

Eine andere Frage ist, inwieweit alle Merkmale den gleichen Aussagewert besitzen. Das Adanson-Prinzip fordert eine Gleichgewichtigkeit für jedes Merkmal. Diese Grundregel wird jetzt in der sog. numerischen Taxonomie mit Erfolg angewandt. Numerische Taxonomie bedeutet eine zahlenmäßige Auswertung der Annäherung oder Ähnlichkeit von taxonomischen Einheiten und das Einordnen dieser Einheiten in Taxa auf Grund ihrer Ähnlichkeiten. Andere Taxonomen plädieren für eine unterschiedliche Einstufung der Charakterisierungsmerkmale (K a u f f m a n n 1963). Es gilt als ein allgemeiner taxonomischer Grundsatz, daß die Merkmale die gleiche Bedeutung haben bei einer Klassifizierung, eine ungleiche aber bei der Identifizierung.

Der Name einer Art ist ursprünglich einem Beispiel, einem Stamm gegeben, der einer Gattung dagegen gehört einem Taxon d.h. einer Gruppe von Stämmen bzw. Arten (C o w a n 1971). Kürzlich wurde vorgeschlagen (C o w a n 1965a, C r o s s / M e I v e r 1966), die klassische binominale Nomenklatur durch ein Code-System zu ersetzen (Tab. I).

Der Vorteil eines solchen Vorschlages liegt darin, daß jedermann, der mit der besonderen Organismengruppe vertraut ist, die physiologischen Eigenschaften einer Art und deren Stellung in einem Bestimmungsschlüssel unmittelbar erkennen kann. Bis zur endgültigen Einführung dieses Gedankens mag es vorteilhaft sein, die Code-Nummer zusätzlich zu dem lateinischen Namen zu benutzen. Bei Salmonellen z.B. ist dieser Gedanke schon verwirklicht. Jede neue Art bekommt ihren Namen auf die gebräuchliche Weise, die physiologischen und serologischen Eigenschaften werden als Code-Nummern angehängt. In ähnlicher Weise schlug auch T e s i c

Table I.

Key to description of streptomycetes
(Cross, T. and A. M. McIVER, 1966)

| Character | Code |
|--------------------------------|------|
| (1) Melanin positive | M1 |
| negative | M2 |
| (2) Spore surface smooth | S1 |
| spines | S2 |
| hairs | S3 |
| warts | S4 |
| (3) Aerial mycelium morphology | |
| Rectus | A1 |
| Flexibilis | A2 |
| Retinaculum Apertum | A3 |
| Spira | A4 |
| Monoverticillus | A5 |
| Monoverticillus Spira | A6 |
| Biverticillus | A7 |
| Biverticillus Spira | A8 |
| (4) Colour of aerial mycelium | |
| niveus | C1 |
| griseus | C2 |
| azureus | C3 |
| cinnamomeus | C4 |
| cinereus | C5 |
| parasinus | C6 |
| (5) Substrate mycelium colour | |
| buff | G1 |
| buff + yellow | G2 |
| buff + red | G3 |
| buff + blue | G4 |
| buff + green | G5 |
| (6) Carbon utilization | |
| arabinose | U1 |
| fructose | U2 |
| inositol | U3 |
| mannitol | U4 |
| raffinose | U5 |
| rhamnose | U6 |
| sucrose | U7 |
| xylose | U8 |

(1965/66) eine Namensgebung der Arten vor, wobei die charakteristischen Merkmale der Art, wie Farbe und dgl., zum Ausdruck kommen sollen.

Daraus ergibt sich eine weitere Frage: Was ist eine Gattung bzw. Art, wie werden diese Taxa bestimmt und welche Merkmale sind brauchbar und notwendig für eine Klassifizierung von Gattungen und Arten? Eine allgemeingültige Antwort kann nicht gegeben werden, sie hängt ab von dem jeweiligen Organismtyp. Man muß von Anfang an klar unterscheiden, ob

man diese Taxa als natürliche oder künstliche Organismengruppen ansieht. Die erste Auffassung ist für Mikroorganismen nicht anwendbar wegen des Fehlens fossiler Funde. Ohne diese können keine phylogenetischen Schlüsse gezogen werden. Alle Feststellungen über phylogenetische Beziehungen sind bis jetzt Hypothesen und Spekulationen, selbst wenn sie einigermaßen logisch und folgerichtig klingen, solange wir nicht mit Sicherheit wissen, wie die Evolution abgelaufen ist. Einige Forscher behaupten, daß sich aus den morphologisch und physiologisch einfachen Formen höher differenzierte Organismen entwickelt haben. Der umgekehrte Weg der Evolution, d.h. eine Degenerierung und Verlust von spezifischen Eigenschaften, ist theoretisch ebenso gut möglich. Bis zur Klärung dieser grundsätzlichen Frage sollten wir uns darauf beschränken, die Taxa als technische Ausdrücke, sozusagen als Hilfsmittel für unsere praktischen Arbeiten zu benutzen.

Wie jeder Zweig einer Wissenschaft ist auch die Taxonomie einer ständigen Veränderung, die zu einer Verbesserung und Vervollkommnung führt, ausgesetzt. Die Taxonomie von Mikroorganismen dient, meiner Meinung nach, nicht einem Selbstzweck, sondern kann nur als ein Handwerkszeug betrachtet werden, das uns erlaubt, einen Organismus auf Grund seiner Beschreibung in ein großes System einzuordnen. Ob und wie weit dieses unser System ein natürliches ist oder jemals werden kann, ist noch sehr in Frage gestellt. Immerhin wird durch die Namensgebung und die taxonomische Position ein Organismus charakterisiert, was dem allgemeinen Verständnis dient. Eine ausführliche Beschreibung eines Stammes führt zu einer Sortierung und Gruppierung von Organismen mit gleichen Eigenschaften. Das klingt so einfach, wenn man es niederschreibt; in Wirklichkeit ist die Durchführung dieses Satzes wesentlich schwieriger. Eine Art sollte definiert sein durch einige Merkmale. Stämme einer Art sollten ein gewisses Maß an Gemeinsamkeit zeigen.

Wir Taxonomen sollten uns bewußt sein, daß eine Klassifizierung, und sei sie noch so sehr ausgearbeitet, stets ein Kunstprodukt ist. Natur berücksichtigt nicht die scharf abgegrenzten Taxa, sondern schafft eine Reihe von Grenz- oder Übergangsfällen, die ein stetes Ärgernis für die Taxonomen darstellen. In der Natur kommen alle Arten von Organismen vor, von denen eine ganze Reihe nicht in unser systematisches Schema passen. Diese werden Übergangsformen genannt, also Zwischenstufen zwischen den einzelnen Taxa, Gattungen bzw. Arten. Mit diesen Grenzfällen werden wir mit einem weiteren Problem konfrontiert: Gibt es festgelegte Abgrenzungen zwischen den Arten? Wie sollen Stämme eingeordnet werden, die Merkmale von zwei Arten aufweisen? Es ist außerordentlich schwierig, diese Fragen zu behandeln und eine befriedigende Antwort zu geben, die weitgehend von der persönlichen Ansicht des Bearbeiters abhängt. Um jedoch ein besseres und allgemeines Verstehen zu erzielen, müssen wir versuchen, ein Übereinkommen zu erreichen und einen Bestimmungsschlüssel aufzustellen, der allgemein akzeptiert wird, selbst wenn er künstlich und durch stets neue Ergebnisse einer dauernden Änderung und Ergänzung ausgesetzt ist.

Das häufige Auftreten von zweifelhaften Grenzfällen ist auf die große und bei Mikroorganismen weitverbreitete Variabilität zurückzuführen. Variabilität macht sich bemerkbar als Variation und auch als Mutation mit der Bildung von stabilen Mutanten. Ausgedehnte Untersuchungen sind durchgeführt worden, um unter Laborbedingungen Mutanten nach Anwendung von chemischen und physikalischen mutagenen Agentien hervorzurufen. Auf diese Weise war es möglich, neue Typen zu erzeugen aus einem wohldefinierten Ausgangsstamm, von dem sich die Mutante deutlich in Erscheinung und Eigenschaften unterscheidet. Taxonomisch wird diese Mutante der gleichen Art zugeordnet und als Varietät bezeichnet. Einer Mutante sollte kein spezifischer Rang gegeben werden. Manchmal wird ein derartiger spezifischer Rang Stämmen gegeben, die natürlich auftretende Mutanten darstellen, die sich in nur einem Punkt von dem allgemeinen Typ unterscheiden. Ein neuer Typ mag aus seinem natürlichen Standort isoliert werden mit seinem eigenen Satz an typischen Merkmalen. Dieser Stamm wird als neue Art bezeichnet, selbst wenn er einer künstlich induzierten Mutante oder Variante einer bekannten Art entspricht. Das bestätigt, daß mutagene Agentien auch in Natur vorhanden und wirksam sind. Metabiotische Organismen und ihre Stoffwechselprodukte mögen eine derartige Variation hervorrufen, selbst wenn ihr Effekt nur auf eine sehr kleine Zone beschränkt ist. Das erklärt die Erscheinung einer so großen Variabilität bei Organismen in der Natur. Die Bildung künstlich induzierter Varianten, die sich von dem Ausgangsstamm unterscheiden, aber einer anderen Art ähnlich sind, ruft beträchtlichen Ärger hervor besonders bei industriell genutzten Stämmen und führt oft zu Patentstreitigkeiten.

Es gibt zwei Gruppen von Taxonomen, die „Lumper“ und die „Splitter“. Die Lumper benutzen nur sehr wenig Merkmale, sie fassen in einer Art mehrere Typen zusammen, die von den Splittern als verschiedene Arten bezeichnet werden. Im Grunde genommen ist die eine Meinung so falsch oder richtig wie die andere; die persönliche Einstellung steht hier im Vordergrund und läßt den Autor als Lumper oder Splitter erscheinen. Das führt letzten Endes zu einer Verwirrung bei der Schaffung neuer Taxa. Für ein allgemeines Verstehen aber muß man sich auf einen Kompromiß, eine einheitliche Definition des Artbegriffs einigen, d.h. die Merkmale festlegen, die zur Aufstellung bzw. zur Abtrennung von Arten für erforderlich angesehen werden. Die Einführung und der Gebrauch neuer Bezeichnungen, wie „Gruppe“, „Serien“ oder „Art-Gruppe“, ist eine Möglichkeit diese Schwierigkeiten bei der taxonomischen Arbeit zu überwinden. In mancher Beziehung stellen sie befriedigende Hilfsmittel dar, die aber das erwähnte Problem nicht grundsätzlich lösen können.

Bei der laufenden Durchsicht der neuesten Veröffentlichungen in Bakterien-Taxonomie und -Systematik kann eine zunehmende Neuschöpfung von Gattungen festgestellt werden. Diese allgemeine Entwicklung trifft besonders für die Ordnung *Actinomycetales* zu. Das ist weniger zurückzuführen auf eine Bevölkerungsexplosion innerhalb der Aktinomyceten als vielmehr innerhalb der Aktinomycetologen, wie es das Ehepaar *Lechevalier* (1967) ausdrückt. Sehr oft handelt es sich bei der neuen

Gattung um eine Abtrennung von Stämmen aus einer bereits bestehenden Gattung.

In den letzten Jahren wurde eine Reihe von neuen Typen von Aktinomycceten entdeckt, und viele Ansätze wurden gemacht, diese auf Grund neuer Beobachtungen und Ergebnisse zu klassifizieren und in einen Bestimmungsschlüssel einzubauen. Jeder Taxonom, der auf diesem Gebiet arbeitet hat seine eigene Auffassung über das klarste und logischste Verfahren. Grundsätzlich sollte die Einführung einer neuen Gattung auf morphologischen Kriterien beruhen. Die morphologische Unterschiedlichkeit der Aktinomycceten-Gattungen wurde immer benutzt bei der Bestimmung der Taxa im Rang der Familie und Gattung (Cross/Goodfellow 1973). Die höchsten Bakterien-Kategorien gründen sich gewöhnlich auf morphologische Kennzeichen (Tab. II.)

Table II.

Criteria used for higher taxa of Actinomycetales

| <i>Family</i> | <i>Genus</i> |
|--------------------------------------|--|
| Fragmentation of vegetative mycelium | Formation of aerial mycelium |
| Length of spore chains | Number and position of spores |
| Formation of sporangia | Verticillate sporophores |
| Acid-fastness | Motility of spores (<i>Streptomyccetaceae</i>) Form and size of sporangia Motility of sporangiospores (<i>Actinoplanaceae</i>) Cell wall types and sugar patterns Aerobe - anaerobe; catalase |

Morphologische Kennzeichen gelten als stabile Kriterien und erfüllen alle Anforderungen für Klassifizierungszwecke, selbst wenn auch Grenzfälle auftreten wie überall in der Natur, die eine klare Einteilung in Gattungen erschweren. Die Morphologie allein reicht nicht immer aus bei den Aktinomycceten und sollte ergänzt werden durch chemische Kriterien wie Zellwandzusammensetzung und Gesamtzellanalyse (Lechevalier/Lechevalier 1967). Daneben wurde kürzlich die Gaschromatographie, besonders das Fettsäurespektrum der Zell-Lipide, als ein wertvoller Test bei der Charakterisierung von Gattungen angewandt, die keine deutlichen morphologischen Unterschiede aufweisen (Okami et al. 1970, Kroppenstedt et al. 1974, Kroppenstedt / Kutzner 1976.) Folgende Gattungen sind in der letzten, 8. Auflage des Bergey (1974) aufgeführt (Tab. III).

Table III.

Families and genera of the Actinomycetales
(acc. to Bergey 1974)

| | |
|---|---|
| <i>Mycobacteriaceae</i> Mycobacterium | <i>Actinoplanaceae</i> Actinoplanes Ampullariella Spirillospora Streptosporangium Amorphosporangium Pilimelia Dactylosporangium Intrasporangium Planomonospora Planobispora |
| <i>Actinomycetaceae</i> Actinomyces Rothia | |
| <i>Dermatophilaceae</i> Dermatophilus Geodermatophilus | |
| <i>Nocardiaceae</i> Nocardia Pseudonocardia | <i>Frankiaceae</i> Frankia |
| <i>Streptomycetaceae</i> Streptomyces Streptoverticillium | |
| <i>Micromonosporaceae</i> Micromonospora Thermoactinomyces Actinobifida Thermomonospora Microbispora Micropolyspora | |

Auch Thirumalachar (1968) kommt zu der Feststellung „that taxonomy of actinomycetes should be based on morphological and cultural characters, and the aids of biochemical characters are supplementary characters helping us towards a better understanding of the morphological differences used in separating genera“.

In jeder Gattung werden andere Merkmale für eine Bestimmung der Arten benutzt (Tab. IV.) Das bedeutet, daß gewisse Merkmale für die Bestimmung einer taxonomischen Kategorie benötigt werden, andere für höhere oder niedrigere Kategorien (Cowan 1970).

Jeder neu isolierte Stamm, der bisher unbekannte und spezifische Eigenschaften aufweist, muß beschrieben werden, um ihn zu klassifizieren und zu benennen. Zwei Forderungen müssen dazu erfüllt werden:

1. Auswahl und Anwendung von Testmethoden, die eine schnelle und allgemeine Gruppierung erlauben und leicht durchgeführt werden können.
2. Standardisierung der Testmethoden und Festlegung der Ausdrucksweise bei der Beschreibung der Beobachtungen.

Beide Punkte werden nicht genügend beachtet. Das führte in den letzten Jahren zu einem enormen Anstieg an neuen Strept.-Arten. Einige Ansätze wurden kürzlich unternommen, um diese verwirrende Situation im Hinblick auf Beschreibung, Klassifizierung und Namensgebung bei den Streptomyceten zu verbessern. Standardisierte Untersuchungsmethoden wurden in internationalen Gemeinschaftsversuchen angewandt, wobei der gleiche Stamm in verschiedenen Laboratorien gleichzeitig untersucht wurde (K ü s t e r 1959b, Shirling/Gottlieb 1966.) Auf diese Weise wurden mehr als 420 Arten von Streptomyces und Streptovorticillium im International Streptomyces Project (ISP) gleichmäßig untersucht und beschrieben (Shirling/Gottlieb 1968a,b, 1969, 1972). Die folgenden Merkmale wurden ausgewählt und werden allgemein benutzt für die erste Aufteilung in größere taxonomische Einheiten, Serien, Gruppen oder dgl. (Tab. V).

Table V.

Main characters for classification of Streptomycetes

Morphology of spore-bearing hyphae
Morphology of spore surface
Colour of vegetative and aerial mycelium
Chromogenicity (melanin production)
Utilization of carbohydrates

Eine Rangfolge von Merkmalen, die in der Taxonomie angewandt wird, ist ein allgemein bekannter Grundsatz. Vor vielen Jahren, 1958, habe ich die wichtigsten Merkmale und deren Reihenfolge in einem Bestimmungsschlüssel für Strept.-Arten zusammengestellt (K ü s t e r 1959a). Die Farbe und die Morphologie des Luftmyzels sind die Merkmale, die am häufigsten an erster Stelle stehen. Die Frage einer Rangordnung von Merkmalen, um die Arten gruppenweise zusammenzufassen, ist nicht wichtig; das Endresultat sollte immer das gleiche sein. Jeder Taxonom stellt sich sein eigenes Ordnungssystem auf. Gewöhnlich sollte das sicherste Merkmal an erster Stelle stehen (Tab. VI).

Table VI.

Order of characters used in grouping Streptomycetes

(G O T T L I E B / S H I R L I N G 1968)

(K Ü S T E R 1967)

| | | | | |
|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Sporophore | Colour | Spore surface | Sporophore | Colour |
| Spore surface | Sporophore | Sporophore | Colour | Melanin |
| Colour | Spore surface | Colour | Melanin | Sporophore |
| Melanin | Melanin | Melanin | Spore surface | Spore surface |

Aus technischen Gründen ziehen wir unsere Reihenfolge vor (K ü s t e r 1967, 1972). Eine Untersuchung der ersten drei Kriterien ist nicht arbeitsaufwendig, nur zwei Nährböden werden benötigt. In manchen Fällen genügen schon die ersten drei Merkmale für eine Art-Bestimmung.

Die Morphologie der sporentragenden Lufthyphen ist ein zuverlässiges und für jede Art charakteristisches Merkmal (Pridham et. al. 1958, Shinobu 1958). Die Sporenträger sind gerade, gewunden oder spiralig; die Spiralen sind nur angedeutet, offen oder mehr oder weniger kompakt. Manchmal werden in einer Kultur verschiedene Formen und Strukturen beobachtet. Wenn neben gewundenen Formen auch Spiralen auftreten, wird diese Kultur als spiralig bezeichnet in der Annahme, daß die spiraligen Formen die höher entwickelten darstellen. Die Beobachtung der Sporenträger läßt sich leicht mit dem Lichtmikroskop ohne besondere Vorbereitung durchführen.

Genauere Kenntnis über die Morphologie und Feinstruktur der Einzelspore wird in elektronenmikroskopischen Untersuchungen erhalten (Flaig et. al. 1955). Mit dieser Methode ließ sich feststellen, daß die Sporenoberfläche nicht so einheitlich und uncharakteristisch ist, wie man bisher annahm. Die Sporen zeigen eine glatte oder rauhe Oberfläche, die letzteren mit stacheligen oder haarigen Auswüchsen. Die Mehrzahl der Sporen ist glatt. Das Auftreten von stacheligen oder haarigen Sporen ist manchmal typisch für besondere Serien und wird deshalb als ein brauchbares taxonomisches Merkmal empfohlen (Preobraschenskaja et. al. 1959, Tresner et. al. 1961, Dietz/Mathews 1971). Dieses morphologische Merkmal ist sehr stabil und ändert sich auch nicht bei unterschiedlichen Kulturbedingungen (Lechevalier/Tikhonenko 1960).

Die oft sehr deutlich gefärbten Strept.-Kolonien haben schon seit jeher die Aufmerksamkeit der Mikrobiologen auf sich gezogen. Luft und auch vegetatives Myzel können die verschiedensten Farben aufweisen. Gewöhnlich ist die Farbe des Luftmyzels auffälliger als die des vegetativen Myzels, da dieses meist von Luftmyzel bedeckt ist. Dann wird die Farbe der Myzelunterseite beobachtet und notiert. Die Färbung ist so deutlich und charakteristisch, daß sie für die Aufteilung der Arten in Farbgruppen, Serien oder dgl. herangezogen wird (Baldacci et. al. 1954, Kutzner 1956, Gause et. al. 1957, Pridham et. al. 1958). Eine Bestimmung und Beschreibung der Farbe, besonders von verschiedenen Farbtönen, die in einer Kultur auftreten, ist oft schwierig und verwirrend. Es bestehen viele Farbbezeichnungen, die mit verschiedenen Ausdrücken das gleiche meinen. Das persönliche Farbempfinden des Beobachters ist sehr verschieden, manchmal schon bei einer Person von Tag zu Tag. Sie mag die gleiche Kultur, besonders wenn sie schwer definierbare Zwischenfarben zeigt, unterschiedlich beurteilen, an einem Tag weiß, am nächsten grau. Auch die Art der Beleuchtung ist für eine Farbbestimmung wichtig: Tageslicht, Sonnenlicht oder Kunstlicht. Im Verlauf der Beobachtungen, besonders bei großem Versuchsmaterial, kann es sowohl zu einer Augenermüdung wie auch zu einer Gewöhnung kommen; beides macht sich bei der Farbbestimmung bemerkbar. Die Unterschiede in der Farbbeschreibung sind mindestens so groß wie die der Farbe selbst. Ein Vergleich mit Standardfarbtafeln mit Code-Nummern (Prauser 1964) oder mit Namen (Ettlinger et. al. 1958) erleichtert die

Farbbestimmung, schließt aber die subjektive Beurteilung nicht aus. Zur Zeit haben sich die sog. „Colour Wheels“ von *Tresner/Backus* (1963) am besten bewährt, sie werden von den meisten Strept.-Taxonomen benutzt (*Pridham* 1965).

Die Fähigkeit, organische peptonhaltige Nährböden braun zu verfärben, ist unter Streptomyceten weit verbreitet und wurde schon in den ersten Bestimmungsschlüsseln als ein wichtiges Merkmal aufgeführt (*Krain-sky* 1914, *Waksman* 1919). Diese Chromogenität beruht auf der Melanin-Reaktion d. h. auf der Gegenwart und Aktivität von Phenolase. Herkunft und Aminosäurezusammensetzung der verschiedenen Peptone sind für den Melanin-Test von Bedeutung. Der Pepton-Iron-Agar von Difco wird heute allgemein für den Melanin-Test empfohlen und angewandt. Dieses Medium wurde ursprünglich für den H₂S-Test eingeführt. Später zeigte sich, daß die Schwärzung dieses Agars nicht auf die H₂S-Bildung, sondern auf das gebildete Melanin zurückzuführen ist (*Turri/Silvestri* 1958, *Prauser/Meyer* 1960). Die Melanin-Reaktion ist eine der wenigen physiologischen Eigenschaften, die eine eindeutige Beurteilung in + und - erlaubt und so konstant ist, daß sie für taxonomische Zwecke brauchbar ist. Bei der Durchsicht der ISP-Stämme zeigte sich daß bei gewissen Farbserien eine enge Beziehung zu einer vorherrschenden Melanin-Reaktion besteht (Tab. VII).

Table VII

Melanin reaction of *Streptomyces* species (ISP)

| Series | Melanin- | | | | Total No. of species |
|--------------|----------|------|----------|------|----------------------|
| | positive | i. % | negative | i. % | |
| White | 8 | 19 | 34 | 81 | 42 |
| Yellow | 10 | 13 | 64 | 87 | 74 |
| Gray | 52 | 33 | 97 | 67 | 149 |
| Red | 38 | 50 | 38 | 50 | 76 |
| Green | 3 | 21 | 11 | 79 | 14 |
| Blue | 20 | 95 | 1 | 5 | 21 |
| No AM | 6 | 22 | 21 | 78 | 27 |
| Total | 137 | | 266 | | 403 |

Die unterschiedliche Verwertung von Kohlenhydraten durch Streptomyceten wurde eingehend untersucht (*Pridham/Gottlieb* 1948, *Benedict et. al.* 1955). 10 Zucker wurden ausgewählt, die von Streptomyceten unterschiedlich verwertet werden. Die Kohlenhydrat-Verwertung stellt somit einen weiteren taxonomischen Test dar. Im Hinblick auf diesen Test stellen *Gottlieb/Shirling.* (1968) die Frage, wie groß die Unterschiede in der Verwertbarkeit sein müssen, um die Abtrennung einer Art von einer anderen zu rechtfertigen. Nach ihrer Meinung sollte eine Art sich in dem Abbau von mindestens zwei Verbindungen unterscheiden. Das sollte man beim Studium von neuen, unbeschriebenen Streptomyceten und bei einer Neueinführung von Arten bedenken.

Physiologische Aktivitäten sind bei Streptomyceten zu zahlreich und meist zu variabel, um sie uneingeschränkt für taxonomische Zwecke einsetzen zu können; dazu gehören z.B. Nitratreduktion, die Geschwindigkeit der Koagulierung und Peptonisierung von Milch, Gelatineverflüssigung, Verfärbung des Substrates u. a. (Waksman 1958). Trotzdem wurde erst kürzlich wieder die Antibiotika-Bildung als ein Merkmal mit potentiell diagnostischem Wert angesehen. Diese Eigenschaft ist bei manchen Organismen ausgesprochen charakteristisch für eine bestimmte Art. Das trifft jedoch nicht allgemein zu, da die Antibiotika-Bildung sowohl qualitativ wie auch quantitativ von zu vielen Außenfaktoren abhängt. Als taxonomisches Merkmal ist diese Eigenschaft nur zweitrangig. Es kommt weniger für eine Artbestimmung in Frage als für die einer Varietät (Waksman 1958, Rehaeck 1970).

Einige biochemische Tests haben einen gewissen taxonomischen Wert, meist vervollständigen sie aber nur eine Beschreibung. Dazu gehören NaCl-Toleranz (Tresner et. al. 1968), Hydrolyse von Harnsäure (Ziegler/Kutzner 1973), Verwertung von organischen Säuren (Nitsch/Kutzner 1969, Robbel/Kutzner 1973) u. a.

Neue Methoden und Techniken wurden in den letzten Jahren entwickelt, um die Klassifizierung von Aktinomyceten zu erleichtern. Gute Ergebnisse ließen sich mit ihnen erzielen bei der Diagnose und Charakterisierung von Aktinomyceten-Gattungen, besonders von unklaren Grenzfällen wie z.B. *Nocardia*. Einige dieser Methoden ließen sich auch auf Strept.-Arten anwenden.

Die Anwendung von Aktinophagen für taxonomische Zwecke hängt von deren Wirtsspezifität ab. Die meisten Phagen sind polyvalent, d. h. sie befallen Stämme verschiedener Arten. Nur wenige Ergebnisse liegen vor über monovalente Phagen, die nur eine Art oder wenige Arten der gleichen Gruppe oder Serie befallen. Fast alle beschriebenen monovalenten Phagen stammen aus lysogenen Kulturen von Stämmen, die vorwiegend in der Gärungsindustrie (Antibiotika) benutzt werden. Nach Bradley et. al. (1961) bewährt sich die Phagenspezifität für eine Identifizierung, aber nicht für eine Klassifizierung von Streptomyceten. Man darf hier wie auch bei anderen Bakterien die Begriffe „Art“ und „Phagotype“ nicht miteinander verwechseln (Welsh et. al. 1963).

Zusammenfassend sei nochmals betont, wie wichtig, ja sogar notwendig eine genaue Beschreibung und Klassifizierung der Streptomyceten ist. Folgende Gesichtspunkte sollten bei der Identifizierung, Bestimmung und auch bei der Namensgebung von Streptomyceten streng beachtet werden (Tab. VIII).

Table VIII.

Postulates for identification and classification

1. Use of standard methods
2. Record of observations in a way universally understood
3. Establishment of a simple key for classification
4. Availability of type cultures

Alle diese Tatsachen und Beispiele, die ich erwähnt habe, sind nicht neu, mindestens nicht den Taxonomen. Ich wollte nur an diese taxonomischen Grundregeln erinnern, sie nicht zu vergessen bei der Schaffung von neuen Taxa. Lassen Sie mich meine Ausführungen abschließen mit einem Zitat von Lessel (1970): „The species concept is man-made, and the limits of species are constantly in a state of flux due not only to evolutionary process but also to the many differences in human opinion“.

LITERATUR

- Baldacci, E.-C. Spalla-A. Grein: 1954. The classification of the Actinomyces species (=Streptomycetes). Arch. Microbiol. **20**: 347-357.
- Benedict, R. G.-T. G. Pridham-L. A. Lindenfelser-H. H. Hall-R. W. Jackson 1955. Further studies in the evaluation of carbohydrate utilization tests as aids in the differentiation of Streptomycetes. Appl. Microbiol. **3**: 1-6.
- Bradley, S. G. - D. L. Anderson-L. A. Jones 1961. Phylogeny of Actinomyces as revealed by susceptibility to actinophage. Dev. Ind. Microbiol. **2**: 223-237.
- Cowan, S. T. 1965a. Development of coding schemes for microbial taxonomy. Adv. Appl. Microbiol. **7**: 139-167.
- Cowan, S. T. 1965b. Principles and practice of bacterial taxonomy. J. Gen. Microbiol. **39**: 143-153.
- Cowan, S. T. 1970. Are some characters more equal than others? Int. J. System. Bact. **20**: 541-550.
- Cowan, S. T. 1971. Sense and nonsense in bacterial taxonomy. J. Gen. Microbiol. **67**: 1-8.
- Cross, T.-A. M. McIver 1966. An alternative approach to the identification of Streptomyces species: a working system. - in "Identification methods for microbiologists" ed. by B. M. Gibbs & F. A. Skinner. London (Academ. Press) p. 103-110.
- Cross, T.-M. Goodfellow 1973. Taxonomy and classification of the Actinocyetes. - in "Actinomycetales" ed. by G. Sykes-F. A. Skinner. London (Academ. Press) p. 11-112.
- Dietz, A.-J. Mathews 1971. Classification of Streptomyces spore surface into five groups. Appl. Microbiol. **21**: 527-533.
- Ettlinger, L.-R. Corbazz-R. Hütter 1958. Zur Systematik der Aktinomycceten. IV. Eine Arzteilung der Gattung *Streptomyces*. Arch. Mikrobiol. **31**: 326-358.
- Flaig, W.-E. Küster-H. Beutelspacher 1955. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Sporen verschiedener Streptomyceten. Zbl. Bakt. II **108**: 376-382.
- Gause, G. F.-T. P. Preobraschenskaja-E. S. Kudrina-N. O. Blinov L. D. Riabova-M. A. Sveschnikova: 1957 Problems pertaining to the classification of *Actinomyccetes* antagonists. Moscow.
- Gottlieb, D.-E. B. Shirling 1970 An analysis of species groups among *Streptomyces*. - in "The Actinomycetales" Internat. Sympos. Jena 1968, ed. by H. Prauser. Jena (Fischer) p. 67-77.
- Kauffmann, F. 1963. On the species definition. Int. Bull. Bact. Nomencl. Taxon. **13**: 181-186.
- Krainsky, A. 1914. Die Aktinomycceten und ihre Bedeutung in der Natur. Zbl. Bakt. II **41**: 649-691.
- Kroppenstedt, R. M.-H. J. Kutzner-W. Katz 1974. Biochemical differentiation of some *Actinomycetales*. XI. Conf. Taxonomy Bacteria Brno Abstr. No. 24.
- Kroppenstedt, R. M. - H. J. Kutzner 1976. Biochemical markers in the taxonomy of the *Actinomycetales*. Experientia **32**: 318.
- Küster, E. 1959a. Introductory remarks to the Round Table Conference on *Streptomyccetes*, Stockholm 1958. Int. Bull. Bact. Nomencl. Taxon. **9**: 57-61.
- Küster, E. 1959b. Outline of a comparative study of criteria used in characterization of the *Actinomyccetes*. Int. Bull. Bact. Nomencl. Taxon. **9**: 97-104.

- K ü s t e r, E. 1963. Morphological and physiological aspects of the taxonomy of *Streptomyces*. *Microbiol. Expan.* **16**: 193–202.
- K ü s t e r, E. 1967. Problems in taxonomy of *Streptomyces*. *Proc. Biochem.* **2**: 20–24.
- K ü s t e r, E. 1972. Simple working key for the classification and identification of named taxa included in the International Streptomyces Project. *Int. J. System. Bact.* **22**: 139–148.
- K ü s t e r, E. 1976. Chromogenicity of *Actinomyces*. — in “*Actinomyces*, the boundary organisms” ed. by T. Arai Tokyo (Toppan) p. 43–54.
- K ü s t e r, E. 1978. The concept of genus and species within the *Actinomycetales*. — in “*Nocardia* and *Streptomyces*” ed. by M. Mordanski et al. Stuttgart (G. Fischer) p. 21–24.
- K u t z n e r, H. J. 1956. Beitrag zur Systematik und Ökologie der Gattung *Streptomyces*. Diss. Hohenheim.
- L e c h e v a l i e r, H. A. — A. S. T i k h o n e n k o 1960. Effect of nutritional conditions on surface structure of *Actinomycete* spores. *Mikrobiologija* **29**: 43–50.
- L e c h e v a l i e r, H. A. — M. P. L e c h e v a l i e r 1967. Biology of *Actinomycetes*. *Ann. Rev. Microbiol.* **21**: 71–100.
- L e s s e l, E. F. 1970. Progress and problems in bacterial systematics. *Int. J. System. Bact.* **20**: 339–344.
- N i t s c h, B. — H. J. K u t z n e r 1969. Decomposition of oxalic acid and other organic acids by *Streptomyces* as a taxonomic aid. *Z. Allg. Mikrobiol.* **9**: 613–632.
- O k a m i, Y., — M. H a m a d a — N. U e d a 1970. Relationship between genera of *Actinomycetes* with reference to gas chromatographic analysis. in “Culture Collections of Microorganisms” ed. by H. Iizuka — T. Hasegawa. Baltimore (Univ. Park Press) p. 457–475.
- P r a u s e r, H. — J. M e y e r 1961. Zum Nachweis der H₂S-Bildung bei Streptomyceeten. *Naturwiss.* **48**: 463.
- P r a u s e r, H. 1964. Aptness and application of colour codes for exact description of colours of *Streptomyces*. *Z. Allg. Mikrobiol.* **4**: 95–98.
- P r e o b r a s h e n s k a j a, T. P., — E. S. K u d r i n a, — M. S v e s h n i k o v a — T. S. M a k s i m o v a 1959. The use of electron microscopy of spores in the systematics of *Actinomycetes*. *Mikrobiologija* **28**: 623–627.
- P r i d h a m, T. G. — D. G o t t l i e b 1948. The utilization of carbon compounds by some *Actinomycetales* as an aid for species determination. *J. Bact.* **56**: 107–114.
- P r i d h a m, T. G. — C. W. H e s s e l t i n e — R. S. B e n e d i c t 1958. A guide for the classification of *Streptomyces* according to selected groups. *Appl. Microbiol.* **6**: 52–79.
- P r i d h a m, T. G. 1965. Colour and *Streptomyces*. *Appl. Microbiol.* **13**: 43–61.
- R e h a c e k, Z. 1970. Secondary metabolism and the taxonomy of *Streptomyces*. — in “Culture Collections of Microorganisms” ed. by H. Iizuka — T. Hasegawa. Baltimore (Univ. Park Press) p. 477–482.
- R o b b e l, L. — H. J. K u t z n e r 1973. Verwertung organischer Säuren als taxonomisches Merkmal bei Streptomyceeten. III. Sympos. Techn. Mikrobiol. Berlin.
- S h i n o b u, R. 1958. Physiological and cultural study of the identification of soil *Actinomycetes* species. *Mem. Osaka Univ. Ser. B* **7**: 1–76.
- S h i r l i n g, E. B. — D. G o t t l i e b 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. System. Bact.* **16**: 313–340.
- S h i r l i n g, E. B. — D. G o t t l i e b 1968, 1969, 1972. Cooperative description of type cultures of *Streptomyces* II–V. *Int. J. System. Bact.* **18**: 69–189, 279–392, **19**: 391–512, **22**: 265–394.
- T e s i c, Z. P. 1965. Sections and series in the classification of true *Actinomycetes*. *Publ. Fac. Sci. Univ. Brno K* **35**: 336–339 (1965).
- T e s i c, Z. P. 1966. The problem of genera in the rational classification of *Actinomycetes*. Round Table Conf. of Actinomycetes, Moscow July 1966.
- T h i r u m a l a c h a r, M. J. 1970. Evaluation of some characters used in the taxonomy of *Actinomycetales*. — in “The *Actinomycetales*” Internat. Sympos. Jena 1968, ed. by H. Prauser. Jena (Fischer) 1970, p. 425–429.

- Tresner, H. D.—M. C. Davies—E. J. Backus 1961. Electron microscopy of *Streptomyces* spore morphology and its role in species differentiation. *J. Bact.* **81**: 70—80.
- Tresner, H. D.—E. J. Backus 1963. System of colour wheels for *Streptomyces* taxonomy. *Appl. Microbiol.* **11**: 335—338.
- Tresner, H. D.—J. A. Hayes—E. J. Backus 1968. Differential tolerance of *Streptomyces* to sodium chloride as a taxonomic aid. *Appl. Microbiol.* **16**: 1134—1136.
- Turri, M.—L. G. Silvestri 1958. Osservazioni su un saggio biochimico proposto per la classificazione degli Attinomiceti. *Ann. Microbiol.* **10**: 71—76.
- Waksman, S. A. 1919. Cultural studies of species of *Actinomyces*. *Soil Sci.* **8**: 71—215.
- Waksman, S. A. 1958. Characterization of a *Streptomyces* species. *Antibiot. Med. Clin. Ther.* **5**: 573—576.
- Welsch, M.—A. Rutten-Pinckaers—M. Selman 1963. Recherches sur des *Streptomyces* d'Afrique Centrale. IV. Iso-Antiliose, lysogenie et actinophages libres. *Bull. Soc. Roy. Sci. Liège* **32**: 529—574.
- Ziegler, P.—H. J. Kutzner 1973. Hippurate hydrolysis as a taxonomic criterion in the genus *Streptomyces*. *Z. Allg. Mikrobiol.* **13**: 265—272.