

# Copyright ©

---

Es gilt deutsches Urheberrecht.

Die Schrift darf zum eigenen Gebrauch kostenfrei heruntergeladen, konsumiert, gespeichert oder ausgedruckt, aber nicht im Internet bereitgestellt oder an Außenstehende weitergegeben werden ohne die schriftliche Einwilligung des Urheberrechtinhabers. Es ist nicht gestattet, Kopien oder gedruckte Fassungen der freien Onlineversion zu veräußern.

German copyright law applies.

The work or content may be downloaded, consumed, stored or printed for your own use but it may not be distributed via the internet or passed on to external parties without the formal permission of the copyright holders. It is prohibited to take money for copies or printed versions of the free online version.

Aus dem Institut für Meereskunde und dem Hygiene-Institut der Universität Kiel

## Über die Fimbrierung sternbildender Bakterien aus Brackwasser

VON RENATE AHRENS und GEORG MOLL

**Zusammenfassung:** Von 39 *Agrobacterium*-Stämmen aus Brackwasser, die auf Geißeln gefärbt wurden, besaßen 33 Fimbrien. Lange polare Fimbrien, die einzeln oder in Büscheln auftraten, waren am häufigsten (23 Stämme). Ein Stamm besaß peritriche Fimbrien, 9 weitere Isolierungen wiesen beide Anordnungen auf. Für einen ungewöhnlich breiten Fimbrientyp wurde die Entwicklung in Abhängigkeit von den Wachstumsbedingungen untersucht. Frühere Befunde über Geißelanordnungen wurden bestätigt.

**On the fimbriation of star-forming bacteria from brackish water (Summary):** Of 39 *Agrobacterium* strains from brackish water stained for flagella, 33 possessed fimbriae. Long polar filaments occurring singly or in tufts were most common (23 strains). One strain bore peritrichous fimbriae only, and 9 isolations both arrangements. For an unusually wide fimbrial type the development in dependence of the growth conditions was studied. Former findings about the flagellar arrangement were confirmed.

### Einleitung

Sorgfältige Geißelfärbungen an verschiedenen *Agrobacterium*-Arten aus der westlichen Ostsee (AHRENS, 1968) und ihnen nahestehenden Sternbildnern (AHRENS, 1970) haben ergeben, daß die Mehrzahl der untersuchten Stämme unabhängig von der Begeißelung Fimbrien besitzt. Diese gehören einem von (mindestens) 3 Typen an und treten z. T. nebeneinander an der gleichen Zelle auf.

### Stämme und Methoden

Die sternbildenden *Agrobacterium*-Arten *A. stellulatum*, *A. ferrugineum*, *A. luteum*, *A. sanguineum*, *A. agile*, *A. aggregatum*, *A. gelatinovororum* und *A. kieliense* stammen aus der westlichen Ostsee (AHRENS, 1968). Von *A. stellulatum* wurden Mutanten einbezogen, die keine Rosetten ausbilden. Die Isolierungen A 34, A 47, A 53, A 84 (westliche Ostsee) und C 3, C 4, C 5, C 6, C 8, C 9, C 10 (Elbemündung) stehen *A. stellulatum* und *A. ferrugineum* nahe, besitzen aber spitzere Zellen als diese und sind unbegeißelt (AHRENS, 1970). Zum Vergleich dienten *A. stellulatum* Stamm 2 Ma/E (SIEBERT und SCHWARTZ, 1956), den Prof. Knösel, Stuttgart-Hohenheim, freundlicherweise zur Verfügung stellte, *A. radiobacter* NCMB 8149 und *A. tumefaciens* NCMB 8150. Die beiden letzten Organismen entstammen der National Collection of Marine Bacteria, Aberdeen, Schottland.

Geißelfärbungen nach der Methode von Leifson (1960) stellen neben Geißeln auch Fimbrien dar. Zur Unterscheidung der Fimbrientypen führte Dr. Moll (Hygiene-Institut) elektronenoptische Untersuchungen durch (s. MOLL und AHRENS, 1970).

### Ergebnisse

Angehörige der Arten *Agrobacterium stellulatum* und *A. ferrugineum* besitzen sehr lange zarte Fimbrien, die einzeln oder in Büscheln zumeist polar inseriert sind. Ihre Länge erreicht ein Vielfaches der Zelllänge. In einigen Kulturen treten sie ganz vereinzelt auf,

so daß sie leicht übersehen werden (Abb. 1—5). Beiden Arten verwandte sternbildende Stämme (A 34, A 47, A 53, C 3, C 4, C 5, C 6, C 8, C 9, C 10) besitzen den gleichen Fimbriertyp, ebenso einige nicht sternbildende Mutanten von *A. stellulatum* (A 18, A 21, A 22, A 32, A 36, A 38) sowie die Arten *A. luteum* (s. AHRENS et al, 1968), *A. sanguineum* und *A. agile*. *A. tumefaciens*, das zum Vergleich herangezogen wurde, ergab gleiche Fimbrien. Dagegen konnten sie nicht bei *A. aggregatum*, *A. gelatinovororum* oder *A. kieliense* nachgewiesen werden, ferner nicht bei *A. radiobacter* und *A. stellulatum* Stamm 2 Ma/E.

Die beiden übrigen Fimbriertypen sind lichtoptisch nicht eindeutig zu unterscheiden. Es handelt sich um peritriche Zellanhänge, die zumeist sehr zahlreich sind und bei wenigen bis nahezu allen Zellen einer Kultur angetroffen werden (Abb. 4—6). Solche peritrichen Fimbrien weisen die Sternbildner A 47, A 53, C 8, C 9, C 10 auf, ferner Angehörige der Arten *A. ferrugineum* (A 10, A 13) und *A. sanguineum* (A 87, A 89, A 92). Mit Hilfe des Elektronenmikroskops lassen sich schraubig aufgebaute, ungewöhnlich breite Fimbrien (C 8, C 9, A 10, A 47, A 53) (s. MOLL und AHRENS, 1970) von einem dünneren Fimbriertyp (A 87, A 89) unterscheiden (Abb. 7, 8). Eine Zuordnung zu bekannten Fimbriertypen wurde nicht versucht. Die breiten Zellanhänge wurden bisher bei keiner anderen Organismengruppe nachgewiesen. Tab. 1 faßt die Fimbrierung der behandelten Stämme zusammen.

Für den breiten Typ peritricher Fimbrien wurde die Entwicklung in Abhängigkeit von der Wachstumsphase, dem Salzgehalt und der Temperatur geprüft. Als Grundmedium diente das Pepton-Hefeextrakt-Medium von ZoBell (2216 E), das mit Seewassergemisch von 24‰ Salzgehalt angesetzt wurde, zur Bestimmung der Salzabhängigkeit aber mit Leitungswasser und eingewogenen Mengen NaCl hergestellt wurde. Die Wachstumsintensität wurde durch Trübungsmessung bzw. Zellzählung (Helber-Kammer) bestimmt. Die Wachstumskurven (20° C) der Stämme C 8 und A 47 wiesen einen Knick in der exponentiellen Phase auf (Abb. 9). Eine solche Kurve kann die Folge einer Enzymumstellung sein, wobei zunächst eine Substratkomponente mit Hilfe vorhandener Enzyme abgebaut wird. Müssen für den Abbau weiterer Substrate adaptative Enzyme neugebildet werden, so kann eine Verzögerung in Wachstum und Zellteilung auftreten ("diauxic growth", s. BROCK, 1970). Die Fimbrienbildung ist am Ende des ersten Wachstumsabschnitts am intensivsten. Das gilt für die durchschnittliche Fimbrienzahl pro Zelle und den Prozentsatz der Zellen, die Fimbrien besitzen. Während der Ver-

---

Legende zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 1)

Fimbrierttragende *Agrobacterium*-Stämme. Geißelfärbung nach LEIFSON. Vergrößerung 2000 fach.

Abb. 1—3: Lange, meist polare Fimbrien, einzeln oder in Büscheln.

Abb. 1: *A. ferrugineum* A 3. 25 Tage ZoBell-Nährlösung 10 °C.

Abb. 2: *A. stellulatum* A 29. 16 Tage ZoBell-Nährlösung 10 °C.

Abb. 3: *A. stellulatum* A 38. 16 Tage ZoBell-Nährlösung 10 °C.

Abb. 4—6: Peritriche Fimbrien (und polare Fimbrien)

Abb. 4: *Agrobacterium* sp., Stamm A 47. 3 Tage ZoBell-Nährlösung S 10<sup>0</sup>/<sub>00</sub>, 20 °C.

Abb. 5: *A. sanguineum* A 87. 24 Tage ZoBell-Nährlösung 10 °C. (Zahlreiche abgebrochene Fimbrien im Bild!)

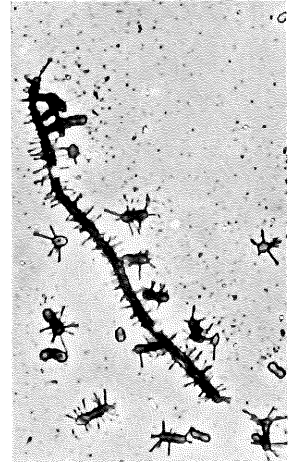
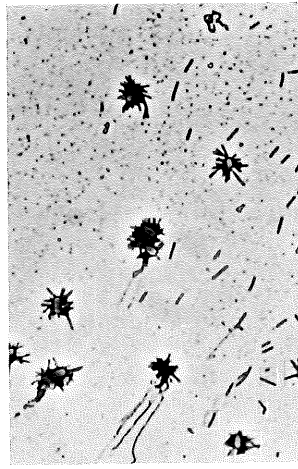
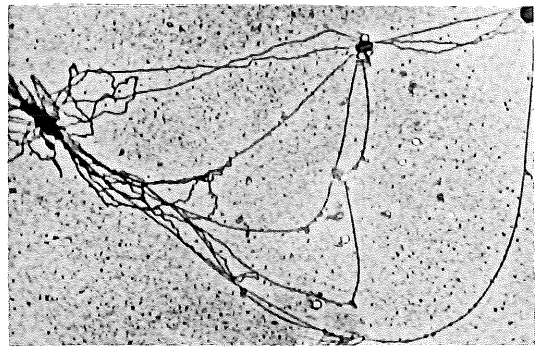
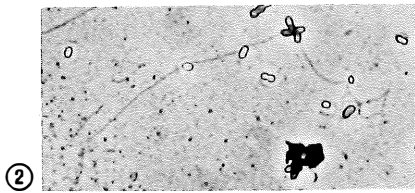
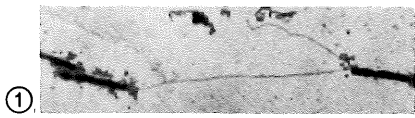
Abb. 6: *A. ferrugineum* A 10. <sup>1</sup>/<sub>3</sub> konzentrierte ZoBell-Nährlösung, 29 Tage 10 °C.

---

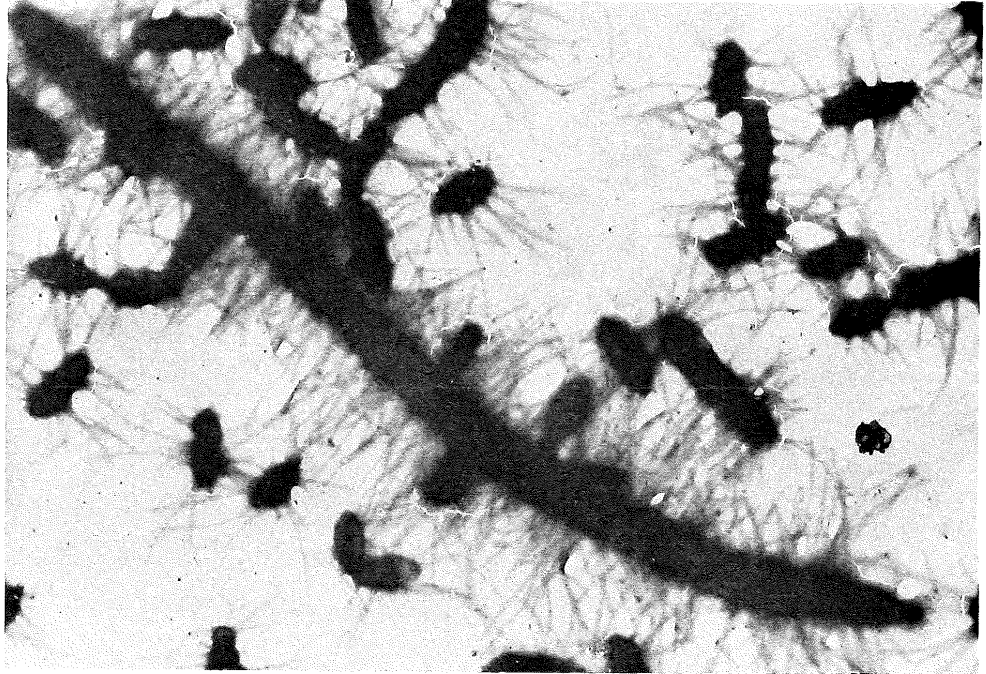
Legende zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 2)

Abb. 7: Peritriche Fimbrien bei *Agrobacterium* Stamm A 47, breiter Typ. Elektronenoptische Aufnahme. Vergr. 5400 fach.

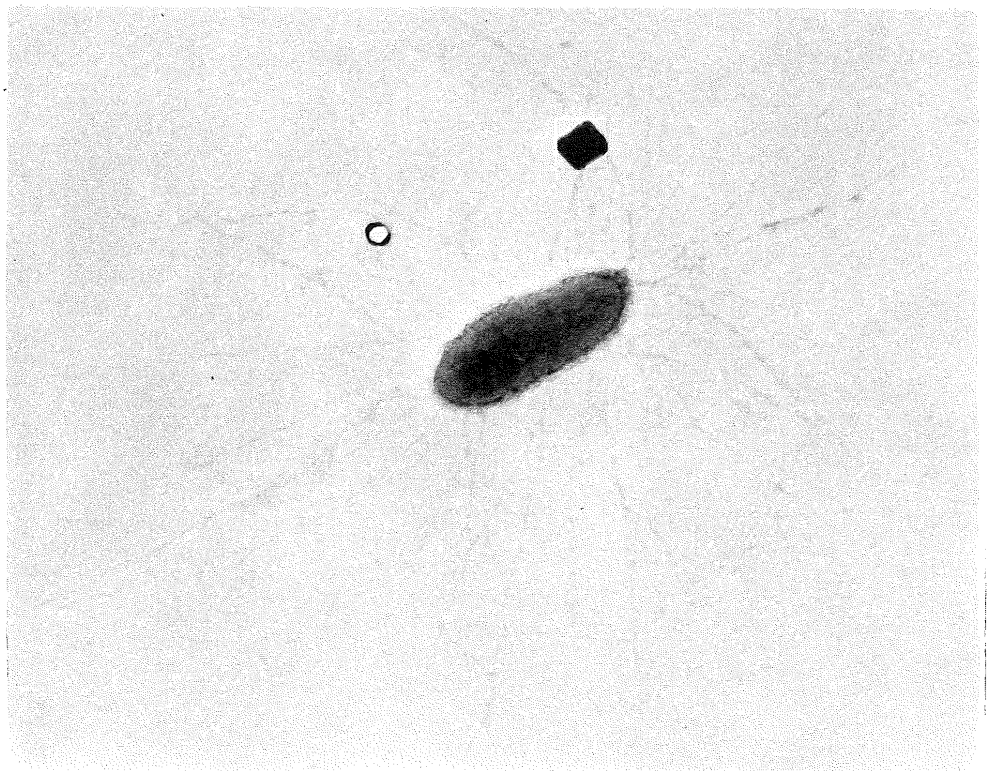
Abb. 8: Peritriche Fimbrien bei *A. sanguineum* Stamm A 87, dünner Typ. Vergr. 28000 fach.



Tafel 1 (zu R. Ahrens u. G. Moll)

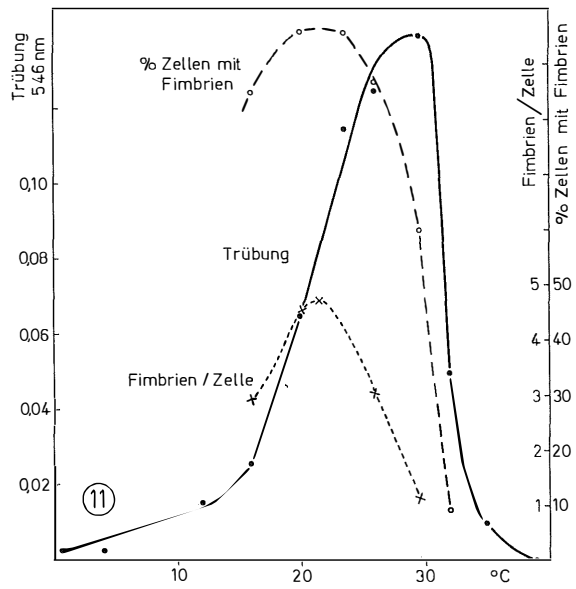
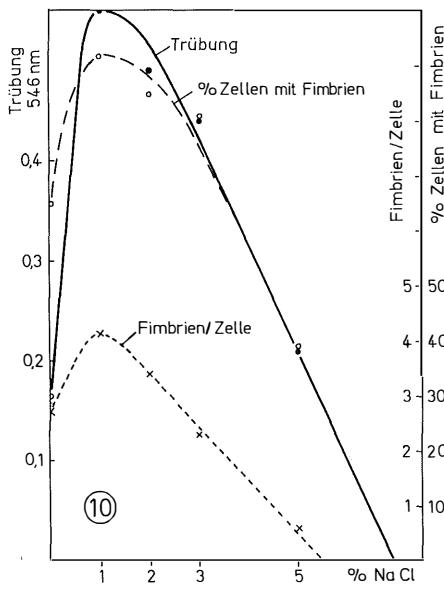
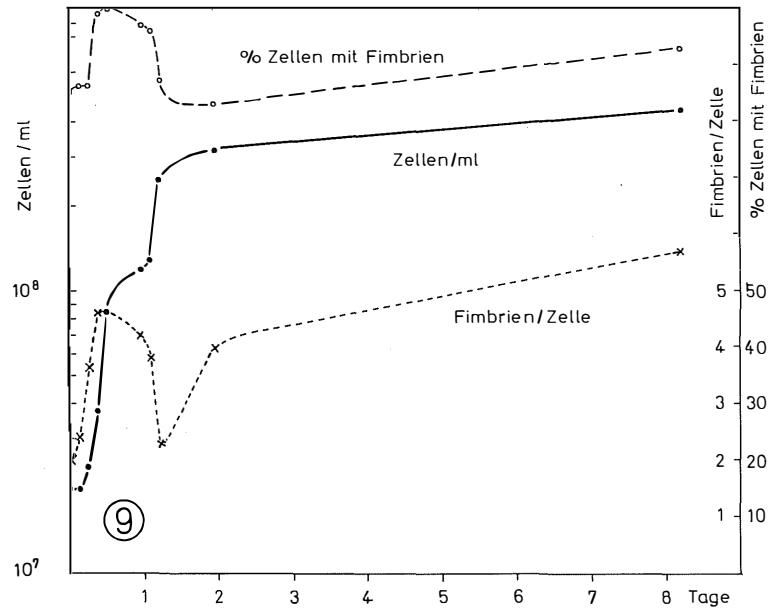


⑦

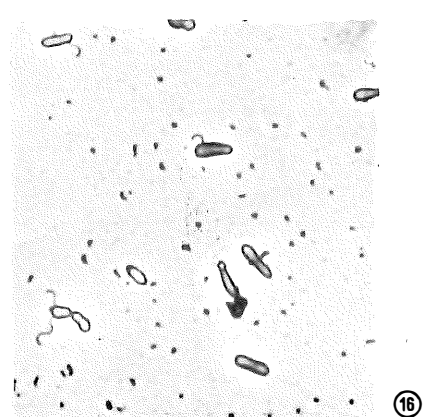
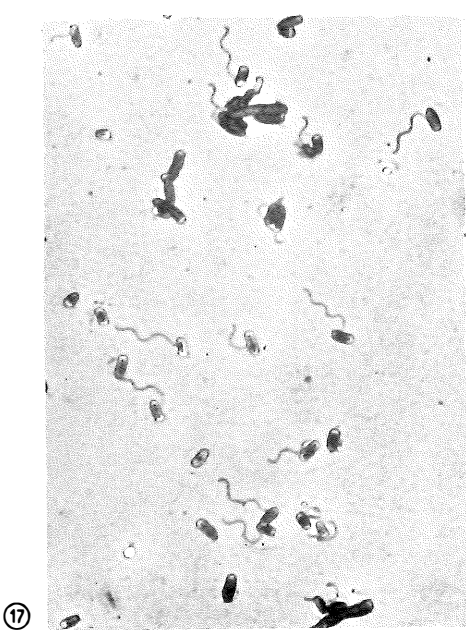
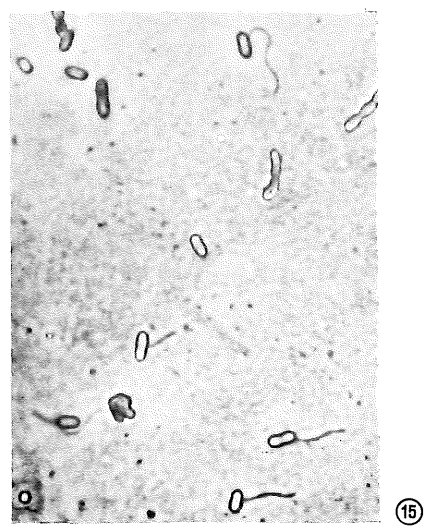
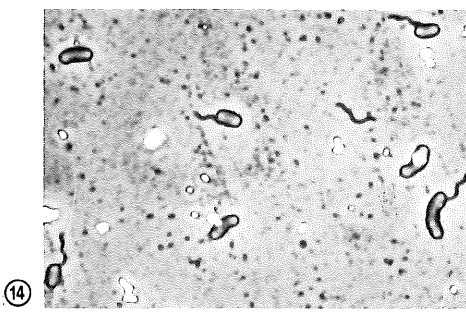
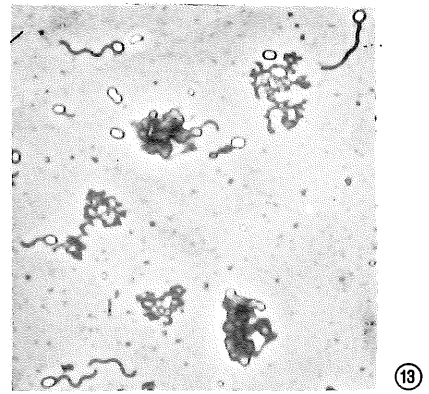
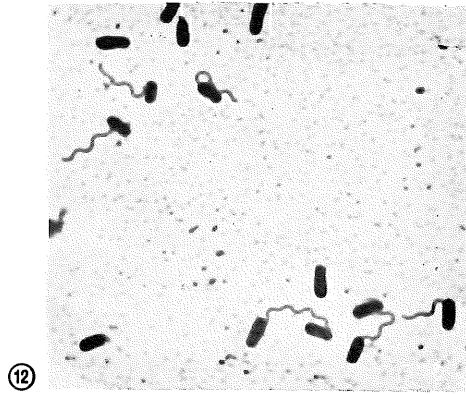


⑧

Tafel 2 (zu R. Ahrens u. G. Moll)



Tafel 3 (zu R. Ahrens u. G. Moll)



Tafel 4 (zu R. Ahrens u. G. Moll)

zögerung in der log-Phase und im zweiten Wachstumsabschnitt geht die Fimbrienbildung stark zurück. Es ist ungewiß, ob die Fimbrien in der ersten Phase zum Abbau des Substrats erforderlich sind oder ob es sich um eine geordnete Abscheidung von Stoffwechselprodukten handelt.

In Rührkulturen ist die Fimbrienbildung meist gering; offensichtlich brechen die Zellanhänge hier ab.

Tabelle 1  
Fimbriennachweis der einzelnen *Agrobacterium*-Stämme

Art:	polare Fimbrien, einzeln oder in Büscheln. Sehr lang; relativ selten	peritriche Fimbrien I breiter Typ, spiralg aufgebaut II dünner Typ	keine Fimbrien nachgewiesen
<i>A. stellulatum</i>	A 1, A 4, A 5, A 6, A 23, A 29 nicht sternbildende Mutanten: A 18, A 21, A 22, A 32, A 36, A 38	—	2 Ma/E
<i>A. ferrugineum</i> . . . . .	A 3, A 7, A 10, A 13, A 43?	A 10 Typ I A 13	A 26
<i>Agrobacterium spp.</i> ähnlich <i>A. stellulatum</i> und <i>A. ferrugineum</i>	A 34, A 47, A 53, C 3, C 4, C 5, C 6, C 8, C 9, C 10	A 47 } Typ I A 53 } C 8 } C 9 } C 10 Typ I?	A 84
<i>A. luteum</i> . . . . .	A 61, B 14	—	
<i>A. sanguineum</i> . . . . .	A 87, A 89, A 91	A 87 } Typ II A 89 } A 92 Typ II?	
<i>A. agile</i> . . . . .	A 82	—	
<i>A. tumefaciens</i> . . . . .	NCMB 8150	—	
<i>A. aggregatum</i> . . . . .			B 1
<i>A. gelatinovororum</i> . . . . .			B 6
<i>A. kielense</i> . . . . .			B 9
<i>A. radiobacter</i> . . . . .			NCMB 8149

Legende zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 3)

- Abb. 9: Abhängigkeit der Fimbrienbildung von der Wachstumsphase bei Stamm *C β*. ZoBell-Nährlösung, S 24<sup>0</sup>/<sub>100</sub>, 20 °C, statische Kultur.  
Abb. 10: Abhängigkeit der Fimbrienbildung vom Salzgehalt bei Stamm *C β*. ZoBell-Nährlösung mit Leitungswasser und eingewogenen Mengen NaCl. 20 °C, statische Kultur.  
Abb. 11: Abhängigkeit der Fimbrienbildung von der Temperatur bei Stamm *C β*. ZoBell-Nährlösung S 24<sup>0</sup>/<sub>100</sub>. Auswertung nach 1 Tag.

Legende zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 4)

- Begeißelung der *Agrobacterium*-Stämme. Geißelfärbung nach LEIFSON. Vergrößerung 3 000 fach.  
Abb. 12: *A. ferrugineum* A 43. 1/3 konzentrierte ZoBell-Nährlösung, 8 Tage 10 °C.  
Abb. 13: *A. sanguineum* A 92. 1/3 konz. ZoBell-Nährlösung, 29 Tage 10 °C.  
Abb. 14: *A. aggregatum* B 1. 1 Tag ZoBell-Nährlösung 20 °C.  
Abb. 15: *A. gelatinovororum* B 6. 4 Tage 20 °C.  
Abb. 16: *A. stellulatum* A 36. 1/3 konz. ZoBell-Nährlösung, 26 Tage 10 °C.  
Abb. 17: *A. stellulatum* 2 Ma/E. 1/3 konz. ZoBell-Nährlösung, 20 Tage 10 °C.



Die Fimbrienbildung ist ebenso wie die Wachstumsintensität salzabhängig (Stamm C 8). In der Anfangsphase (3 Tage 20° C) weist der Salzgehalt von 2% NaCl die stärkste Trübung und den größten Anteil fimbrierter Zellen auf, während bei 1% NaCl die mittlere Fimbrienzahl am höchsten liegt. Nach 7 tägiger Bebrütung liegt das Optimum sowohl des Wachstums als auch der Fimbrienbildung bei 1% NaCl (Abb. 10).

Die Temperaturabhängigkeit der Fimbrierung weicht von der Wachstumsintensität ab. Stamm C 8 zeigt nach 1 Tag die stärkste Entwicklung bei 30° C, während die beste Fimbrienbildung bei 20—22° C erfolgt (Abb. 11). Nach 2 Tagen ist keine deutliche Temperaturabhängigkeit der Fimbrierung zu erkennen.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Untersuchung wurden frühere Geißelfärbungen bestätigt. Bis auf *A. agile*, das deutlich polar begeißelt ist, besitzen die beweglichen Sternbildner wenige Geißeln (1 bis selten 4) von unterschiedlicher Anordnung (polar bis seitlich) (Abb. 12—17). Dieser Typ ist degeneriert peritrich genannt worden (CONN und WOLFE, 1938) und wird im angelsächsischen Sprachgebrauch als „shoulder flagellation“ bezeichnet. Einige bisher als unbeweglich angesehene Stämme zeigen eine (dürftige) Begeißelung, wenn sie bei niedrigen Temperaturen (10° C) angezüchtet wurden.

#### Literaturverzeichnis

- AHRENS, R. (1968): Taxonomische Untersuchungen an sternbildenden *Agrobacterium*-Arten aus der westlichen Ostsee. Kieler Meeresforsch. **24**, 147—173.
- AHRENS, R. (1970): Weitere sternbildende Bakterien aus Brackwasser. Kieler Meeresforsch. **26**, 74—78.
- AHRENS, R., G. MOLL und G. RHEINHEIMER (1968): Die Rolle der Fimbrien bei der eigenartigen Sternbildung von *Agrobacterium luteum*. Arch. Mikrobiol. **63**, 321—330.
- BROCK, T. D. (1970): Biology of microorganisms. Prentice Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey. S. 194.
- CONN, H. J. und G. E. WOLFE (1938): The flagellation of bacteria. Science **87**, 283—284.
- LEIFSON, E. (1960): Atlas of bacterial flagellation. Acad. Press, New York und London.
- MOLL, G. und R. AHRENS (1970): Ein neuer Fimbrientyp. Arch. Mikrobiol. **70**, 361 bis 368.