

# 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 Mikrobiologie der Universität Göttingen

## Die kontinuierliche Kultur in der experimentellen Ökologie mariner Mikroorganismen

HOLGER W. JANNASCH

**Zusammenfassung:** Die Lebensbedingungen geschlossener Kultursysteme für marine Mikroorganismen weichen von denen des natürlichen Standortes erheblich ab. Die Anwendung der Methode der homokontinuierlichen Kultur ermöglicht es, bei ökologischen Untersuchungen mariner Mikroorganismen den kinetischen Gesetzmäßigkeiten ihres Wachstums in natürlichen offenen Fließsystemen Rechnung zu tragen. Anhand von Beispielen wird die Anwendung der Methode für die Untersuchung reiner und gemischter Populationen diskutiert.

**The continuous culture in the experimental ecology of marine micro-organisms (Summary):** In the sea as their natural habitat, micro-organisms can be assumed to live under steady-state conditions for periods of time. On this basis, the continuous culture technique is shown to yield more satisfactory information on microbial ecology than batch culture experiments. The kinetics and applications of open culture systems for pure and mixed populations are discussed and demonstrated.

Je kleiner und je einfacher organisiert ein Organismus ist, desto unmittelbarer reagiert er auf Änderungen seiner Lebensbedingungen. Dieser methodische Vorteil in der allgemeinen Stoffwechselphysiologie der Mikroorganismen wird zum ausgesprochenen Nachteil, sobald es sich um experimentelle ökologische Untersuchungen handelt. Bei der Übertragung der Organismen aus der natürlichen Umgebung in ein Zuchtgefäß oder schon in das Probengefäß, beginnen sich Einflüsse auf ihre Stoffwechselaktivität auszuwirken, die charakteristische Eigenschaften der geschlossenen Kultursysteme darstellen.

Die Entwicklung einer Mikroorganismen-Population in einem geschlossenen Kultursystem, z. B. einem Erlenmeyerkolben, folgt der bekannten S-förmigen Wachstumskurve, die der Ausdruck sich ständig ändernder Kulturbedingungen ist. Mit Abnahme der anfänglichen Nährstoffkonzentration und Zunahme der Konzentration der Stoffwechselprodukte ändern sich nicht nur die Wachstumsrate, sondern in vielen Fällen auch morphologische, cytologische und physiologische Eigenschaften der Organismen (PFENNIG u. JANNASCH 1962). Es liegt etwa 20 Jahre zurück, daß MONOD (1942) in Paris und HINSHELWOOD (1946) in Oxford damit begannen, das Bakterienwachstum in allen seinen Phasen im geschlossenen System zu untersuchen und es mit den übrigen Aktivitäten der Zellen zu vergleichen. Sie kamen zu dem Schluß, daß die statische Kultur technisch zwar die einfachste Methode ist, daß die theoretische Auswertung der Wachstumsdaten aber äußerst kompliziert ist, da sich die wichtigsten Wachstumsbedingungen in dauerndem Wechsel befinden.

In der Praxis der Kultur von Mikroorganismen sind seit langer Zeit Arten bekannt, die unter den stark schwankenden Konzentrationen der Nährstoffe und Stoffwechselprodukte in der statischen Kultur außerordentlich schlecht wachsen. Das kann für gemischte Populationen zutreffen, in denen ein empfindlicher Organismus leicht überwachsen wird, oder auch für Reinkulturen, in denen er entweder anfangs durch zu hohe Nährstoffkonzentrationen, oder am Ende der Kultur durch Stoffwechselprodukte gehemmt wird. Bei der erfolgreichen Kultur solcher Organismen müssen die Konzentrationen durch den kontinuierlichen Zufluß frischer Nährstoffe und Abfluß des verbrauchten Mediums ausgeglichen werden. Ein Beispiel aus der marinen Biologie geben

KETCHUM u. REDFIELD (1938) mit der periodischen Verdünnung einer Kultur planktischer Diatomeen. Sphaerotilus, Thiotrix und nitrifizierende Bakterien, die sich in statischer Kultur nur schwer anreichern lassen, züchteten PALMER u. ORDAL (1961) in einer kontinuierlichen Kultur, bei der die Rate des Nährstoffzuflusses und das Kulturvolumen konstant gehalten wurden.

Trotz der frühen Anfänge wurde die Methode der kontinuierlichen Kultur erst allgemein bekannt und akzeptiert, als MONOD (1950) und NOVICK u. SZILARD (1950) unabhängig voneinander die theoretische Basis der homokontinuierlichen Kultur entwickelten und damit reproduzierbare und quantitative Untersuchungen ermöglichten. In ihrem sogenannten Chemostaten wird außer dem Konstanthalten des Volumens durch eine konstante Zu- und Abflußrate auch für die homogene Durchmischung des Kulturmediums gesorgt, so daß die Lebensbedingungen für alle Zellen in jedem Moment absolut gleich sind. Die Wachstumsrate wird durch einen einzigen bekannten Faktor, z. B. die Konzentration eines Nährstoffes, begrenzt. Die Konstanz der Zusammensetzung des zufließenden Nährmediums, der Temperatur etc. ist selbstverständlich vorausgesetzt. Es soll hier nur auf die wesentlichsten Eigenschaften des homokontinuierlichen Kultursystems eingegangen werden, soweit sie für ihre Anwendung bei der Ökologie von Mikroorganismen von Bedeutung sind. Der theoretischen Ableitung liegt die Terminologie HERBERT's (1956) zugrunde.

Das Schema in Abb. 1 zeigt die Anordnung des offenen Systems der homokontinuierlichen Kultur. Das Nährmedium durchfließt das Kulturgefäß, wobei der Ausfluß Zellen, Stoffwechselprodukte und unverbrauchte Nährstoffe zugleich enthält. Die Flußrate (Volumen  $V$ /Zeit  $t$ ) wird im Verhältnis zum Volumen des Kulturgefäßes zur Verdünnungsrate ( $D$ ):

$$D = \frac{V/t}{V} = \frac{1}{t} \text{ (Volumenwechsel/Std.)}$$

Eine anfängliche Konzentration sich nicht vermehrender Teilchen ( $c_0$ ) würde nach einer Zeitspanne ( $t$ ) exponentiell auf die Endkonzentration ( $c$ ) verdünnt werden:

$$c = c_0 e^{-Dt}$$

Die Vermehrung von Bakterienzellen während der exponentiellen Phase kann in der entsprechenden Weise ausgedrückt werden ( $x$  = Zellkonzentration):

$$x = x_0 e^{\mu t}$$

wobei  $\mu$  die Wachstumsrate<sup>1)</sup> darstellt.

Werden im offenen System der homokontinuierlichen Kultur der Verdünnungseffekt und die Zellvermehrung kombiniert, dann gilt:

<sup>1)</sup> Es wird hier nicht näher auf den an sich wichtigen Unterschied zwischen Wachstumsrate (Änderung des Trockengewichts) und Vermehrungsrate (= Teilungsrate, Änderung der Zellzahl) eingegangen.

#### Legenden zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 1)

Abb. 1: Schematische Darstellung des Chemostaten, V = Vorratsgefäß, K = Kulturgefäß (homogen durchmischt), F = Flußrate, D = Verdünnungsrate,  $s_r$  = Konzentration des wachstumsbegrenzenden Substrates im Vorratsgefäß,  $s$  = Konzentration des wachstumsbegrenzenden Substrates im Kulturgefäß,  $x$  = Zellkonzentration.

Abb. 2: Die Abhängigkeit der Zellkonzentration ( $\bar{x}$ ) und der Konzentration des wachstumsbegrenzenden Substrates ( $\bar{s}$ ) während des Fließgleichgewichtes in homokontinuierlicher Kultur von der Verdünnungsrate ( $D$ ) und der Konzentration des wachstumsbegrenzenden Substrates im zufließenden Medium ( $s_r$ ) (nach HERBERT, 1956).

Abb. 3: Schema der Versuchsanordnung bei stufenweiser Änderung der Konzentration des wachstumsbegrenzenden Substrates im zufließenden Medium ( $s_r$ ) (vgl. Abb. 1).

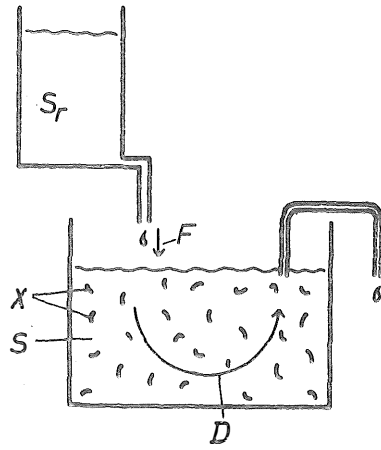


Abb. 1

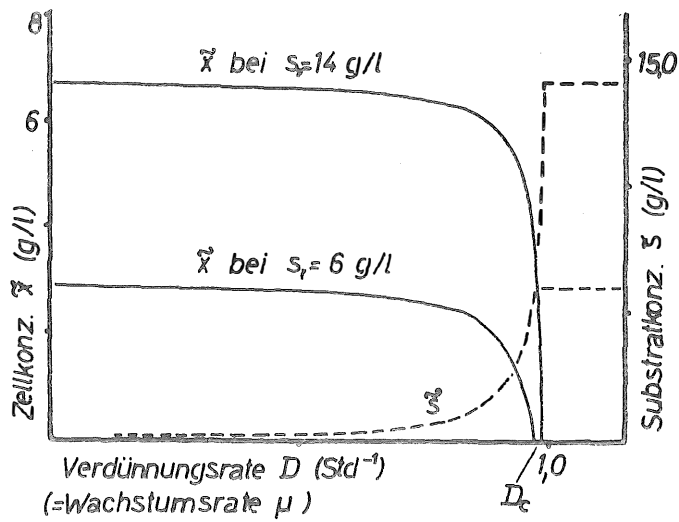


Abb. 2

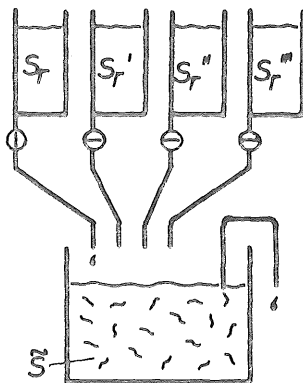


Abb. 3

Tafel 1 (zu H. W. Jannasch)

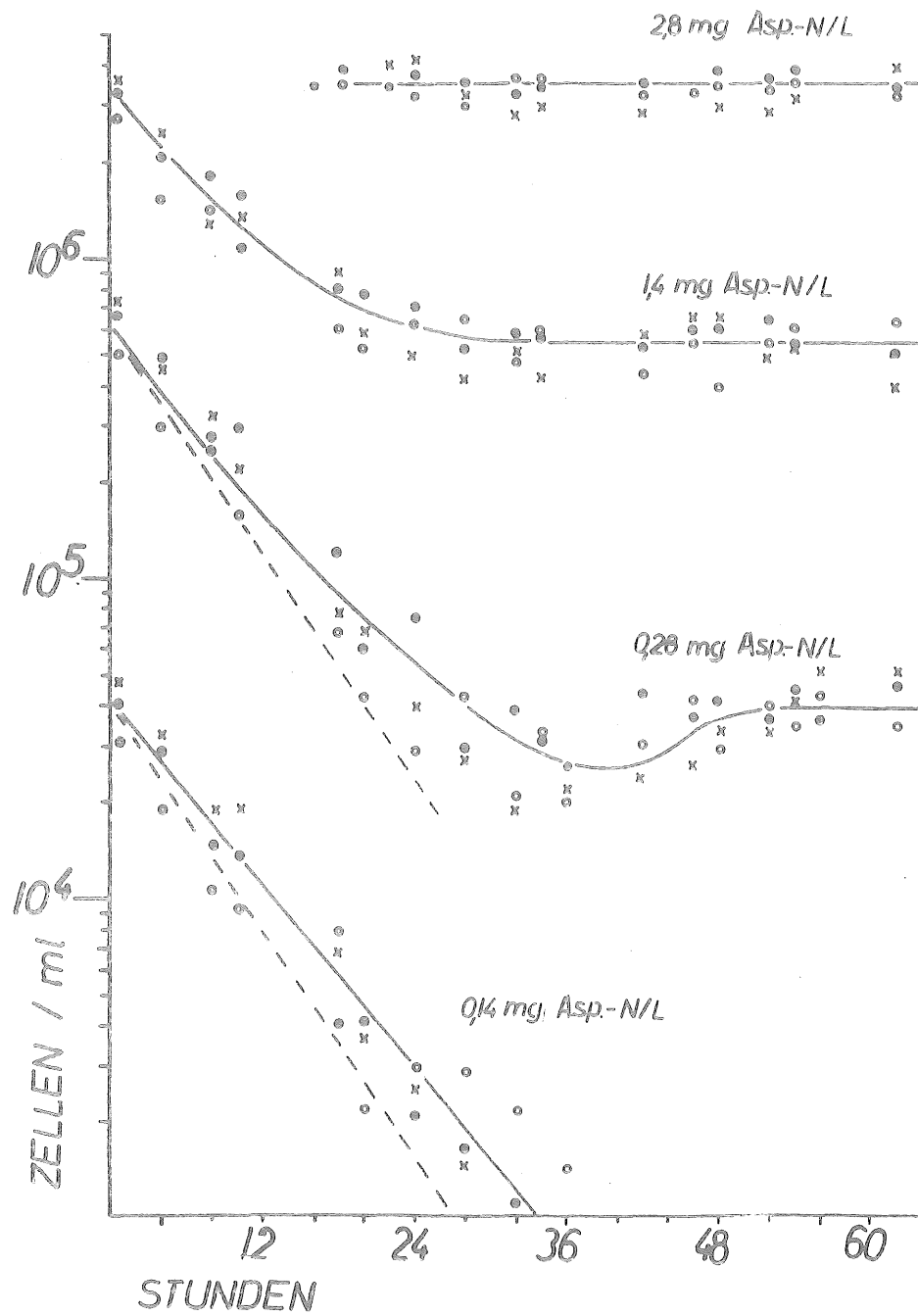


Abb. 4

Tafel 2 (zu H. W. Jannasch)

$$\frac{dx}{dt} = \mu x - Dx$$

Änderung der Zellkonzentration
Zuwachsrate
Auswaschraterate

Ist die Wachstumsrate zunächst größer als die experimentell eingestellte Verdünnungsrate ( $\mu > D$ ), dann steigt die Zellkonzentration ( $x$ ), solange es die Konzentration des wachstumsbegrenzenden Nährstoffes im zufließenden Medium ( $s_r$ ) ermöglicht. Entsprechend sinkt die Zellkonzentration bis zu einem gewissen Wert, wenn die Wachstumsrate anfangs kleiner ist als die Verdünnungsrate. Es stellt sich automatisch ein Fließgleichgewicht (steady state) ein, in dem die Zellkonzentration den konstanten und

von  $s_r$  abhängenden Wert von  $\bar{x}$  annimmt ( $\frac{dx}{dt} = 0$ ), und die exponentielle Wachstumsrate gerade die negative exponentielle Auswaschraterate kompensiert ( $\mu = D$ ).  $s_r$  wird in diesem Moment zu dem konstanten Wert von  $\bar{s}$ , der Substratkonzentration im Kulturgefäß.

Im Fließgleichgewicht bleiben sämtliche Faktoren konstant, d. h. die Kultur hat ihr physiologisches Alter verloren und kann theoretisch unendlich lang fortgesetzt werden. Alle weiteren Veränderungen in der Population haben evolutionistischen Charakter auf der Basis von Mutation und Selektion. Die Messung der Mutationsrate ist zu einer der wichtigsten Anwendungen der homokontinuierlichen Kulturmethode geworden. Wird die Populationsdichte nicht indirekt durch die Verdünnungsrate, sondern direkt photoelektrisch gesteuert („Turbidostat“), dann wachsen die Organismen stets mit angenähert maximaler Wachstumsrate. Dieses System soll hier nicht näher behandelt werden, weil es für die Untersuchung des begrenzten und unteroptimalen Wachstums der Mikroorganismen im natürlichen Substrat weniger geeignet ist als der Chemostat.

Für physiologische und besonders auch für ökologische Untersuchungen ist in erster Linie wichtig, daß sich für jeden willkürlich einstellbaren Wert der Verdünnungsrate  $D$  und der Substratkonzentration  $s_r$  die dazugehörigen Werte für  $\bar{x}$  und  $\bar{s}$  messen lassen. Die Ermittlung dieser Werte ist auch rechnerisch möglich, wenn die nach MONOD (1942) bestimmten Beziehungen zwischen Wachstumsrate und Substratkonzentration (die drei Konstanten: maximale Wachstumsrate  $\mu_m$ , Substratsättigungskonstante  $K_s$ , die die Ausnutzbarkeit geringer Substratkonzentrationen angibt, und die Ertragskonstante  $y$ ) für den jeweiligen Organismus in statischer oder in homokontinuierlicher Kultur bestimmt worden sind. MONOD fand, daß die allgemeine Abhängigkeit der Wachstumsrate ( $\mu$ ) von der Substratkonzentration ( $s$ ) einer Sättigungskurve folgt, die der Michaelis-Menten Beziehung bei Enzymreaktionen gleicht:

$$\mu = \mu_m \frac{s}{K_s + s}$$

Auch im Fließgleichgewicht muß jeder Wachstumsrate eine Substratkonzentration entsprechen und daher die Zunahme von  $\bar{s}$  bei steigender Verdünnungsrate (bzw. Wachstumsrate) ebenfalls eine Sättigungskurve darstellen (Abb. 2). Die Zellkonzentration  $\bar{x}$

Legende zu der nebenstehenden Abbildung (Tafel 2)

Abb. 4: Einstellung des Fließgleichgewichtes (ausgedrückt in der Konstanz der Zellkonzentration  $\bar{x}$ ) nach stufenweisem Herabsetzen der Konzentration des wachstumsbegrenzenden Substrates im zufließenden Medium ( $s_r$  in mg Asparagin-N/L) bis zur Auswaschung der Population (gebrochene Linie = theoretische Auswaschraterate) (nach JANNASCH 1962).

nimmt mit der zunehmenden „Verschwendung“ von Substrat ab. Nähert sich die Verdünnungsrate der unter den gegebenen Bedingungen maximal möglichen Wachstumsrate des Organismus ( $\mu_m$ ), dann wird  $\bar{x}$  schließlich 0, d. h. die Population wird ausgewaschen. In diesem Punkt, der kritischen Verdünnungsrate  $D_c$ , wird kein Substrat mehr verbraucht,  $\bar{s}$  wird also identisch mit  $s_r$ . Aus der Abb. 2 geht weiter hervor, daß sich die Zellkonzentration ( $\bar{x}$ ) etwa proportional zu der Substratkonzentration im zufließenden Medium ( $s_r$ ) verhält, während sie von der Substratkonzentration im Kulturgefäß ( $\bar{s}$ ) unabhängig ist.

Selbstverständlich sind die Bedingungen der homokontinuierlichen Kultur keine Reproduktion der natürlichen Verhältnisse. Natürliche Standorte, die durch keine Gefäßwände von der Umgebung abgeschlossen sind, stellen zwar offene aber auch heterogene Fließsysteme dar. Die Einzelzelle befindet sich jedoch bei der mehr oder weniger konstanten Zufuhr von gelösten Nährstoffen, Abfuhr von Stoffwechselprodukten und Verminderung der eigenen Substanz (durch die Gesamtheit der Faktoren: Diffusion, Eigenbewegung, Substratbewegung, metabiotische Beziehungen zu benachbarten Zellen, Sedimentation, Zooplanktonfraß etc.) für kürzere oder längere Zeit — je nach Homogenität des natürlichen Substrates — in einem Fließgleichgewicht, das bei Änderung eines Faktors in ein neues übergeht. In diesem Lichte gesehen bilden Populationen mariner Standorte — besonders des Pelagials — auf Grund der relativ hohen Konstanz ihrer Lebensbedingungen günstige Objekte für eine experimentelle Annäherung an natürliche Verhältnisse.

Charakteristische Eigenschaften natürlicher Populationen lassen sich durch die kinetischen Gesetzmäßigkeiten offener Kultursysteme erklären. So ist die Konzentration des wachstumsbegrenzenden Nährstoffes ( $\bar{s}$ ) im natürlichen Substrat meist sehr gering (Abb. 2) und kann sich dem Nachweis entziehen, ohne dabei die Rolle des kontrollierenden Faktors aufzugeben. Ein Beispiel ist die nicht nachweisbare Schwefelwasserstoffkonzentration in einer Population photosynthetischer Schwefelbakterien, wenn die Energiequelle (Licht) im Überschuß vorhanden ist und ihre metabiotische Versorgung mit Schwefelwasserstoff durch sulfatreduzierende Bakterien begrenzend wird (JANNASCH 1957). Ein anderer Fall ist die meist äußerst geringe Nitritkonzentration während des zweistufigen Nitrifikationsprozesses durch *Nitrosomonas* und *Nitrobacter*. Die ökologisch wichtige Messung der Aktivitäts- oder Produktionsrate reiner oder gemischter Populationen durch die Bestimmung der vorhandenen Konzentrationen eines Nährstoffes oder Stoffwechselprodukts ist also nur dann sinnvoll, wenn es sich dabei um den Faktor handelt, der für den zu messenden Vorgang begrenzend ist. Ist der begrenzend Faktor nicht eindeutig bekannt, können hohe Konzentrationen eines Nährstoffes ebensogut ein Zeichen großer Aktivität als auch eines stagnierenden Umsatzes sein.

Aus Abb. 2 wird weiterhin verständlich, daß die Konzentration des wachstumsbegrenzenden Nährstoffes ( $\bar{s}$ ) — z. B. des Phosphates oder gebundenen Stickstoffes im Seewasser — nichts über die Zahl der vorhandenen Organismen aussagen kann. Die Populationsdichte ist abhängig von der direkt nicht meßbaren Größe  $s_r$ , der ständig anfallenden Menge des wachstumsbegrenzenden Nährstoffes, die aber nicht in Erscheinung tritt, weil sie sofort zu  $\bar{s}$  reduziert wird.  $s_r$  und  $\bar{s}$  sind also zwei weitgehend voneinander unabhängige Werte der Konzentration des wachstumsbegrenzenden Nährstoffes, die deutlich unterschieden werden müssen.

Eine weitere methodische Schwierigkeit bei der üblichen Messung von Umsatzraten liegt darin, daß die Bestimmung des Verbrauches einer Testsubstanz ein geschlossenes System erfordert. Dabei erfährt die Population bereits vor der Untersuchung eine wesentliche Änderung ihrer Stoffwechselaktivität dadurch, daß das offene System der natürlichen Lebensbedingungen in ein geschlossenes umgewandelt wird. In der marinen

Mikrobiologie gibt es ein bekanntes, aber noch nicht befriedigend aufgeklärtes Phänomen, das hier vielleicht einer Untersuchung auf neuer Basis zugänglich wird. Die Zahl der Bakterien in einer Seewasserprobe steigt nach deren Entnahme um mehrere Zehnerpotenzen an, fällt wieder ab und stellt sich schließlich nach völliger qualitativer Veränderung der Population auf ein neues Niveau ein. Daran ändert sich auch nichts, wenn die Flaschen wieder an den Ort der Probeentnahme versenkt werden in der Absicht, die ursprünglichen Wachstumsbedingungen teilweise aufrecht zu erhalten. Es ist viel Mühe daran gewendet worden, den plötzlichen Anstieg der Zellzahl zu erklären, aber weder der stimulatorische Effekt adsorbierter organischer Nährstoffe noch ein fehlender Zooplanktonfraß können als allein dafür verantwortliche Vorgänge angesehen werden, schon deshalb nicht, weil der Effekt unmittelbar einsetzt.

→ Populationsdynamisch<sup>1)</sup> gesehen kann der Anstieg der Zellzahl als die Reaktion der natürlichen Population auf die Änderung der Bedingungen eines offenen in die eines geschlossenen Systems interpretiert werden. Das Fließsystem wird abgebaut, und zwar desto schneller, je kleiner das Volumen der Probe (oder das Verhältnis Volumen/Oberfläche in der Probe) ist. Wenn die Wirkung desjenigen Faktors aufgehoben wird, der im natürlichen offenen System der experimentellen Verdünnungsrate entspricht, dann muß die Zellzahl durch ein zusätzliches Verfügbarwerden vorhandener Nährstoffe bis auf den Wert ansteigen, der in Abb. 2 durch den Schnittpunkt von  $\bar{x}$  mit der Ordinate ( $D = 0$ ) gegeben ist. Zugleich muß sich die qualitative Zusammensetzung der natürlichen Population ändern und eine große Zahl von Mikroorganismen mit Nährstoffansprüchen, die der neuen Situation angepaßt sind, zur Entwicklung kommen. Diese Interpretation des genannten Phänomens läßt die Frage noch offen, welcher Faktor oder welche Summe von Faktoren im natürlichen Substrat der Verdünnungsrate der homokontinuierlichen Kultur gleichzusetzen ist.

Das methodische Problem ist also, einen experimentellen Weg zu finden, der ökologische Untersuchungen im unveränderten Fließsystem des natürlichen Substrates erlaubt. Möglichkeiten dazu bietet die homokontinuierliche Kultur mit ihren zeitlichen Unabhängigkeit und Konstanz aller Faktoren, die in festen, mathematisch zu behandelnden Beziehungen zueinander stehen. Werden die wichtigsten Wachstumsfaktoren eines Substrates im Chemostaten reproduziert, dann muß sich in diesem System eine Einzelzelle genau so wie am natürlichen Standort verhalten. Die Reinkultur stellt in diesem Falle kein störendes Artefakt dar, sondern eine Vervielfältigung der zu untersuchenden Einzelzelle, deren Reaktionen dabei unverändert bleiben. Auf diese Weise kann die momentane Aktivität einer Einzelzelle aus einer natürlichen Population reproduziert und gemessen werden, was in statischer Kultur nicht möglich ist.

Einige derartige Untersuchungen sind über die Ökologie mariner Spirillen vorgenommen worden (JANNASCH 1962). Von der Voraussetzung ausgehend, daß die Nährstoffbedürfnisse für die Verbreitung heterotropher Mikroorganismen ausschlaggebend sind, wurde der minimale Bedarf — zunächst an einer Stickstoffquelle — im Chemostaten untersucht. In Gegenwart einer festgelegten Verdünnungsrate ( $D$ ) wurde die Konzentration der N-Quelle im zufließenden Medium ( $s_r$ ) stufenweise herabgesetzt, bis die Population ausgewaschen wurde (Abb. 3 u. 4) d. h. bis  $D_c$  mit  $D$  zusammenfiel. Diese „Schwellenkonzentration“ des wachstumsbegrenzenden Nährstoffes für die Vermehrung der Spirillen ist einmal von dessen Wachstumskonstanten zum anderen von der Verdünnungsrate abhängig. Obwohl die im Experiment benutzte Verdünnungsrate ( $D = \frac{1}{2} \mu_m$ ) sicher weit höher ist als der ihr entsprechende Effekt im natürlichen

<sup>1)</sup> Der Ausdruck „Populationsdynamik“ wird in der Mikrobiologie häufig nur in bezug auf mutative und selektive Vorgänge in einer Reinkultur gebraucht. Hier gilt seine allgemeine Bedeutung.



Medium, lag der experimentell bestimmte Schwellenwert für die Substratkonzentration bereits über dem theoretisch errechneten<sup>2)</sup>. Bei geringeren Verdünnungsraten muß diese Differenz größer werden und schließlich im Punkte  $D = 0$  einen absoluten Schwellenwert erreichen, der unabhängig von der Verdünnungsrate ist. In statischer Kultur kann auf Grund der ständig abnehmenden Substratkonzentration die Schwellenkonzentration nur bei kurzzeitigen Versuchen und geringsten Populationsdichten — und auch dann nur annähernd — gemessen werden (JANNASCH 1958).

Wurde der Chemostat mit sterilfiltriertem Seewasser gespeist, dann konnten die Spirillen ohne Zusatz einer Stickstoffquelle nicht zur Vermehrung gebracht werden. Das zeigt, daß die Konzentration des gebundenen Stickstoffes im natürlichen Medium den relativen und absoluten Schwellenwert nicht erreicht. Isolierungsversuche bestätigen, daß sich das Vorkommen des untersuchten Organismus auf Zonen im Litoral und Benthos beschränkt, wo ein intensiver Abbau von Algensubstanzen vorsichgeht. In diesem Beispiel ist also die Verbreitung eines Organismus im Seewasser autökologisch mit Hilfe der experimentellen Bestimmung seiner Wachstumskonstanten untersucht worden.

Bei synökologischen Untersuchungen tritt der selektive Charakter des homokontinuierlichen Kultursystems besonders hervor. Wie an anderer Stelle eingehend behandelt worden ist (HERBERT 1958, POWELL 1958, PFENNIG u. JANNASCH 1962), muß sich im Kulturgefäß aus einer gemischten Population automatisch derjenige Organismus anreichern, der unter den gegebenen Bedingungen die größte Wachstumsrate entwickelt. Theoretisch führt diese Anreicherung zur Reinkultur. Dieser Effekt hängt nicht nur von den Wachstumskonstanten ab, sondern auch von der Verdünnungsrate. Das bedeutet, daß durch Änderung der Verdünnungsrate verschiedene Organismen aus derselben Rohkultur angereichert werden können. Weiterhin geht daraus hervor, daß Verunreinigungen eine geringere Rolle spielen als bei statischen Kulturen. Sie werden von selbst eliminiert, wenn ihre Wachstumsrate unter den gegebenen Bedingungen niedriger ist als die des Kulturorganismus, oder sie können durch Änderung der Wachstumsbedingungen außer Konkurrenz gesetzt und damit ausgewaschen werden.

Steht der angereicherte Organismus ernährungsphysiologisch in Beziehung zu einem zweiten, dann muß diese Vergesellschaftung auch in homokontinuierlicher Kultur erhalten bleiben. Damit ist ein Weg zur Aufdeckung solcher Beziehungen gegeben. Wird andererseits ein heterogenes Substrat von verschiedenen Organismen in einer zeitlichen Folge zum Wachstum verbraucht, dann lassen sich die verschiedenen Abbauphasen auf hintereinander geschaltete Kulturgefäße verteilen. ABSON u. TODHUNTER (1961) beschreiben die Anwendung eines solchen stufenweisen Abbaus in der Praxis. In der Ökologie ist von dieser Möglichkeit der räumlichen Trennung metabiotischer Partner und Vorgänge bisher noch kaum Gebrauch gemacht worden.

Ein spezielles Problem ist die kontinuierliche Kultur von sessilen Bakterien, Pilzen und Algen, die bei der Aufwuchsbildung eine Rolle spielen. Diese Organismen eignen sich nicht zur Kultur im homokontinuierlichen System, weil sie nicht homogen durchmischt und kontinuierlich ausgewaschen werden können. Ein neues Verfahren zur Messung des Wachstums solcher Organismen im Fließsystem wird zur Zeit ausgearbeitet.

<sup>2)</sup> Wird die Population ausgewaschen, dann gilt (s. o.):  $D_c = \mu_m \frac{s_r}{K_s + s_r}$  oder  $s_r = K_s \frac{D_c}{\mu_m - D_c}$ .  
Wenn  $D_c$  bei  $\frac{1}{2}\mu_m$  liegt, dann ist  $s_r = K_s$ .

## Diskussionsbeitrag

Zu Vortrag: JANNASCH. Die kontinuierliche Kultur in der experimentellen Ökologie mariner Mikroorganismen

Frage (K. KALLE):

Zu Beginn meiner ozeanographischen Tätigkeit vor etwa 30 Jahren standen wir immer wieder verwirrt vor der Tatsache, daß die mikrobiologischen und chemischen Vorgänge in Flaschenexperimenten gänzlich andersartig verlaufen als im offenen Meer. Wir waren daher sehr froh, als die Mikrobiologen die Theorie des „Oberflächeneffektes“ aufstellten, nach der die Flaschenwand den Bakterien einmal als notwendige Verankerungsfläche und zum anderen infolge der „Oberflächenkräfte“ als Mittel zur Anreicherung der im Meerwasser in großer Verdünnung vorkommenden Nährstoffe dienen sollte. Nach den soeben vorgetragenen eindrucksvollen und neuartigen Versuchsergebnissen erhebt sich nun die Frage, ob diese älteren Erklärungsversuche des Oberflächeneffektes heute noch Gültigkeit besitzen oder ob es besser ist, sie nicht mehr anzuwenden.

Antwort (H. W. JANNASCH):

Obwohl nur indirekte Beweise vorliegen, ist es sehr wahrscheinlich, daß ein Adsorptionseffekt in den Probenflaschen — besonders in den späteren Phasen der Populationsentwicklung — ebenfalls wirksam wird. Während dieser Effekt jedoch zeitlich verzögert und von der Art des Substrates und seiner Affinität zu der jeweiligen Oberfläche abhängig ist, handelt es sich bei dem beschriebenen populationsdynamischen Vorgang um ein grundsätzliches Phänomen, das unmittelbar nach der Probenentnahme auftritt, wenn am natürlichen Standort ein Fließgleichgewicht geherrscht hat. Das Phänomen tritt deshalb besonders ausgeprägt in Hochseewasser in Erscheinung, wo die Bedingungen im allgemeinen konstanter sind als in Küstengewässern oder im Süßwasser. Sicherlich kann ein Erklärungsversuch, der nur einen Faktor berücksichtigt, bei einem solchen komplexen Phänomen nicht ausreichend sein. Meiner Ansicht nach steht aber in diesem Falle der populationsdynamische Vorgang im Vordergrund.

## Literaturverzeichnis

- ABSON, J. W. u. K. H. TODHUNTER, 1961: Plant for continuous biological treatment of carbonisation effluents. In: Soc. Chem. Ind. Monograph Nr. 12, London. — HERBERT, D., 1958: Some principles of continuous culture. 7. Int. Congr. Microbiol. Symp., Stockholm. — HERBERT, D., R. ELSWORTH u. R. C. TELLING, 1956: The continuous culture of bacteria: a theoretical and experimental study. J. gen. Microbiol., 14, 601—622. — HINSELWOOD, C. N., 1946: The chemical kinetics of the bacterial cell. Clarendon Press, Oxford. — JANNASCH, H. W., 1958: Schwellenkonzentrationen verschiedener Stickstoffquellen für die Vermehrung einiger Bakterien aus nährstoffarmen Gewässern. Arch. Mikrobiol. 31, 114—124. — JANNASCH, H. W., 1957: Die bakterielle Rotfärbung der Salzseen des Wadi Natrun (Ägypten). Arch. Hydrobiol. 53, 425—433. — JANNASCH, H. W., 1962: Studies on the ecology of a marine *Spirillum* in the chemostat. 1. Int. Symp. Mar. Microbiol., C. C. Thomas Publ., Springfield, Ill. — KETCHUM, B. H. u. A. C. REDFIELD, 1938: A method for maintaining a continuous supply of marine diatoms by culture. Biol. Bull., 75, 165—169. — MONOD, J., 1942: Recherches sur la croissance des cultures bactériennes. Hermann, Paris. — MONOD, J., 1950: La technique de culture continue; théorie et applications. Ann. Inst. Pasteur 79, 390—410. — NOVICK, A. u. L. SZILARD, 1950: Description of the chemostat. Science 112, 715—716. — PALMER, F. E. u. E. J. ORDAL, 1961: Steady-state enrichment cultures of aquatic and marine microorganisms. Bact. Proc. 45. — PFENNIG, N. u. H. W. JANNASCH, 1962: Die biologischen Grundlagen bei der homokontinuierlichen Kultur von Mikroorganismen. Ergebnisse der Biologie 25, Springer, Berlin, 93—136. — POWELL, E. O., 1958: Criteria for growth of contaminants and mutants in continuous culture. J. gen. Microbiol., 18, 259—268.