

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.

Taxonomische Untersuchungen an sternbildenden *Agrobacterium*-Arten aus der westlichen Ostsee¹⁾

VON RENATE AHRENS

Zusammenfassung: Aus der westlichen Ostsee wurde eine Reihe sternbildender Bakterien isoliert und taxonomisch untersucht. 28 Stämme wurden zur Gattung *Agrobacterium*, Familie Rhizobiaceae, gestellt. Einige braune, rote und gelbe Isolierungen ließen sich den Arten *Agrobacterium stellulatum* STAPP und KNÖSEL 1954 sowie *A. ferruginum*, *A. sanguineum* und *A. luteum* AHRENS und RHEINHEIMER 1967 zuordnen. Für 4 weitere Arten werden die Namen *A. agile nov. spec.*, *A. gelatinovorum nov. spec.*, *A. kieliense nov. spec.* und *A. aggregatum nov. spec.* vorgeschlagen. Morphologie, Sternbildung und Physiologie der *Agrobacterium*-Arten werden beschrieben. DNS-Basenanalysen bei 5 Stämmen ergaben G+C-Werte zwischen 57 und 64 Mol%.

Taxonomic studies on star-forming *Agrobacterium* spp. from the Western Baltic (Summary): From the Western Baltic a number of star-forming bacteria were isolated in pure culture and classified. 28 strains were included within the genus *Agrobacterium*, family Rhizobiaceae. Of these several brown, red and yellow isolates could be assigned to the species *Agrobacterium stellulatum* STAPP and KNÖSEL 1954 and *A. ferruginum*, *A. sanguineum* or *A. luteum* AHRENS and RHEINHEIMER 1967. For another 4 strains the following names are proposed: *A. agile nov. spec.*, *A. gelatinovorum nov. spec.*, *A. kieliense nov. spec.*, and *A. aggregatum nov. spec.* Morphology, star-formation and physiology of the *Agrobacterium* spp. are described. The DNA base composition of five strains was found to range from 57 to 64 moles per cent guanine plus cytosine.

Einleitung

Stäbchenförmige Bakterien, deren Zellen sich polar zu Stern- oder Rosettenformen zusammenlagern, sind in der westlichen Ostsee sehr verbreitet. In einer früheren Veröffentlichung (AHRENS und RHEINHEIMER, 1967) wurden 2 sternbildende Stämme mit braunen und je einer mit roten und gelben Kolonien beschrieben und der Gattung *Agrobacterium* zugeordnet. Die vorliegende Arbeit behandelt nun weitere *Agrobacterium*-Stämme, die teils in die bereits beschriebenen Arten fallen, teils neu benannt werden.

Im Wasser der Kieler Bucht findet man Rosettenbildner besonders häufig unter braun pigmentierten Bakterien, die auf ZoBell-Agar kleine weißumsäumte Kolonien ausbilden. Diese machten wiederholt 90% der Gesamtkeimzahl aus. Von 39 untersuchten Kolonien dieses Typs erwiesen sich 16 als sternbildend und konnten bis auf eine den Arten *A. stellulatum* STAPP und KNÖSEL 1954 und *A. ferruginum* AHRENS und RHEINHEIMER 1967 zugeordnet werden.

Es lag nahe, auch unter abweichenden bräunlichen Organismen nach Sternformen zu suchen, ferner unter solchen, die ähnlich gestaltete Kolonien anderer Färbung ausbilden.

Braune Bakterien wurden in größerer Zahl im Elbeästuar und in verschiedenen Teilen der Ostsee gefunden, vereinzelt auch in der Nordsee, dem Mittelmeer und dem Persischen Golf. Eine Reihe von ihnen wies Sternformen auf, besonders solche Stämme, deren Wuchsform an *A. stellulatum* und *A. ferruginum* erinnerte, jedoch ließen sich nur einige weitere Ostsee-Stämme in die Gattung *Agrobacterium* stellen. Eine einheitliche Bakterien-Gruppe aus Bachwasser wich völlig ab.

¹⁾ Erster Teil der Dissertation: „Taxonomische und ökologische Untersuchungen an sternbildenden Bakterien aus der Ostsee“ (gekürzt). Die Arbeit wurde bei Herrn Prof. Dr. Rheinheimer, Mikrobiologische Abteilung des Instituts für Meereskunde, angefertigt. Die Untersuchungen wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

Farblose, gelbe und rote Rosettenbildner konnten aus Wasser- und Sedimentproben, besonders aber von Algenmaterial isoliert werden und zum Teil ebenfalls der Gattung *Agrobacterium* zugeordnet werden.

Die *Agrobacterium*-Stämme aus der westlichen Ostsee werden zunächst beschrieben und teilweise neu benannt. Anschließend werden grundlegende Züge ihrer Wuchsform, Zellmorphologie, Sternbildung und Physiologie behandelt sowie einige DNS-Basenanalysen. Die taxonomische Zuordnung wird diskutiert.

Methoden

Isolierung von Sternbildnern:

Sternbildende Bakterien lassen sich aus der westlichen Ostsee isolieren, indem man etwas Material einer Wasser-, Sediment- oder Algenprobe auf Agarplatten (ZoBell 2216 E) austreibt oder mit Weichagar vermischt. Man bebrütet die Platten 1 bis 2 Wochen und untersucht dann kleine knopfartige Kolonien, die im Zentrum intensiver gefärbt sind als am Rand, auf Rosettenformen. Zarte fädige Algen schüttelt man am besten mit sterilen Glasperlen, bevor man von dem Wasser Agarplatten ansetzt. Die Anreicherung von Sternbildnern in nährstoffreichen Proben oder in organischen Nährlösungen gelingt nicht, weil sie hier von raschwüchsigen Fäulnisbakterien überwuchert werden.

Züchtung und Aufbewahrung

Die Stämme werden auf ZoBell-Schrägagar gehalten und alle 4—6 Wochen abgeimpft. Es ist zweckmäßig, Röhrchen mit Schraubdeckel zu verwenden, da die untersuchten Organismen empfindlich gegenüber Austrocknung sind. Die Kulturen werden bei 10—20°C aufbewahrt.

Flüssige Kulturen sind zum Aufbewahren nicht geeignet, da sie rascher absterben als Schrägagarkulturen. Wohl aber überleben die Stämme mehrere Monate, wenn man eine gewaschene Zellsuspension in ein Gefäß mit mindestens 300 ml sterilem (autoklaviertem oder filtriertem) Seewasser überführt.

Will man von einer älteren Agarkultur eine flüssige Kultur anlegen, so empfiehlt es sich, eine Passage über Schrägagar einzuschleiben, da auf diese Weise die kompakten Zellaggregate zerrieben werden und einzelne jüngere Zellen zur Entwicklung gelangen.

Die Mehrzahl der Stämme ließ sich lange Zeit in luftdicht verschlossenen Röhrchen aufbewahren. Hierzu wurden kurze Schraubröhrchen (7,5 cm lang) bis zum Rand mit ZoBell-Agar gefüllt, nach dem Autoklavieren mit einem Stich beimpft und fest zugeschraubt. Sobald Wachstum einsetzte, wurden sie in einen 10°C-Kühlschrank gebracht. So angelegte anaerobe Kulturen waren durchweg 1—2 Jahre haltbar.

Neuerdings werden die Kulturen gefroren getrocknet und bei 10°C aufbewahrt.

Die Methoden für die morphologische und physiologische Untersuchung wurden in einer früheren Veröffentlichung aufgeführt (AHRENS und RHEINHEIMER, 1967). Darüber hinaus fanden folgende Tests Anwendung:

Ammoniakbildung aus Pepton:

Das anfänglich verwendete Medium nach HAYES (1963) ermöglicht nur schwache Entwicklung; offenbar ist es zu konzentriert. Wachstum und Ammoniakbildung sind in dem Medium für Prüfung auf Nitratreduktion (ANDERSON, 1962) besser; zum Nachweis der Ammonifikation wird es freilich ohne Nitrat angesetzt. Am besten führt man beide Tests gleichzeitig durch. Die in Tab. 4 angegebenen negativen Ergebnisse stammen aus dem Ansatz nach HAYES.

Phenolabbau:

Methode von GRAY und THORNTON (1928) nach einer Modifikation von SKERMAN (1959, S. 146).

Kohlenhydrat-Abbau:

ANBERSON (1962); später LEIFSON (1963, MOF-Medium). Das zweite Medium lieferte konstantere Ergebnisse.

Zellulose-Abbau:

Plattentest: Medium nach OPPENHEIMER (1964, S. 17); Zellulosesuspension nach SKERMAN (1959, S. 156).

Streifentest: Medium nach OPPENHEIMER (1964, S. 17); Schleicher und Schüll Chromatographiepapier 2043b Mgl.

Chitinspaltung:

ZoBell-Agar 2216 E wurde mit einer sterilen Chitinsuspension vermischt und in Platten gegossen. Um chitinspaltende Kolonien entstehen klare Höfe. (Chitin Koch-Light-Laboratories, Ltd., Colnbrook, England; Herstellung einer feinen Suspension nach PAECH und TRACEY Bd. II, 1955, S. 273f.).

Alginat-Abbau:

(vgl. RUSCHKE und RATH, 1966) Prüfung auf reduzierende Zucker (Fehlingsche Lösung) in ZoBell-Nährlösung (entspricht Medium 2216 E ohne Agar), der 1% Na-Alginat zugesetzt wurde. (Na-Alginat Protanal SF 200 der Firma Protan, Drammen, Norwegen).

Wachstum auf Mannitagar:

Der Agar besteht aus: 20 g Mannit, 1 g K_2HPO_4 , 1 g NH_4NO_3 , 20 g Agar, 750 ml gealtertem Seewasser und 250 ml dest. Wasser, pH 7,8. Er dient dazu festzustellen, ob Mannit als einzige C-Quelle verwendet werden kann (vorausgesetzt, daß nicht der Agar selbst angegriffen wird).

Wachstum in Medien aus Algen, Möhren und Fisch:

Entsprechend dem Möhrenmedium von STAPP und BORTELS (1931, s. Angaben von BRAUN und ELROD, 1946) wurden Extrakte bzw. Agarmedien aus *Fucus vesiculosus*, *Enteromorpha spec.*, *Laminaria saccharina* und Möhren bereitet, ferner eine Fischbouillon aus Hering.

Kardinalpunkte der Temperatur, des Salzgehaltes und Reaktion:

Trübungsmessung in ZoBell-Nährlösung (Eppendorf Photometer mit Nephelometer-Zusatz, Filter 546 nm, 1 cm Küvetten). Zur Bestimmung der Salzabhängigkeit wurde die Nährlösung mit Leitungswasser hergestellt und mit entsprechenden Mengen NaCl (Sonnensalz) versetzt. Daneben wurden auch hinsichtlich ihres Salzgehaltes verschiedene ZoBell-Nährlösungen mit Nordseewasser hergestellt, das in unterschiedlichem Maße verdünnt bzw. konzentriert worden war.

DNS-Basenanalysen:¹⁾

Hochgereinigte Bakterien-DNS wurde nach der Vorschrift von MARMUR (1961) gewonnen. Zur Anzucht der Zellen bewährten sich Rührkulturen von je 1,5 Liter ZoBell-Medium in 2 -Liter-Steilbrustflaschen. Die Bestimmung der DNS-Basenzusammensetzung erfolgte nach WYATT (1951) und WYATT und COHEN (1953) folgendermaßen: Jeweils 1—1,5 mg gereinigte DNS wurden in 6×100 mm Röhrchen mit 5 ml 98% Ameisensäure 30 Minuten bei 175°C hydrolysiert. Das Hydrolysat wurde getrocknet, in 40—80 μ l n HCL aufgenommen und aufsteigend mit Isopropanol/HCl chromatographiert (100 ml Laufmittel enthielten 65 ml abs. Isopropanol und 0,2 Mol HCl) (Papier Schleicher und Schüll 2043b Mgl). Die Chromatogramme trockneten über Nacht bei Zimmertemperatur. Die Flecke wurden gegen UV-Licht von 254 nm

¹⁾ Frau Dr. Kramer, Institut für Physiologische Chemie der Universität Kiel, erteilte wichtige Ratschläge für die Durchführung der DNS-Basenanalysen, wofür ich herzlich danke.

identifiziert (Camag Universal UV-Lampe Typ TL -900, Muttenz, Schweiz), einige Stunden mit je 5 ml 0,1 n HCl eluiert und mit Hilfe des Spektralphotometers Zeiss PM QII quantitativ ausgewertet. Das Verhältnis der Extinktionen bei 280 nm und 260 nm ist eine für jede Base spezifische Kenngröße (S. HARBERS et al., 1964). Die Basenmengen errechnen sich aus einem Extinktionswert nahe dem Maximum und dem zugehörigen millimolaren Extinktionskoeffizienten, der aus der Literatur zu entnehmen ist (HARBERS et. al., 1964, S. 21). Tab. 1 stellt am Beispiel *Agrobacterium luteum* A 61 eine Auswertung dar.

Beschreibung der Stämme

Die wichtigsten Merkmale der *Agrobacterium*-Stämme aus der westlichen Ostsee werden entsprechend den Angaben in BERGEY's Manual stichwortartig zusammengefaßt und in Tab. 4 gegenübergestellt.

Agrobacterium stellulatum STAPP und KNÖSEL 1954

Stämme: A 1, A 4, A 5, A 6, A 12, A 17, A 23, A 29

Von den 39 typischen braunen Isolierungen aus Wasser der Kieler Bucht entfallen 10 sternbildende Formen auf die Art *A. stellulatum*, von denen noch 8 in Kultur gehalten werden. 3 von ihnen zeigen gelegentlich Beweglichkeit. Die Anordnung der Geißeln ist meist polar, kann aber wegen des geringen Prozentsatzes an beweglichen Zellen nicht eindeutig bestimmt werden.

Weitere 22 der 39 braunen Isolierungen bilden unter Laborbedingungen keine Rosetten aus, sind also nicht ohne weiteres als *Agrobacterium*-Stämme anzusprechen. Da sie aber in allen übrigen Merkmalen mit dem sternbildenden *A. stellulatum* übereinstimmen, sind sie dennoch zu dieser Art zu stellen. Möglicherweise sind auch diese Stämme in ihrem natürlichen Milieu zur Sternbildung in der Lage. Werden sie mit berücksichtigt, so lautet die Beschreibung der Art folgendermaßen:

Stäbchen, gerade oder schwach gekrümmt, $0,4-0,9 \times 1-5 \mu$, meist $0,6-0,8 \times 1,3-2 \mu$.

Pole rund bis spindelig. Teilung durch Querwandbildung oder Einschnürung. Diploformen, Fadenzellen, gelegentlich Verzweigungen. Einige Stämme beweglich durch 1-8 meist polare Geißeln, bis 9 μ lang, Wellenlänge meist 2,6-2,8 μ . Einige Stämme intensiv sternbildend.

Agarkolonien (ZoBell 2216 E) rund, flachkonvex, ganzrandig, zunächst farblos glasklar, später trüber und leicht opalisierend, schließlich mit trübem schokoladenbraunem Zentrum und hellem Rand. Maximal 2 mm Durchmesser.

Agarstich (Kohlenhydratagar): Wachstum farblos, erinnert an Wattebausch. Bewegliche Stämme bilden einen gleichmäßigen Wachstumsschleier aus.

Flüssige Kultur: gleichmäßige Trübung, ockerfarbenes schleimiges Sediment. Gute Sternbildner wachsen am Glas, bilden einen Ring aus runden Kolonien und eine Haut.

Gramnegativ; die Zellen sind nicht säurefest.

Keine Endosporenbildung

Oxydase: +

Katalase: +

Fakultativ anaerob.

Gelatinestich: keine Verflüssigung; braune perlartige Kolonien im Stich.

Gelatineplatte: keine Hydrolyse

H₂S aus Pepton + Cystein: —

NH₃ aus Pepton: wenig (wurde bisher negativ bewertet)

NH₃ aus Harnstoff: —

Lackmusmilch: kein Wachstum
 Nitrat: regelmäßig schwache Reduktion zu Nitrit
 Sulfatreduktion: kein Wachstum
 Anorganisches N-Medium: kein Wachstum
 Stärke, Zellulose, Inulin, Chitin, Alginat: kein Abbau
 Oxydativ weder Säure noch Gas aus Glucose, Fructose, Mannose, Xylose, Maltose, Glycerin, Dulcit, Sorbit, meso-Inosit, Raffinose, Salicin. Aus Galactose, Arabinose, Mannit, Adonit, Rhamnose, Trehalose in einzelnen Fällen oxydative Säurebildung ohne Gas.
 Methylrot- und Voges-Proskauer-Reaktion: —
 Mannitagar: Wachstum dürftig oder fehlend
 Indol: —
 1% Phenol: keine Entwicklung
 Kartoffelkeil: kein Wachstum
 Möhrenmedien (flüssig oder als Agar): kein Wachstum
 Laminaria-Extrakt oder -agar: kein Wachstum
 Fischbouillon: kein Wachstum
 Anspruchslos, überlebt mehrere Monate in Meerwasser.
 Temperatur: Optimum 22—25°C. Unter 10°C sehr langsame Entwicklung. Maximum um 30°C.
 Salz: Optimum zwischen 10 und 30‰. Maximum zwischen 70 und 100‰. Obligat halophil.
 pH: gute Entwicklung zwischen pH 6,5 und 8,5.
 DNS-Basenverhältnis: 57 Mol% G + C
 Vorkommen: Kieler Bucht, sehr verbreitet.
 Stamm A 5 isoliert aus Wasser von Breitgrund.

Agrobacterium Stamm A 80

Stamm A 80 ist in die Nähe von *A. stellulatum* zu stellen, weicht aber durch die blasse Pigmentierung und die sehr unregelmäßige Zellform ab.
 Stäbchen, 0,7—0,9 μ breit, 0,8—3 μ lang oder beträchtlich länger. Fadenzellen. Pole abgerundet. Rosetten, Raupenformen. In ZoBell-Nährlösung Zellen größtenteils deformiert (bacterioide Formen), unbeweglich, Rosetten erinnern an Brombeeren. In Fischbouillon Rosetten aus schlanken Stäbchen, bewegliche Zellen. Der Nachweis der Geißeln gelang nicht.
 Agarkolonien (ZoBell 2216E) bei der Isolierung blaßbeige, bei weiterer Züchtung farblos, leicht durchscheinend, rund, konvex, ganzrandig mit glatter glänzender Oberfläche. In 5 Tagen bis zu 1 mm groß, in 14 Tagen bis 1,5 mm. Keine Entwicklung auf Leitungswasseragar.
 Agarstich (Kohlenhydratagar): gleichmäßiger Wachstumsschleier.
 Flüssige Kultur: Trübung, Haut, Sediment.
 Gramnegativ.
 Oxydase: +
 Katalase: +
 Fakultativ anaerob
 Gelatinestich: keine Verflüssigung, perlartiges Wachstum.
 H₂S aus Pepton + Cystein: —
 Ammoniak aus Pepton: —
 Harnstoffspaltung: —
 Nitrat wird zu Nitrit reduziert.

Anorganisches N-Medium: kein Wachstum.
Stärke, Zellulose, Chitin, Alginat: kein Abbau.
Oxydativ weder Säure noch Gas aus Glucose, Fructose, Xylose, Maltose, Glycerin.
Fermentativ weder Säure noch Gas aus Glucose.
Methylrot- und Voges-Proskauer-Reaktion: —
Indol: —
Isoliert aus Ostseewasser (Darßer Schwelle), S 19,5‰

Agrobacterium ferrugineum AHRENS und RHEINHEIMER 1967

Stämme: A 7, A 3, A 10, A 13, A 43.

In diese Art fallen 5 der 39 braun pigmentierten Stämme, im Verhältnis zu *A. stellulatum* also vergleichsweise wenige. Beide Arten sind sehr ähnlich. *A. ferrugineum* weicht nur in folgenden Punkten von *A. stellulatum* ab: Die Pigmentierung ist dunkler. Auf Süßwassermedien ist schwaches Wachstum möglich. Nitrat wird nicht reduziert. Der Kohlenhydratstoffwechsel ist intensiver. In Laminaria-Medien erfolgt bei dürftiger Entwicklung gute Sternbildung. — Der Typ der Art ist Stamm A 7 (AHRENS und RHEINHEIMER, 1967). Beweglichkeit tritt nur bei Stamm A 43 regelmäßig auf. Stamm A 3 konnte ein U-Rohr nur im absteigenden Schenkel durchwachsen, ist also unbeweglich. Stäbchen, gerade oder schwach gekrümmt, 0,5—1,1 μ breit, 1,5 μ lang oder erheblich länger. Pole rund oder leicht spindelig, gelegentlich keulenförmig angeschwollen. Nur zum Teil beweglich durch eine Geißel unterschiedlicher Anordnung. Zellen einzeln oder paarweise, gelegentlich gekreuzt. Verzweigungen. Rosetten.
Agarkolonien (ZoBell 2216 E) rund, flachkonvex, ganzrandig. Anfangs farblos, später leicht milchig, opalisierend, schließlich mit kräftigbraunem trübem Zentrum und weißem Saum. Bis zu 2 mm groß.
Agarstich (Kohlenhydratagar): Neigung zu fein verästeltem Wachstum, im Agar weiß, an der Oberfläche schokoladenbraun.
Flüssige Kultur: Trübung, ockerfarbenes schleimiges Sediment, Wachstum am Glas, Ring aus runden Kolonien, Haut.

Gramnegativ; nicht säurefest.

Keine Endosporenbildung.

Oxydase: +

Katalase: +

Fakultativ anaerob, bevorzugt aerob.

Gelantinstich: keine Verflüssigung, große runde Kolonien, braun mit weißem Saum.

Gelatineplatte: keine Hydrolyse.

H₂S aus Pepton + Cystein: —

NH₃ aus Pepton: wenig

NH₃ aus Harnstoff: —

Lackmusmilch: kein Wachstum

Nitrat: keine Reduktion

Sulfatreduktion: —

Anorganisches N-Medium: kein Wachstum

Stärke, Zellulose, Inulin, Chitin, Alginat: kein Abbau

Oxydative Säurebildung ohne Gas aus: Fructose, Xylose, Maltose, Trehalose, Glycerin, und in geringem Maße aus Glucose. Mannose, Galactose, Sorbit, Mannit, Adonit, meso-Inosit und Salicin werden z. T. oxydativ gesäuert. Keine Oxydation von Arabinose, Dulcitol, Raffinose.

Methylrot- und Voges-Proskauer-Reaktion: —

Mannitagar: wenig Wachstum

Indol: —
 1% Phenol: kein Wachstum
 Kartoffelkeil: kein Wachstum
 Möhrenmedien (flüssig oder als Agar): kein Wachstum
 Laminaria-Extrakt oder -agar: dürftiges Wachstum, intensive Resettenbildung. Anspruchslos, überlebt mehrere Monate in Meerwasser.
 Temperatur: Optimum um 22°C. Unter 10°C sehr langsame Entwicklung. Maximum unterhalb 30°C.
 Salz: Optimum zwischen 10 und 30‰. Ohne Salz schwaches Wachstum möglich. Maximum um 50‰.
 pH: gute Entwicklung zwischen pH 6,5 und 8,5.
 DNS-Basenverhältnis: 60 Mol% G + C
 Vorkommen: Kieler Bucht, verbreitet.
 Stamm A 7 isoliert aus Wasser von Breitgrund.

Agrobacterium luteum AHRENS und RHEINHEIMER 1967

Stämme A 61, B 14.

Bei der Definition der Art lag Stamm A 61 als Typ zugrunde (AHRENS und RHEINHEIMER, 1967). Stamm B 14 weicht unwesentlich hiervon ab: Die Begeißelung ist „degeneriert peritrich“ (häufig 1—3, seltener bis zu 8 Geißeln unterschiedlicher Anordnung). Auf Leitungswasseragar zeigt Stamm A 61 keine Entwicklung, bei Stamm B 14 setzt verspätet schwaches Wachstum ein. Während A 61 sehr wenig Nitrit aus Nitrat bildet, erfolgt bei B 14 Reduktion zu Ammoniak. Im übrigen besteht Übereinstimmung.

Eiförmige langgestreckte Stäbchen, 0,4—0,8 μ breit, 1—7 μ lang, gerade oder leicht gekrümmt. Fadenzellen. Verzweigungen. Vermehrung meist eine Kombination aus Querteilung und Einschnürung. Einzelzellen rasch beweglich. 1—8 Geißeln unterschiedlicher Anordnung. Länge 3—9 μ . Wellenlänge schwankend, häufig um 2—2,2 μ . Lange polare Fimbrienbüschel.

Agarkolonien (ZoBell 2216 E) langsam wachsend, rund, ganzrandig, anfangs blaßgelb, glasklar, konvex mit glatter glänzender Oberfläche, später zitronengelb, trüb, matt, erhaben mit schmalen terrassenförmigem Rand, maximal 1 mm groß. Auf Leitungswasseragar Entwicklung schwach oder fehlend.

Agarstich (Kohlenhydratagar): Tendenz zu fein verästeltem Wachstum.

Flüssige Kultur: wenig Trübung, feste Wachstumsschicht am Glas, Ring aus runden Kolonien, Haut.

Gramnegativ.

Oxydase: +

Katalase: +

Fakultativ anaerob, bevorzugt aerob.

Gelatinestich: kein Abbau, Wachstum im Stich perlartig

H₂S aus Pepton + Cystein: —

NH₃ aus Pepton: wenig

Nitratreduktion: sehr wenig Nitrit; ein Stamm bildet NH₃

Anorganisches N-Medium: kein Wachstum

Stärke, Zellulose, Chitin, Alginat: kein Abbau

Oxydativ weder Säure noch Gas aus Glucose, Fructose, Maltose, Glycerin. Aus Xylose wenig oder keine Säure.

Methylrot- und Voges-Proskauer-Reaktion: —

Indol: —

Fischbouillon: ein Stamm gedeiht (B 14)

Fucusextrakt: keine Entwicklung

Temperatur: Optimum 30°C. Wachstum unter 10°C sehr langsam. Maximum um 37°C.

Salz: Optimum 10‰. Ohne Salz wenig oder kein Wachstum. Maximum um 50‰.

pH: günstigster Bereich pH 6,5—8,5. Optimum um pH 8,0.

DNS-Basenverhältnis: 57 Mol% G + C

Isoliert: Ostsee

Agrobacterium sanguineum AHRENS und RHEINHEIMER 1967

Stämme: A 91, A 92, A 87, A 88, A 89.

Als Typ der Art wurde Stamm A 91 beschrieben (AHRENS und RHEINHEIMER, 1967). A 92 ist, soweit geprüft, damit identisch. Beide Stämme wachsen in blutroten Kolonien. Drei weitere Isolierungen A 87, A 88, und A 89 weichen nur unwesentlich ab: ihr Pigment tendiert mehr nach ziegelrot, und sie zeigen in einem anorganischen Stickstoffmedium geringes Wachstum, wogegen sich A 91 und A 92 gar nicht N-auotroph entwickeln. A 89 wächst meist zu spärlich, um Nitrat merklich zu reduzieren. A 87, A 88 und A 89 werden zur Art *A. sanguineum* gestellt.

Stäbchen 0,5—1 μ breit, 0,8—4 μ lang oder länger. Pole rund oder leicht spindelig.

Neben Querteilung auch Teilung durch Einschnürung. Beweglich durch 1—2 Geißeln von degeneriert peritricher Anordnung, Länge 2—7 μ , Wellenlänge 2—4 μ . Gelegentlich polare Schleimfäden. Intensive Rosettenbildung.

Agarkolnien (ZoBell 2216 E) rund, konvex, ganzrandig mit glatter glänzender Oberfläche, zunächst fast farblos, durchscheinend mit zunehmender Rotfärbung vom Zentrum her trüber werdend. Pigmentierung ziegelrot bis blutrot, im Alter dunkelrot. Maximal 1 mm groß. Auf Leitungswasseragar kümmerliche Entwicklung.

Flüssige Kultur: Trübung, rotes Sediment, Wachstum am Glas, Ring aus roten Kolonien, Haut.

Gramnegativ

Oxydase: +

Katalase: +

Fakultativ anaerob, vorzugsweise aerob.

Gelatinestich: keine Verflüssigung, perlartiges Wachstum.

H₂S aus Pepton + Cystein: —

Ammoniak aus Pepton: + (Test nach HAYES: —)

Ammoniak aus Harnstoff: —

Nitratreduktion: wenig Nitrit

Anorganisches N-Medium: Wachstum fehlend oder schwach.

Stärke, Zellulose, Chitin, Alginat: kein Abbau

Oxydativ weder Säure noch Gas aus Glucose, Fructose, Xylose, Maltose, Glycerin.

Methylrot- und Voges-Proskauer-Reaktion: —

Indol: —

Extrakt aus Fisch bzw. Fucus: kein Wachstum

Anspruchlos, überlebt mehrere Monate in Meerwasser.

Temperatur: Optimum 30°C. Unter 10°C nur langsame Entwicklung. Maximum zwischen 37 und 40°C.

Salz: Optimum 10‰. Wachstum ohne Salz schwach, Maximum um 40‰.

pH: bestes Wachstum pH 6,5—8,5

DNS-Basenverhältnis: 64 Mol% G + C

Vorkommen: westliche Ostsee bei Salzgehalten unter 10⁰/₀₀.

Agrobacterium agile nov. spec. Stamm A 82

Der Artname geht auf die intensive Beweglichkeit zurück, die zur Ausbildung breiter Schwärmsäume führt. Trotz der polaren Begeißelung soll der Stamm nicht der Gattung *Pseudomonas* zugeordnet werden, da diese durchweg Glucose oxydiert und Nitrat reduziert (s. BERGEY, 1957). Zudem konnte bei typischen *Pseudomonas*-Arten nie mit Sicherheit Sternbildung festgestellt werden (KNÖSEL, 1962). Das DNS-Basenverhältnis ist mit 59 Mol% niedriger als das der meisten *Pseudomonas*-Arten (60—70%, s. Tab. 2) und fällt in den Bereich für die Gattung *Agrobacterium*, mit der auch im übrigen gute Übereinstimmung besteht. Art der Begeißelung, Kolonief orm und -pigmentierung, Ammoniakbildung aus Pepton, fehlende Nitratreduktion und Kohlenhydratoxydation grenzen den Stamm gegen andere *Agrobacterium*-Arten ab.

Stäbchen 0,6—0,9 μ breit, 1,2—4 μ lang, häufig 2—2,5 μ ; gerade oder leicht gekrümmt.

Pole rund oder leicht spindelig. Fadenzellen. Ketten, Klumpen, Rosetten. Rasch beweglich durch 1—3 polare Geißeln, Länge 4—5 μ , Wellenlänge 2 μ . Polare Festheftung an Glasflächen. Häufig sind zwei Zellen in ihrer Längsrichtung durch eine unsichtbare starre Substanz von 4—5 μ Länge polar verbunden. Solche Zellpaare bewegten sich rasch in ihrer Längsrichtung, wobei die Bewegungsrichtung plötzlich umgekehrt werden konnte.

Agarkolonien (ZoBell 2216 E) bei der Isolierung hellbraun, später farblos, rund, flach, durchscheinend, mit glänzender Oberfläche, intensiv schwärmend. Kolonien bis 1 mm groß, Schwärmsäume bis 2 mm breit, glatt oder fein gezähnt. Wachstum und Schwärmtätigkeit sind auf Brackwasseragar (8⁰/₀₀) am intensivsten, bei zunehmenden Salzgehalten und auf Leitungswasseragar schwächer.

Agarstich (Kohlenhydratagar): horizontale Wachstumsschichten.

Flüssige Kultur: Trübung, Wachstum am Glas, dicke Haut aus runden Kolonien, Sediment.

Gramnegativ.

Oxydase: +

Katalase: +

Fakultativ anaerob, vorzugsweise aerob.

Gelatinestich: keine Verflüssigung, perlartiges Wachstum.

H₂S aus Pepton + Cystein: —

Viel Ammoniak aus Pepton.

Nitrat: keine Reduktion

Anorganisches N-Medium: kein Wachstum

Stärke, Zellulose, Chitin, Alginat: kein Abbau.

Oxydativ weder Säure noch Gas aus Glucose, Fructose, Xylose, Maltose. Wenig Säure aus Glycerin. Fermentativ weder Säure noch Gas aus Glucose.

Methylrot- und Voges-Proskauer-Reaktion: —

Indol: —

Fakultativ halophil

DNS-Basenverhältnis: 59 Mol% G + C

Isoliert aus Ostseewasser (querab Hiddensee), S 7⁰/₀₀.

Agrobacterium gelatinovorum nov. spec., Stamm B 6

Es handelt sich um einen typischen Vertreter der Gattung *Agrobacterium*, der durch die intensive Nitratreduktion und den vollständigen Abbau von Gelatine auffällt. Die letzte Eigenschaft lag seiner Benennung zugrunde.

Stäbchen 0,8—0,9 μ breit, 2—4 μ lang, meist in der Mitte eingeschnürt, mit einem lichtbrechenden Plasmaeinschluß in jedem Abschnitt. Keine Endosporen. Pole rund oder spindelig. Teilung auch durch Einschnürung.

Starke Rosettenbildung. Beweglich durch eine meist polare Geißel von unterschiedlicher Gestalt, teilweise gestreckt, Länge 7—13 μ , Wellenlänge 1,8—4,5 $\bar{\mu}$. Rosettenzellen tragen die Geißel am zentralen oder peripheren Pol; diese Geißeln wirken häufig „curly“.

Agarkolonien (ZoBell 2216 E): milchige Kolonien mit winzigem dunklerem Zentrum, rund, ganzrandig, flachkonvex, glatt, glänzend, gegen Licht opalisierend. Nach 5 Tagen bis 1 mm groß. Auf Leitungswasseragar kein Wachstum. Beste Entwicklung auf Brackwasseragar (8⁰/₀₀).

Agarstich (Kohlenhydratagar): flockiges Wachstum.

Flüssige Kultur: wenig Trübung, Sediment.

Gramnegativ.

Oxydase: +

Katalase: +

Fakultativ anaerob.

Gelatinestich: vollständiger Abbau, trichterförmig.

H₂S aus Pepton + Cystein: —

Ammoniak aus Pepton: —

Nitrat wird vollständig zu Nitrit reduziert und in größerer Menge zu Ammoniak

Anorganisches N-Medium: kein Wachstum

Stärke, Zellulose, Chitin, Alginat: kein Abbau.

Oxydativ weder Säure noch Gas aus Glucose, Fructose, Xylose, Maltose, aber Säure aus Glycerin.

Methylrot- und Voges-Proskauer-Reaktion: —

Indol: —

Obligat halophil.

Isoliert aus Sediment der Kieler Förde.

Agrobacterium kieliense nov. spec., Stamm B 9

Der Stamm wurde aus einer Wasserprobe isoliert, die in der Nähe des Feuerschiffs Kiel entnommen worden war. Er zeigt gute Übereinstimmung mit den Gattungsmerkmalen. Wellenlänge der Geißeln, Pigmentierung, H₂S-Bildung, Nitratreduktion und die Oxydation von Kohlenhydraten führten zur Abgrenzung einer eigenen Art.

Stäbchen, 0,5—0,8 μ breit, 1,3—2,6 μ lang. Enden abgerundet. Intensive Rosettenbildung, Raupenformen. Abscheidung einer polaren Haftsubstanz. Einzelzellen lebhaft beweglich. Meist eine Geißel, polar bis subpolar, Länge 8 μ , Wellenlänge 1,3 μ .

Agarkolonien (ZoBell 2216 E) milchig, gegen Licht leicht durchscheinend und opalisierend. Nach 5 Tagen bis 1 mm groß, rund, flachkonvex, ganzrandig, mit glatter glänzender Oberfläche, in der Mitte beige getönt. Ältere Kolonien bis 2 mm groß. Auf Leitungswasseragar kleine Kolonien.

Flüssige Kultur: Wachstum am Glas; Ring aus runden Kolonien, Haut, Sediment.

Gramnegativ.

Oxydase: +

Katalase: +

Fakultativ anaerob.

Gelatinestich: keine Verflüssigung, perlartiges Wachstum.

H₂S aus Pepton + Cystein: +
 Ammoniak aus Pepton: —
 Nitrat wird zu Nitrit und Ammoniak reduziert.
 Anorganisches N-Medium: kein Wachstum.
 Stärke, Zellulose, Chitin Alginat: kein Abbau.
 Oxydative Säure, aber kein Gas aus Xylose und Glycerin. Wenig Säure aus Fructose und Maltose. Keine Säure aus Glucose.
 Methylrot- und Voges-Proskauer-Reaktion: —
 Indol: —
 Fakultativ halophil.
 Isoliert aus Wasser der Kieler Bucht (Feuerschiff).

Agrobacterium Stamm B 13

Agrobacterium Stamm B 13 ist weitgehend mit *A. kieliense* identisch, reduziert aber im Unterschied zu diesem Nitrat nur zu Nitrit und bildet keine Säure aus Maltose. Morphologisch bestehen leichte Abweichungen.

Stäbchen, 0,8—1 μ breit, 1—4,5 μ lang, meist 1 \times 2—2,5 μ . Enden abgerundet. Einfache Verzweigungen. Intensive Rosettenbildung. Beweglich durch eine, seltener zwei Geißeln in „degeneriert peritrischer“ Anordnung, Länge 6—7 μ , Wellenlänge 1,3 μ , selten bis 2 μ .

Agarkolonien (ZoBell 2216 E) sehen anfangs wie winzige glasklare Tröpfchen aus, später verfärbt sich das Zentrum beige; der Rand bleibt farblos durchscheinend und ist nicht scharf abgesetzt. Sie opalisieren gegen Licht, sind rund, konvex, ganzrandig und besitzen eine glatte Oberfläche. Nach 5 Tagen bis 1 mm groß, später maximal 1,5 mm. Auf Leitungswasseragar sehr schwaches Wachstum. Flüssige Kultur: Wachstum am Glas, flockige Trübung, Ring aus runden Kolonien, Haut, Sediment.

Gramnegativ.

Oxydase: +
 Katalase: +
 Fakultativ anaerob, vorzugsweise mikroaerophil.
 Gelatinestich: keine Verflüssigung, perlartiges Wachstum.
 H₂S aus Pepton: Cystein: ++
 Ammoniak aus Pepton: —
 Nitrat wird zu Nitrit reduziert.
 Anorganisches N-Medium: kein Wachstum.
 Stärke, Zellulose, Chitin, Alginat: kein Abbau.
 Oxydative Säure, aber kein Gas aus Xylose und Glycerin. Etwas Säure aus Fructose.
 Weder Säure noch Gas aus Glucose und Maltose.
 Methylrot- und Voges-Proskauer-Reaktion: —
 Indol: —
 Fakultativ halophil.
 Isoliert aus Wasser der Kieler Bucht (Feuerschiff).

Agrobacterium aggregatum nov. spec., Stamm B 1

Es handelt sich um eine typische *Agrobacterium*-Art, deren Name auf die intensive Ausbildung von Rosetten und Raupenformen zurückgeht. Zur Abgrenzung einer eigenen Art gaben u. a. die Ammoniakbildung, die alkalische Reaktion in Lackmusmilch, die N-Autotrophie und das Wachstum in Fischbouillon Anlaß.

Stäbchen, 0,8—1,3 μ breit, 2,4—4,5 μ lang, gerade oder leicht gekrümmt. Enden abgerundet. Gelegentlich einfache Verzweigungen. Starke Rosettenbildung, Raupenformen. Rasch beweglich, Begeißelung „degeneriert peritrich“, Länge der Geißeln 3—8 μ , Wellenlänge 1,3—1,7 μ .

Agarkolonien (ZoBell 2216 E) nach 5 Tagen bis 1 mm groß, rund, ganzrandig, glänzend, flach konvex. Große Kolonien haben ein etwas dunkleres weißliches Zentrum. Nach 14 Tagen ist die Färbung cremefarben; die Größe erreicht 1,5 mm. Auf Leitungswasseragar langsames Wachstum.

Agarstich (Kohlenhydratagar): gleichmäßiges Wachstum, besonders oben.

Flüssige Kultur: wenig Trübung, zarte Haut, Ring, Sediment.

Gramnegativ.

Oxydase: +

Katalase: +

Fakultativ anaerob, bevorzugt aerob.

Gelatinestich: keine Verflüssigung, perlartiges Wachstum.

H₂S aus Pepton + Cystein: —

Ammoniak aus Pepton: +

Lackmusmilch: koaguliert, alkalisch.

Nitrat: Reduktion zu Nitrit

N-autotroph (wächst in einem anorganischen N-Medium).

Stärke, Zellulose, Chitin, Alginat: kein Abbau.

Oxydative Säurebildung ohne Gas aus Xylose und Maltose. Wenig Säure aus Fructose und Glycerin. Keine Säure aus Glucose. Fermentativ wird aus Glucose Säure gebildet, aber kein Gas.

Methylrot- und Voges-Proskauer-Reaktion: —

Mannitagar: kein Wachstum.

Indol: —

Wächst in Fischbouillon.

Ohne Salz dürftiges Wachstum.

Isoliert aus Sediment der Kieler Bucht.

Morphologische Untersuchung

Die Wuchsform, Zellmorphologie und Sternbildung der untersuchten *Agrobacterium*-Stämme weisen gewisse gemeinsame Merkmale auf, die im folgenden herausgestellt werden.

Wuchsform:

Die typischen Oberflächenkolonien sind klein und rund, in den ersten Tagen flach konvex und wie glasklare Flüssigkeitströpfchen aussehend. Sie besitzen einen glatten Rand und eine glänzende Oberfläche. Kolonien, die später braune oder beige Farbtöne entwickeln, opalisieren im Licht. Nach wenigen Tagen setzt vom Zentrum her eine

Legende zu den nebenstenden Abbildungen (Tafel 1)

Abb. 1—4: Verschiedene Stadien der inneren Ellipsenstruktur bei Agarkolonien von *Agrobacterium stellulatum* und *A. ferrugineum*.

5 Tage ZoBell-Agar. Hellfeld, Durchlicht. 150fach.

Abb. 1: Feine Granulierung (*A. stellulatum*)

Abb. 2: Blumenkohlstrukturen (*A. stellulatum*)

Abb. 3: Ellipsenmuster (*A. stellulatum*)

Abb. 4: Ellipsenkontur (*A. ferrugineum*)

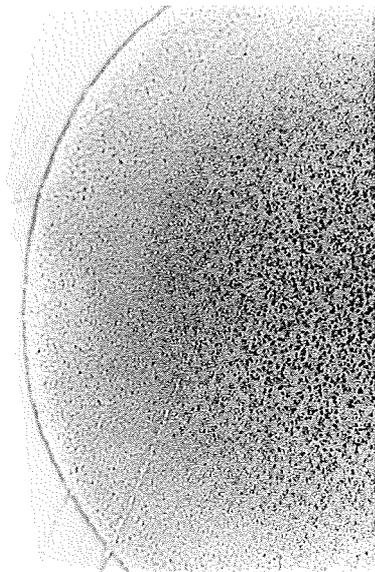


Abb. 1

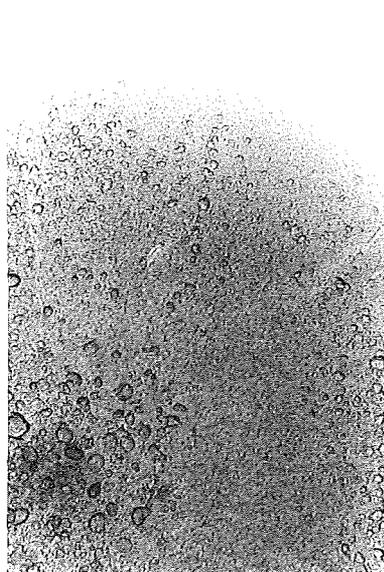


Abb. 2

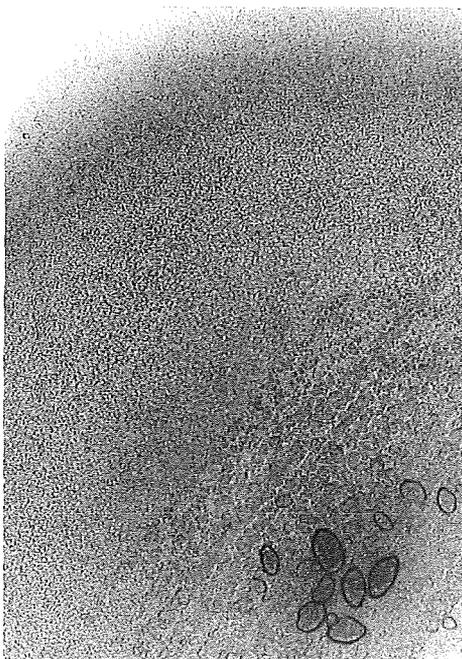


Abb. 3



Abb. 4

Tafel 1 (zu R. Ahrens)

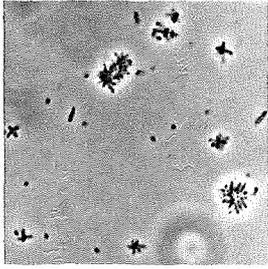


Abb. 5

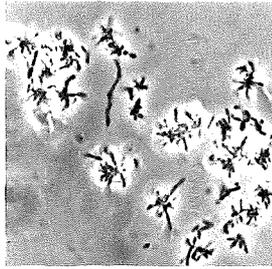


Abb. 6

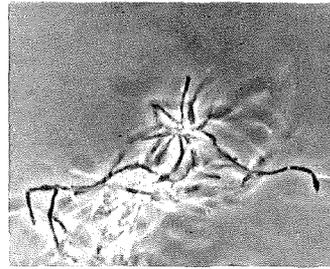


Abb. 7

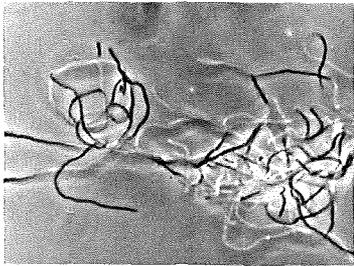


Abb. 8

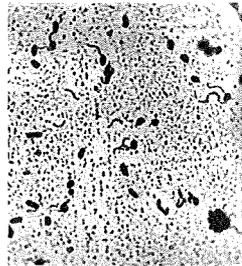


Abb. 9

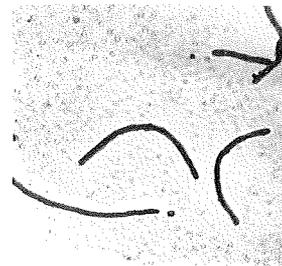


Abb. 10

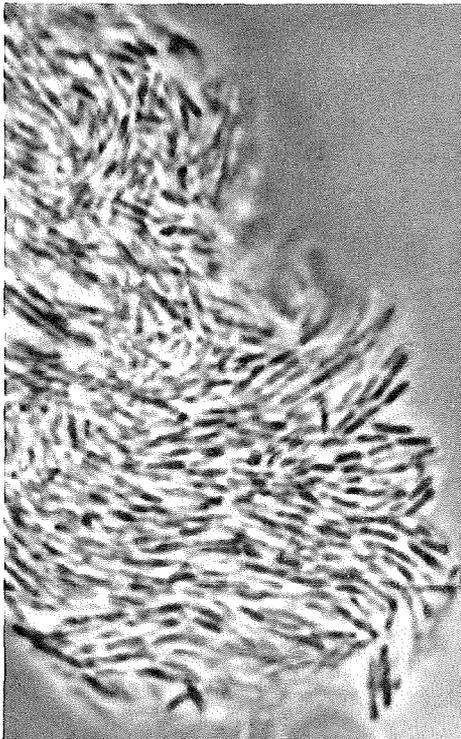


Abb. 11

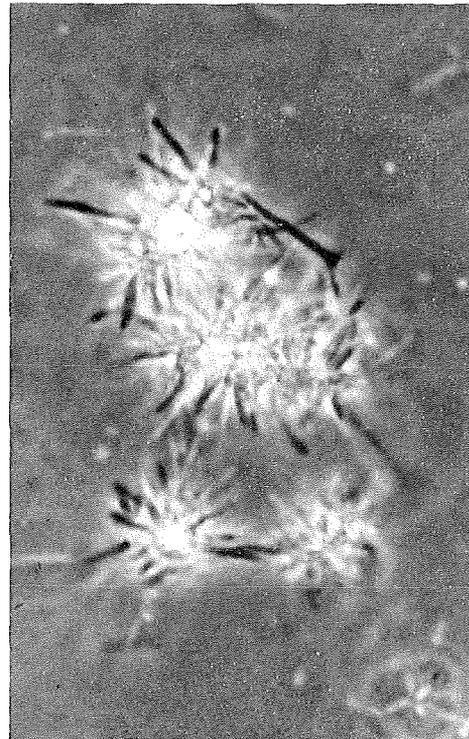


Abb. 12

Tafel 2 (zu R. Ahrens)

Trübung ein, und die Pigmentierung beginnt. Der Rand bleibt zunächst glasklar und durchscheinend; er kann später weißlich werden. Mit zunehmendem Alter werden die Kolonien fester und lassen sich bei einigen Stämmen nur als Ganzes mit der Impföse entfernen. In älteren Kulturen stellen sich einige Abweichungen ein, wie aus den Artbeschreibungen entnommen werden kann. Das Aussehen der Stämme von *Agrobacterium stellulatum*, *A. ferrugineum* und *A. sanguineum* entspricht der häufigsten Wuchsform von *A. tumefaciens*, wie sie GAINOR und PRICE (1953) unter den Bezeichnungen B6₁ und B6₃A als smooth-Formen unterschiedlicher Trübung beschreiben und abbilden. — Im Agar werden linsenförmige Kolonien mit weißlichem Saum und mehr oder weniger pigmentiertem Zentrum ausgebildet.

Oberflächenkolonien von *Agrobacterium stellulatum* und *A. ferrugineum* weisen im Durchlicht der Lupenvergrößerung eine Feinstruktur auf, die auch bei völlig abweichenden braunen Bakterien beobachtet wurde. In den anfangs homogenen Kolonien setzt vom Zentrum her eine innere Granulierung ein (Abb. 1). Sie wird allmählich gröber, erscheint dann blumenkohlartig (Abb. 2) und nimmt in großen Kolonien schließlich die Gestalt dunkelbrauner scharf kontrierter Ellipsen an, deren lange Achse 0,1 mm betragen kann (Abb. 3, 4). Die Ellipsenmuster treten unabhängig von Salzgehalt und Sternbildung auf und sind in Säuren unlöslich. Möglicherweise handelt es sich um eine extrazelluläre melaninhaltige Substanz, die über mehrere Zellen kristallisiert. Lebendpräparate von *A. stellulatum* und *A. ferrugineum* zeigen Zellen, die außen Blasen oder amorphe Gebilde von ca. 0,3—3 μ \varnothing tragen. Große Rosetten können vom Zentrum her mit einer ähnlichen lichtbrechenden Substanz verkleben (Abb. 12). *A. ferrugineum* und *A. stellulatum* A5 und A69 verfärbten ZoBell-Agar mit 0,1 bzw. 1% Tyrosin braun, besitzen also offenbar eine Tyrosinase (BRISOU, 1957). Das braune Pigment tritt bei guter O₂-Versorgung sowie in ausgeruhten und alternden Kulturen auf; seine Intensität hängt vom Salzgehalt ab. Es ist unlöslich in Wasser, Chloroform und Isobutanol; mit verdünnter und konzentrierter Salzsäure wird langsam ein rotbrauner Farbstoff extrahiert.

Das gelbe Pigment von *A. luteum* ist ebenfalls O₂-abhängig und wasserunlöslich. Es löst sich nicht in Äther, Chloroform oder Isobutanol.

Die Entwicklung in flüssiger Kultur gibt gewisse Anhalte über das Maß der Sternbildung. Intensive Rosettenbildung zeigt sich häufig durch flockige Trübung an oder durch einen festen Ring am Glas. Wird ein fester Ring ausgebildet, so ist das Medium

Legende zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 2)

- Abb. 5—8: Abhängigkeit der Zelllänge von der Bebrütungstemperatur.
 2 Tage ZoBell-Nährlösung. Phasenkontrast. 1500fach
 Abb. 5: *Agrobacterium sanguineum* A 91 bei 25° C. Rosetten aus Kurzstäbchen.
 Abb. 6: *A. sanguineum* A 91 bei 30° C. Zellen unterschiedlicher Länge.
 Abb. 7: *A. sanguineum* A 91 bei 37° C. Fadenzellen in Rosettenanordnung.
 Abb. 8: Fadenzellen von *Agrobacterium luteum* A 61 bei 30° C.
- Abb. 9—10: *Agrobacterium sanguineum* A 88. Abhängigkeit der Zelllänge vom Salzgehalt.
 5 Tage alte Agarkultur Geißelfärbung nach Bailey. Hellfeld. 1500fach.
 Abb. 9: Brackwasseragar (8⁰/₁₀₀). Kurzstäbchen und Rosetten, begeißelt.
 Abb. 10: Leitungswasseragar. Unbegeißelte Fadenzellen.
- Abb. 11: Parallel gelagerte Zellketten von *Agrobacterium* Stamm A 14.
 5 Tage ZoBell-Schrägagar. Lebendpräparat. Phasenkontrast. 3 000fach.
- Abb. 12: *Agrobacterium stellulatum* A 5.
 Goldgelbe lichtbrechende Substanz im Zentrum großer Rosetten.
 3 Tage ²/₅ konzentrierte ZoBell-Nährlösung. Lebendpräparat. Phasenkontrast. 3 000fach.

meist schwach getrübt; die Zellen setzen sich an der Glaswandung fest, und zwar besonders an der Flüssigkeitsgrenze, wo sie kleine runde Kolonien bilden. Bei guter Belüftung entsteht an der Oberfläche eine zarte Haut, oder es entwickeln sich Kugelkolonien, die bei Erschütterung absinken. Sternbildner, die diese Wuchsform zeigen, bilden auf Agarplatten kompakte Kolonien, die sich als Ganzes mit der Nadel vom Agar abheben lassen. Die Kolonien gehören dem smooth-Typ an (*A. stellulatum*, *A. ferrugineum*, *A. sanguineum*) oder dem rough-Typ (*A. luteum*).

In den Fällen, wo die Rosettenbildung durch flockige Trübung sichtbar wird, kann ebenfalls ein Ring ausgebildet werden. Dieser sitzt jedoch nicht so fest an der Glaswandung, und die Zellen können durch Schütteln abgelöst werden. Stämme dieses Typs bilden weichere Agarkolonien aus.

Zellmorphologie:

Die vorliegende Bakteriengruppe weist neben geraden Kurzstäbchen mehr oder weniger stark gekrümmte Zellen auf, ferner Fadenzellen unterschiedlicher Länge, einfache Verzweigungen und andere pleomorphe Formen wie Hanteln, mehrfach eingeschnürte Zellen und Keulenformen, die im Extremfall an gestielte Zellen von *Caulobacter* erinnern. Eine ähnliche Formenvielfalt tritt bei *Sporocytophaga cauliformis*, Myxococcaceae auf (GRÄF und STÜRZENHOFECKER, 1964; RUSCHKE und RATH, 1966, Abb. 1), mit der jedoch keine Verwandtschaft besteht.

Die Länge der Zellen ist starken Schwankungen unterworfen, was sich zum Teil auf die Kulturbedingungen zurückführen läßt. So bestand bei den Arten *A. luteum* und *A. sanguineum* eine Tendenz zur Ausbildung langer Fadenzellen in der Nähe des Temperaturmaximums (Abb. 7, 8). Die Zellenlänge nahm mit der Bebrütungstemperatur deutlich zu und erreichte unterhalb des Maximums Extremwerte von über 100 μ (Abb. 5, 6, 7). Fadenzellen wurden bei einigen Stämmen an der unteren Salzgrenze beobachtet, so z. B. bei *A. sanguineum* (Abb. 9, 10), *A. luteum* und *A. stellulatum* A69, nicht aber bei den übrigen Stämmen. Die Zelldicke zeigt eine stärkere Salzabhängigkeit, und zwar werden durchweg bei suboptimalen Salzgehalten, besonders in Süßwassermedien, breitere Zellen gebildet.

Einige pleomorphe Formen lassen sich auf den eigentümlichen Teilungsmodus zurückführen, der häufig eine Kombination aus Einschnürung und Querwandbildung darstellt (vgl. MOLL et. al., 1967). Vor der Teilung verjüngt sich die Zelle zunächst; anschließend wird eine Querwand ausgebildet. Ihre Größe schwankt je nach dem Grad der Einschnürung. Die Pole der Tochterzellen sind entsprechend rund bis spindelig. Bei *A. sanguineum* wird anstelle einer einfachen Querwand ein breites Septum ausgebildet. Teilung durch Einschnürung ist bei gramnegativen Bakterien verbreitet und wurde unter anderem bei *Pseudomonas (Xanthomonas) malvacearum* beschrieben (STOUGHTON, 1929), bei *Escherichia coli* („germination tube growth“, HOFFMAN und FRANK, 1964),

Legende zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 3)

Abb. 13—15: Verlauf der Sternbildung bei *Agrobacterium stellulatum* A 5.

Die gekennzeichneten Zellen haben sich deutlich dem Sternzentrum genähert. Mikrokultur mit ZoBell-Agar. Die Aufnahmen wurden in Abständen von einer Stunde gemacht. Phasenkontrast. 4300fach.

Abb. 16—18: Sternbildendes Lebendpräparat von *Agrobacterium luteum* A 61 (3 Tage ZoBell-Nährlösung).

Im Rosettenfeld haben sich bewegliche Einzelzellen festgesetzt und „springen“ von hier aus zum Zentrum (s. die Zellen mit Pfeil!). Die Zeit zwischen den Aufnahmen beträgt 15 Sekunden. Phasenkontrast. 1.800fach.

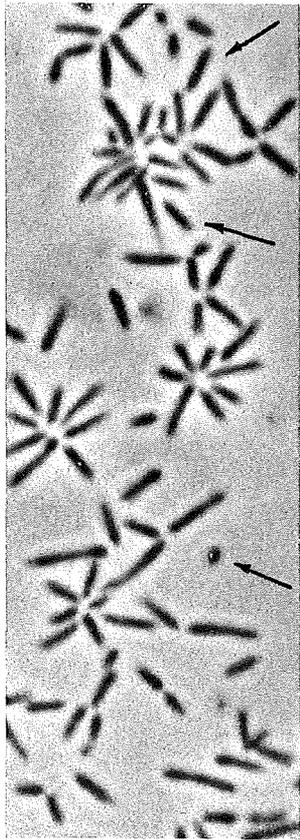


Abb. 13

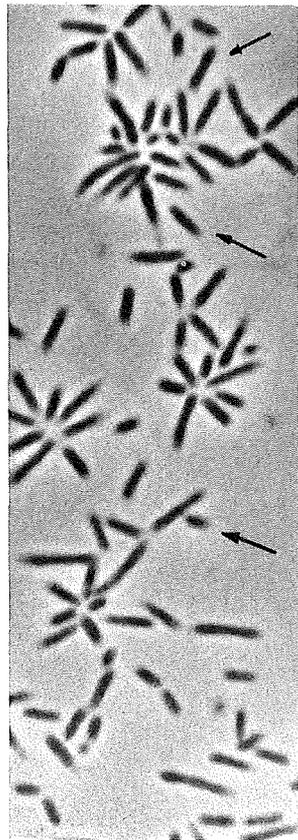


Abb. 14

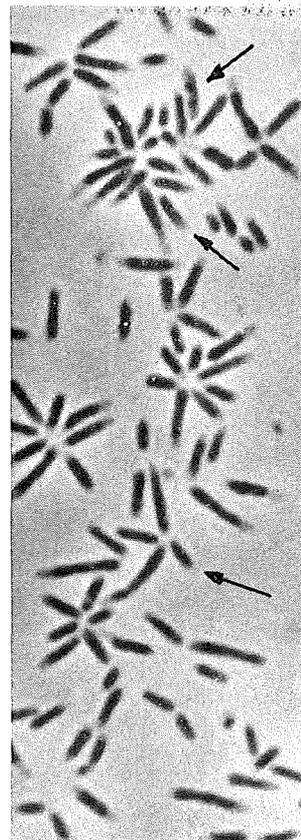


Abb. 15

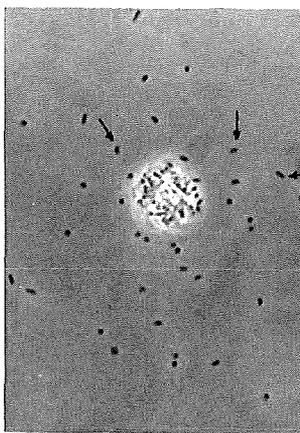


Abb. 16

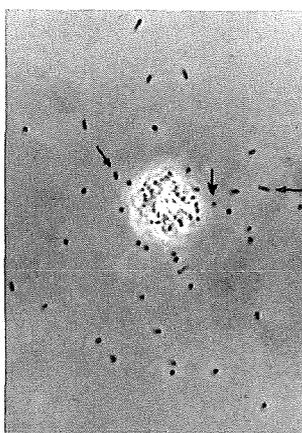


Abb. 17

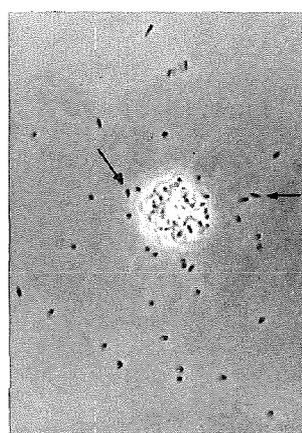
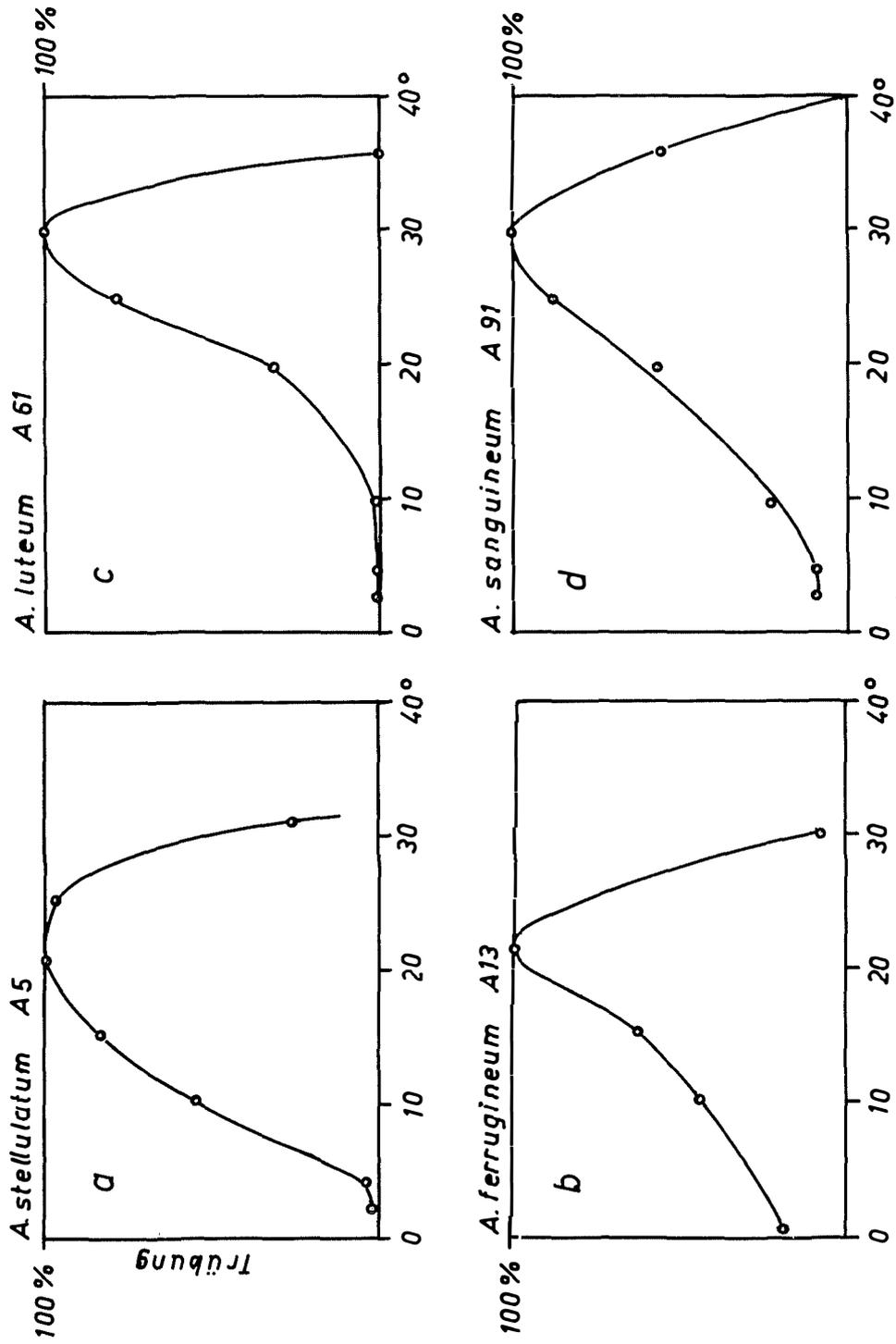


Abb. 18

Tafel 3 (zu R. Ahrens)



Tafel 4 (zu R. Ahrens)

Fusobacterium (HAMPP et al., 1960) und bei *Caulobacter* (STOVE POINDEXTER und COHEN-BAZIRE, 1964).

Die Teilung kann symmetrisch oder asymmetrisch erfolgen, so daß Tochterzellen ganz unterschiedlicher Größe entstehen. Im Extremfall bilden sich kleine Kokkenformen, die am Pol eines längeren Stäbchens sitzen und an Knospentypen erinnern (vgl. AHRENS und RHEINMEIER, 1967). Im Sternverband befinden sich solche knopfartigen Tochterzellen häufig außen. Eine ähnliche Anordnung wird von HEUMANN (1956) für den sternbildenden *Pseudomonas rhodos* (Stamm B6) abgebildet (Abb. 15) und wird bei anderen stäbchenförmigen Bakterien, die meist zu polarer Festheftung oder Sternbildung befähigt sind, als Knospung beschrieben (HENRICI und JOHNSON, 1935, Abb. 8—12; ZAVARZIN, 1961, verschiedene „*Blastobacter*“-Arten, *Nitrobacter winogradskyi*).

Bei der Trennung der Tochterzellen können Winkelbeziehungen entstehen (vgl. MOLL et al., 1967). Der Vorgang erinnert an die Schnappteilung der Corynebacteriaceae und konnte mehrmals in Mikrokulturen beobachtet werden.

Junge Zellen erscheinen im Phasenkontrast völlig homogen. Nach einigen Tagen können sporenähnliche lichtbrechende Bereiche auftreten, die in Färbepreparaten mit den üblichen Anilinfarbstoffen (z. B. Gramfärbung) ungefärbt erscheinen. Es handelt sich offenbar um fettartige Inhaltsstoffe. Sie waren besonders bei *A. ferrugineum* und *A. gelatinovorun* zu beobachten, gelegentlich auch bei *A. stellulatum*. Sporen traten niemals auf.

Die Begeißelung war nicht einheitlich. Ihr Nachweis bereitete einige Schwierigkeiten, da Beweglichkeit nur sporadisch und bei einem geringen Prozentsatz der Zellen auftritt und durch die Schleimabscheidung leicht verdeckt wird. Zudem sind die Geißeln sehr zart. Polare Schleimfäden führen zu Verwechslungen (s. u. Haftsubstanz).

Die Geißeln von *A. stellulatum* sind überwiegend polar inseriert. *A. agile* besitzt 1—3 polare Geißeln. Die übrigen Stämme tragen 1—2 Geißeln unterschiedlicher Anordnung. Dieser Typ wird nach CONN und WOLFE (1938) als degeneriert peritrich bezeichnet. Die Werte für Längen und Wellenlängen sind stark gestreut. Die Rhizobiaceae zeigen allgemein größere Abweichungen in der Begeißelung.

Junge Kulturen bestehen aus Einzelzellen und paarigen Zweierformen. *A. ferrugineum* bildet rechtwinklig gekreuzte Zellanordnungen aus, bei denen es sich zum Teil um echte Verzweigungen handelt. Zellketten von *A. stellulatum* und *A. ferrugineum* liegen gelegentlich zu parallelen Bündeln vereinigt (Abb. 11).

A. agile bildet Palisadenanordnungen aus Einzelzellen. Bei paralleler Lagerung der Zellen entstehen in der betreffenden Kultur keine Sterne.

Sternbildung:

Die häufigste Zellanordnung aller behandelten Arten ist die in rosettenförmigen Aggregaten. Der Aufbau der Sternformen wurde für die Stämme *Agrobacterium stellulatum* A5, *A. ferrugineum* A7, *A. luteum* A61 und *A. sanguineum* A91 bereits ausführlich beschrieben (AHRENS und RHEINHEIMER, 1967) und für die drei ersten Stämme elektronenmikroskopisch untersucht (MOLL et al., 1967). Die Sternbildung der übrigen Stämme stimmt

Legende zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 4)

Abb. 19: Temperaturabhängigkeit einiger *Agrobacterium*-Stämme.

Trübungsmessung in flüssiger Kultur.

a: $\frac{3}{10}$ konzentrierte ZoBell-Nährlösung,

b—d: ZoBell-Nährlösung.

grundsätzlich hiermit überein. Es sollen daher nur die wesentlichen Züge kurz dargestellt werden.

Sternformen kommen dadurch zustande, daß mehrere Zellen mit der polar abgetrennten Haftsubstanz verkleben. Diese erscheint im Elektronenbild homogen bis netzartig, körnig oder mehr oder weniger amorph. Sie wird von den Zellpolen in feinen Strängen sezerniert, wie dies von der Haftsubstanz der Caulobacteraceae bekannt ist (STOVE POINDEXTER und COHEN-BAZIRE, 1964). Der Aufbau der Sternformen variiert je nach Stamm und Kulturbedingungen. Im einfachsten Fall setzen sie sich aus 3—5 Zellen zusammen. Sie können beliebig größer sein und aus über 100 Einzelzellen bestehen. Im Sternzentrum stoßen die Zellen mit den Polen aneinander, oder es bleibt im Innenraum eine freie Zone, die mit lockerer Haftsubstanz erfüllt ist. In jungen Sternen ändert sich der Winkel zwischen den Zellen noch, so daß sehr regelmäßige Anordnungen entstehen. Die Rosettenglieder können eine ähnliche Formenvielfalt aufweisen wie die Zellen anderer Kulturen. Es kann sich beispielsweise um kokkoide Stäbchen handeln, um Fadenzellen unterschiedlicher Länge, Zellketten, Teilungsstadien, Hantelformen und Verzweigungen. In gut beweglichen Kulturen befördern einige begeißelte Sternglieder gelegentlich kompakte Sterne fort. Nach Färbepreparaten können polare Geißeln peripher oder zentral an den Rosettenzellen sitzen. Aus kompakten Rosetten ragen häufig lange Fadenzellen heraus, die mit dem äußeren Ende einem anderen Stern angehören können. Auf diese Weise kommt es zu großflächigen Vernetzungen.

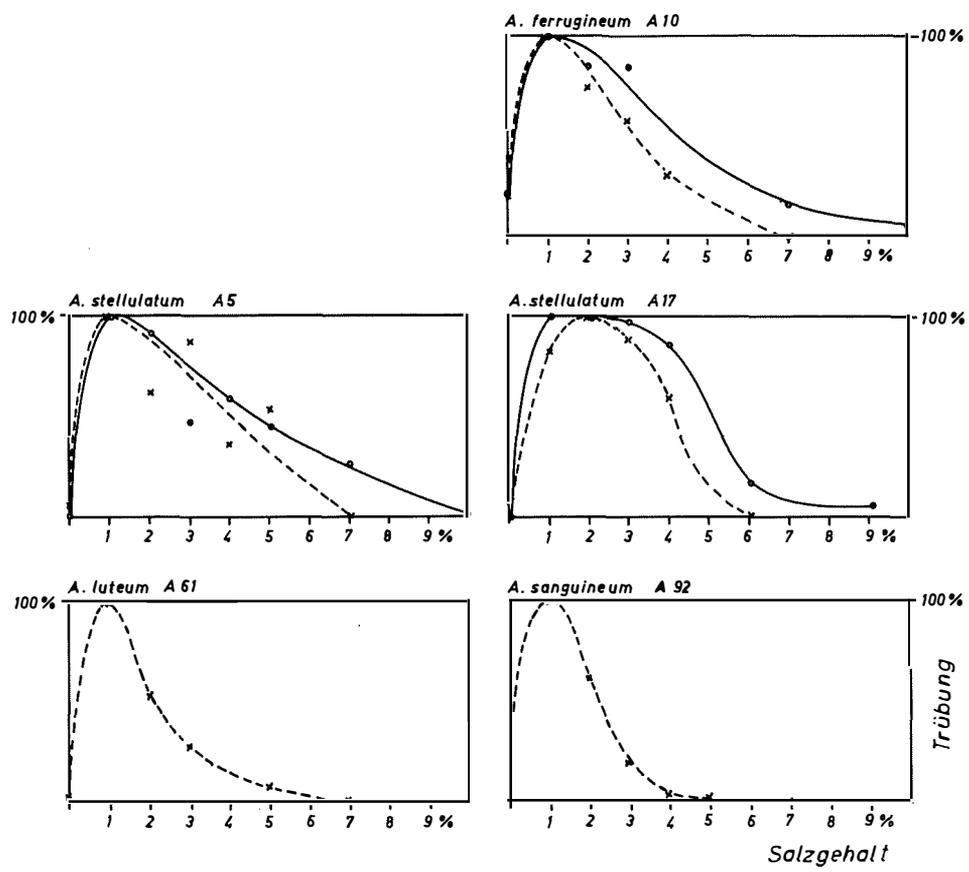
Sog. Raupen- oder Flaschenbürstenformen entstehen durch polare Festhaftung an eine langgestreckte Haftsubstanz. Sie erscheint als lockere Zusammenlagerung zarter Schleimfasern, als scharf konturierter Strang oder als feine Knötchenreihe. Langzellige, offenbar ältere Rosetten von *Agrobacterium stellulatum* und *A. ferrugineum* sind gelegentlich im Zentrum durch eine goldgelbe stark lichtbrechende Substanz verklebt, die Ansammlungen von bis zu 6 μ Durchmesser bildet (Abb. 12). Sie wurde bereits im Zusammenhang mit der braunen Pigmentierung erwähnt. STAPP und KNÖSEL (1956c) fanden entsprechende lichtbrechende Kugeln im Zentrum der Sterne von *Agrobacterium radiobacter* und *A. stellulatum* sowie von *Pseudomonas rhodos* Stamm B6 und deuten sie als kompakten Schleim. HEUMANN (1956) hatte die Anordnung bei B6 als Polyzygoten bezeichnet. Die beschriebenen Körper sollen sich in den meisten Fällen auflösen, wenn man sie unter dem Mikroskop mit Salzsäure behandelt (STAPP und KNÖSEL, 1956c). Bei den eigenen Stämmen gelang das aber weder mit verdünnter noch mit konzentrierter Säure.

Die Sternbildung setzt in flüssigen Kulturen an der Oberfläche ein. Dort bildet sich ein dünnes Schleimhäutchen aus, in dem sich die Zellen mit ihren Polen verfangen und in das bald eine Vielzahl von Sternen eingebettet ist. Die Schleimschicht wird zusehends dicker und sinkt schließlich als Sediment zu Boden, das beim Aufwirbeln lange Fäden zieht. Ein großes in eine Flüssigkeit von *A. ferrugineum* eingehängtes Deckglas wies nach einem Tag in der Höhe der Flüssigkeitsgrenze zahlreiche sehr kompakte Rosetten auf; im unteren Bereich hatten sich Einzelzellen und kleinere Rosetten festgesetzt.

Daß die Rosettenaggregate durch Zusammenlagerung von Einzelzellen entstehen, wurde für einige Stämme in Dauerbeobachtungen festgestellt. BEIJERINCK und VAN DELDEN (1902) und LEIFSON et al. (1964) führten die Sternbildung auf Knospung

Legende zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 5)

Abb. 20: Salzabhängigkeit einiger *Agrobacterium*-Stämme in ZoBell-Nährlösung mit natürlichem Seewasser (—) bzw. mit NaCl (---). Trübungsmessung.



Tafel 5 (zu R. Ahrens)

zurück. Bei *Agrobacterium tumefaciens* bewegen sich die Schwärmzellen aktiv aufeinander zu und heften sich polar fest (STAPP und BORTELS, 1931; BRAUN und ELROD, 1946; STAPP und KNÖSEL, 1956a, b; KNÖSEL 1962). Bei den eigenen Isolierungen scheint die aktive Schwärmbewegung keine Voraussetzung für die Sternbildung zu sein, da *Agrobacterium ferrugineum* A7 regelmäßig üppige Rosetten bildet und durchweg unbeweglich ist. Die Sterne von *A. stellulatum* A5 (Abb. 13—15) und *A. ferrugineum* A7 entstehen offenbar durch Knickteilungen und anschließende Zellverschiebungen. Möglicherweise kontrahiert sich die polare Haftsubstanz und vereinigt so die Zellpole. Bei *A. stellulatum* könnte außerdem die aktive Bewegung der Schwärmzellen mitwirken, was jedoch nie beobachtet werden konnte.

Die abweichende Entstehung der Sterne von *Agrobacterium luteum* A61 wurde bereits beschrieben (MOLL et al., 1967). Hier setzen sich Schwärmzellen im Vorfeld eines Sternansatzes fest und bewegen sich dann geradlinig zum Zentrum. Wahrscheinlich werden sie durch Fimbrien, polar inserierte kontraktile Fasern, angezogen, die elektronenoptisch nachgewiesen wurden (MOLL et al., 1967). Die Bilderserie Abb. 16—18 zeigt, wie sich einige Zellen aus dem Vorfeld zum Zentrum bewegen.

Die fertigen Bakteriensterne sind sehr fest und lassen sich nur in einigen Fällen mechanisch zerstören. Durch mehrfaches Zentrifugieren oder durch Zerreiben in einem Homogenisator wurden die Rosetten von *A. stellulatum*, *A. ferrugineum*, *A. luteum* und *A. sanguineum* nicht verändert. Einer Behandlung mit dem Ultraturax-Mixstab widerstanden die Sterne von *A. ferrugineum* A7 und *A. sanguineum* A91, nicht aber die von *A. stellulatum* A5 und *A. ferrugineum* A13.

Über das weitere Schicksal der Bakteriensterne läßt sich nichts Sicheres aussagen. Häufig degenerieren die Zellen im Sternverband, wodurch traubige Gruppen von Blaszellen entstehen. Ältere Kulturen enthalten gelegentlich Rosettenanordnungen, deren Pole nur locker zusammenliegen. Möglicherweise werden die Aggregate durch Schleim zusammengehalten. In einer Kultur von *A. stellulatum* A6 konnten Anhalte für die Auflösung der Rosetten gefunden werden.

Physiologische Untersuchungen

Die Ergebnisse der physiologischen Tests sind in Tab. 4 zusammengestellt. Die untersuchte Bakteriengruppe besitzt keine speziellen Stoffwechsellösungen. Obwohl Proteinmedien gutes Wachstum ermöglichen (Pepton, Gelatine), ist keine Abspaltung von NH_3 oder H_2S nachzuweisen. Gelatine wird meist nicht verflüssigt.

Kohlenhydrate können nur zusammen mit Pepton genutzt werden. Bei den Polysacchariden Alginat, Inulin, Zellulose, Chitin und Stärke findet keine Hydrolyse statt. Unterschiede treten beim Abbau von Glucose, Fructose, Xylose, Maltose und Glycerin auf. *A. ferrugineum* säuert alle genannten Kohlenhydrate, ohne Gas zu bilden; *A. stellulatum*, *A. luteum*, *A. sanguineum* und Stamm A80 greifen keins von ihnen an. Die anderen Stämme stehen dazwischen. Aus Glucose wird durchweg am wenigsten Säure gebildet. Hieraus erklärt sich auch der negative Ausfall der Methylrot- und Voges-Proskauer-Reaktion.

Die Bevorzugung eiweißhaltiger Nährstoffe ist für marine Bakterien charakteristisch; dagegen ist der Kohlenhydrat-Stoffwechsel meist schwach (ZOBELL und UPHAM, 1944; ZOBELL, 1946, S. 117, 142; BRISOU, 1955; HAYES, 1963). Aus hochpolymeren Kohlenhydraten wird selten Säure oder Gas freigesetzt; einfache Zucker werden gelegentlich gesäuert, seltener entstehen Säure und Gas (ZOBELL und UPHAM, 1944; ZOBELL, 1946; BRISOU, 1955). Marine Formen greifen im Gegensatz zu terrestrischen Bakterien relativ selten GLUCOSE an (WOOD, 1953).

Das Gros der Stämme benötigt eine organische N-Quelle. Nur *A. aggregatum* gedeiht gut in einem anorganischen Stickstoff-Medium. Drei Stämme von *A. sanguineum* zeigen dort schwaches Wachstum. Indol wurde in keinem Fall gebildet.

Alle Stämme besitzen eine Oxydase und das Ferment Katalase. Sie vermögen aerob oder anaerob zu wachsen. *A. ferrugineum* kann Nitrat nicht veratmen; *A. stellulatum* und *A. sanguineum* bilden wenig Nitrit; von den übrigen Stämmen bilden einige reichlich Nitrit und sogar Ammoniak.

Für Stämme der Arten *A. stellulatum*, *A. ferrugineum*, *A. luteum* und *A. sanguineum* wurden die Kardinalpunkte der Temperatur und des Salzgehaltes ermittelt.

Das Temperaturoptimum der beiden ersten Arten liegt zwischen 22 und 25°C (Abb. 19, Tafel 4). *A. stellulatum* hat sein Maximum um 30°C, *A. ferrugineum* etwas niedriger. Beide Arten zeigen bei 2--4°C noch eine schwache Entwicklung. Neuisolierte Stämme von *A. stellulatum* ergaben die gleichen Kardinalpunkte wie einjährige Laborstämme, die bei 10--25°C gehalten wurden. Für *A. stellulatum* 2 Ma/E von SIEBERT und SAHWARTZ (1956) liegt der günstigste Temperaturbereich ebenfalls zwischen 15 und 25°C.

A. sanguineum A91 und *A. luteum* A61 besitzen Temperaturoptima um 30°C. Beide Arten wachsen bei 2--4°C langsam. Das Maximum liegt für *A. luteum* unterhalb 37°C, für *A. sanguineum* oberhalb 37°C (Abb. 19).

Nach den Salzansprüchen lassen sich die vier Arten als halophile Brackwasserorganismen charakterisieren (Abb. 20, Tafel 5). *A. stellulatum* entwickelt sich am besten zwischen 10 und 30‰, gleichgültig, ob NaCl oder Seewasser verwendet wird (Seewasser von 30‰ enthält 25,7‰ Natrium- und Chloridionen, daneben kleinere Mengen anderer Ionen. ZOBELL, 1946). Die obere Salzgrenze lag für Seewasser um 70‰; NaCl wirkte bereits unter 70‰ hemmend. *A. stellulatum* ist obligat halophil. Das Salzminimum liegt unterhalb 10‰. Ein Stamm wurde sofort nach seiner Reinzüchtung geprüft, die übrigen waren ein Jahr bei 24‰ gehalten worden.

Die Salzoptima der Arten *A. ferrugineum*, *A. luteum* und *A. sanguineum* liegen deutlich bei 10‰ (nach einjähriger Züchtung auf Medien mit einem Salzgehalt von 24‰!). *A. luteum* A61 ist obligat halophil; *A. luteum* B14 sowie *A. ferrugineum* und *A. sanguineum* können in Süßwassermedien gedeihen, allerdings bedeutend schwächer als bei Salzzusatz (Abb. 20).

Die niedrigen Salzoptima der untersuchten *Agrobacterium*-Arten sind bemerkenswert. Sie liegen mit Werten von 10‰ bis maximal 30‰ deutlich im Brackwasserbereich. Es handelt sich dabei um ein recht konstantes Merkmal, da z. B. die 10‰-Optima bei längerer Laborzüchtung in 24‰-Medien erhalten geblieben sind. Trotz des niedrigen Salzoptimums sind die Organismen halophil, z. T. sogar obligat halophil. Diese Tatsachen sprechen dafür, daß die vorliegenden *Agrobacterium*-Arten echte Brackwasserorganismen darstellen. Die Ansichten über das Vorkommen einer eigenständigen Brackwasserflora gehen zur Zeit noch auseinander. SHEWAN (1961) gibt an, daß halophile Bakterien meist Salzkonzentrationen über 20‰ benötigen. Nach LARSEN (1962) wird zwischen extrem halophilen, mäßig halophilen und schwach halophilen Bakterien unterschieden, wobei die letzte Gruppe Meeresbakterien umfaßt und 15--50‰ NaCl benötigt. Es wäre denkbar, daß sich bei einer eingehenden Untersuchung der Salzabhängigkeit zahlreiche echte Brackwasserformen feststellen ließen mit Optima zwischen 5 und 20‰ (s. RHEINHEIMER, 1966).

DNS-Basezusammensetzung

Da die untersuchte Bakteriengruppe, abgesehen von der Sternbildung, keine hervorstechenden Merkmale aufweist, sollte die taxonomische Zuordnung durch einige DNS-Basenanalysen gesichert werden. Alle Stämme zu analysieren, war aus technischen Gründen nicht möglich.

Tabelle 1
Auswertung der DNS-Basenanalyse für *Agrobacterium luteum* A 61

Base	ermittelter Rf-Wert	Rf-Werte nach Wyatt (1951)	Extinktionen				
			250 nm	260 nm	265 nm	275 nm	280 nm
Thymin . . .	0,78	0,77	0,257	0,364	0,377	0,286	0,198
Adenin . . .	0,37	0,36	0,462	0,610	0,612	0,372	0,228
Cytosin . . .	0,48	0,47	0,174	0,398	0,521	0,657	0,612
Guanin . . .	0,24	0,25	0,680	0,501	0,451	0,445	0,408

E_{280} E_{260}	theoretischer Wert ¹⁾	millimolare Extinktionskoeffizienten ¹⁾	μ Mol Base pro ml Eluat	Volumen des Eluats ml	μ Mol Base im Eluat	parallele Bestimmung
0,544	0,53	$\epsilon_{265} = 7,95$	0,0474	5	0,237	0,197
0,374	0,375	$\epsilon_{260} = 13,0$	0,0470	5	0,235	0,205
1,536	1,53	$\epsilon_{275} = 10,5$	0,0625	5	0,313	0,269
0,815	0,84	$\epsilon_{250} = 11,0$	0,0620	5	0,310	0,267
				Mol G+C	57,0	57,0

¹⁾ aus HARBERS et al. (1964), S. 21

Tabelle 2
DNS-Basenverhältnis einiger *Agrobacterium*-Stämme im Vergleich mit Literaturangaben

Art	Mol% G+C	Literatur
<i>Agrobacterium luteum</i> A 61	57	*
<i>A. stellulatum</i> A 5	57	*
<i>A. agile</i> A 82	59	*
<i>A. ferrugineum</i> A 7	60	*
<i>A. sanguineum</i> A 91	64	*
<i>A. tumefaciens</i>	58,5	LEE et al.
<i>Agrobacterium tumefaciens, radiobacter, rhizogenes</i>	59,5—63	DE LEY et al. (1965)
<i>Cytophaga</i> , verschiedene Arten	30—39	COLWELL et al. (1966)
<i>Pseudomonas cruciviae</i>	40—42	MARMUR et al. (1963)
<i>Achromobacter fischeri</i>	40—42	MARMUR et al. (1963)
<i>Corynebacterium</i> , verschiedene Arten	46—60	MARMUR et al. (1963)
<i>Pseudomonas atlantica</i>	54—56	MARMUR et al. (1963)
<i>Rhizobium</i> , verschiedene Arten	59—66	DELEY et al. (1965)
<i>Xanthomonas pelargoni, X. hederiae</i>	62—64	MARMUR et al. (1963)
<i>Gaulobacter</i> , verschiedene Arten	62—67	STOVE POINDEXTER (1964)
<i>Pseudomonas fluorescens, P. oleovorans, P. fragii, P. chlorovaphis, P. stutzeri, P. putida, P. aeruginosa, P. tabaci, P. diminuta, P. maltiphila, P. saccharophila</i>	60—70	MARMUR et al. (1963)
<i>Mycococcus fulvus, M. virescens, M. xanthus</i>	66—68	MARMUR et al. (1963)
<i>Mycobacterium phlei, M. tuberculosis, M. smegmatis</i>	66—80	MARMUR et al. (1963)

* eigene Bestimmungen

Für die Bestimmung wurde DNS in hochgereinigtem Zustand gewonnen, mit Ameisensäure hydrolysiert und das Hydrolysat papierchromatographisch getrennt. Die Beschreibung befindet sich im Methodenteil. Tab. 1 gibt ein Beispiel für die spektral-photometrische Auswertung der Analyse von *Agrobacterium luteum* A61. In Tab. 2 sind die G + C-Werte der Stämme *A. luteum* A61, *A. stellulatum* A5, *A. agile* A82, *A. ferrugineum* A7 und *A. sanguineum* A91 einigen Angaben aus der Literatur gegenübergestellt. Die gefundenen Werte liegen zwischen 57 und 64 Mol % G + C und damit in demselben Bereich wie für die anderen bisher analysierten Rhizobiaceae, nämlich verschiedene *Agrobacterium* (58,5—63 Mol % G + C) und verschiedene *Rhizobium*-Arten (59—66 Mol % G + C). Typische Pseudomonadales schließen sich bemerkenswerterweise an diesen Bereich an (*Xanthomonas* 62—64%, *Caulobacter* 62—67%, *Pseudomonas* meist 60—70%), von denen die Gattung *Caulobacter* ebenfalls Rosetten bildet; bei der Gattung *Pseudomonas* ist die Sternbildung noch umstritten (vgl. KNÖSEL, 1962).

Erörterung der Taxonomie

Die physiologischen Merkmale der Ostseestämme liefern wenige Anhalte für die systematische Stellung. Daher mußten für ihre Zuordnung vor allem die Zellform und die Sternbildung herangezogen werden.

Unter den zahlreichen gramnegativen stäbchenförmigen Bakterien wären außer zu den Rhizobiaceae nur Beziehungen zu den Familien Pseudomonadaceae und Achromobacteriaceae denkbar. Der Gattung *Pseudomonas* gehören zahlreiche Gewässerbakterien an, die aber in der Regel polar begeißelt und rasch beweglich sind und einen intensiven überwiegend aeroben Stoffwechsel besitzen. Pleomorphismus ist hier nicht üblich, und Sternbildung ist bei typischen *Pseudomonas*-Arten nicht bekannt. Zwei von HEUMANN (1962) in diese Gattung eingefügte Sternbilder stehen möglicherweise den Rhizobiaceae nahe. Wir schließen uns daher der Ansicht KNÖSELS (1962) an, daß „Pseudomonaden offenbar nicht sternbildend sind“. Eine Einordnung der gelben Stämme A61 und B14 in die Gattung *Xanthomonas*, Pseudomonadaceae, ist wegen des abweichenden Stoffwechsels nicht möglich. Auch handelt es sich bei diesen fast durchweg um Pflanzenparasiten. Der unpigmentierte Stamm B1 läßt sich nicht in die Gattung *Achromobacter* stellen, da diese peritrich begeißelte oder unbewegliche Bakterien umfaßt und keine Rosettenbildner enthält. Stamm B1 besitzt meist eine Geißel unterschiedlicher Anordnung.

Auffallend ist die Ähnlichkeit zwischen pleomorphen Formen der Ostseestämme und Angehörigen der Familien Corynebacteriaceae, Mycobacteriaceae und Myxococcaceae, insbesondere *Sporocytophaga cauliformis*, die auch zur Sternbildung befähigt ist (GRÄF und STÜRZENHOFECKER, 1964; RUSCHKE und RATH, 1966). Es handelt sich in diesen Fällen aber nur um äußere Übereinstimmungen; eine Zugehörigkeit zu einer der genannten Familien ist mit Sicherheit auszuschließen. Die Corynebacteriaceae und Mycobacteriaceae sind grampositiv und unbeweglich; *Mycobacterium*-Arten sind zudem säurefest und durchweg Parasiten. *Sporocytophaga cauliformis* bildet im Gegensatz zu den eigenen Isolierungen extrem schlanke flexible Zellen, die Gleitbewegungen zeigen und unbegeißelt sind. Die Koloniform weicht völlig ab; es handelt sich um flache Schwämmkolonien.

Hinsichtlich der Sternbildung mußten eventuelle Beziehungen zu sechs Ordnungen geprüft werden, wenn man die Einteilung von BERGEY (1957) zugrunde legt. Tab. 3 stellt die Ordnungen zusammen, aus denen Rosettenformen bekannt sind. Die sternbildenden Organismen *Seliberia stellata* (ARISTOVSKAJA und PARINKINA, 1963; GROMOV, 1964), *Trigonobacter* und *Metallogenium* (PERFIL'EV und GABE, 1961) sind in der letzten Auflage von BERGEY's Manual noch nicht enthalten. Einige unzulängliche Beschrei-

Tabelle 3
Das Vorkommen sternbildender Bakterien im System von BERCEY (1957)

Ordnung	Familie	Gattung	Sternbildende Formen aus dem Meer bekannt	Literatur
Pseudomonadales	Athiorhodaceae	<i>Rhodopseudomonas</i>		VAN NIEL (1944)
	Methanomonadaceae	<i>Methanomonas</i>		STOCKS u. McCLESKEY (1964)
	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	+	HOUWINK (1962)
	Caulobacteraceae	<i>Caulobacter</i>		HEUMANN (1955); STOVE POINDENTER (1964); ZAVARZIN (1961); LEIFSON et al. (1964)
	Spirillaceae	<i>Asticcacaulis</i>	+	STOVE POINDENTER (1964); PATE u. ORDAL (1965)
		<i>Spirillum</i>		WATANABE (1960); SIEBERT u. SCHWARTZ (1956, S. 346)
Hyphomicrobiales	Hyphomicrobiaceae	<i>Hyphomicrobium</i>	+	ZAVARZIN (1960, 1961); CONTI u. HIRSCH (1965)
		<i>Rhodomicrobium</i>		BISSET (1961)
	Pasteuriaceae	<i>Pasteuria</i>		METCHNIKOFF (1888); HENRICI u. JOHNSON (1935); ZAVARZIN (1961)
		<i>Blastocaulis</i>		ZAVARZIN (1961)
Eubacteriales	Rhizobiaceae	<i>Rhizobium</i>		LEHNER u. NOWAK (1957)
		<i>Agrobacterium</i>	+	} eine Übersicht s. KNÖSEL (1962) (s. auch GROMOV, 1967)
	Bacillaceae	<i>Phyllobacterium</i>		
		<i>Chromobacterium</i>		STILLE (1953); HUNGATE (1957)
		<i>Clostridium</i>		
Beggiatoales	Beggiatoaceae	<i>Thiothrix</i>		HAROLD u. STANIER (1955); THIMANN (1964)
		<i>Leucothrix</i>	+	HAROLD u. STANIER (1955); PRINGSHEIM (1957, 1966)
Myxobacterales	Myxococcaceae	<i>Sporocytophaga</i>		GRÄF u. STÜRZENHOFFER (1964)
Spirochaetales	Treponemataceae	<i>Leptospira</i>		GÄNCEL u. THEMANN (1956)

Die Gattung *Asticcacaulis* wurde nach STOVE POINDENTER (1964) eingefügt;
die Gattung *Phyllobacterium* wurde nach KNÖSEL (1962) eingefügt.

Morphologische und physiologische
Vergleich mit *A. stellulatum* (s. SIEBERT u. SCHWARTZ,

Tabelle 4

Art	<i>Agrobacterium stellulatum</i>	<i>A. sanguineum</i>	<i>A. sanguineum</i>	<i>A. sanguineum</i>	<i>A. sanguineum</i>								
Stamm	A 1	A 4	A 5	A 6	A 12	A 17	A 23	A 29	A 80	A 91	A 92	A 87	A 88
Farbe	braun	braun	braun	braun	braun	braun	braun	braun	hellbeige	rot	rot	rot	rot
Sternbildung	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Beweglichkeit (+) = sehr selten	-	+	+	+	-	-	-	-	+	(+)	(+)	+	+
Nitrit aus Nitrat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	+
NH ₃ aus Nitrat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
oxydative Säure aus													
D-Glucose (MOF Medium)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Fructose (MOF Medium)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Xylose (MOF Medium)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose (MOF Medium)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glycerin (MOF Medium)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wachstum auf ZoBell-Agar mit													
Leitungswasser	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	(+)	+	+
Seewassergemisch 1 : 3 (8 ⁰ / ₁₀₀)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Seewassergemisch 1 : 1 (16 ⁰ / ₁₀₀)	+	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Seewassergemisch 3 : 1 (24 ⁰ / ₁₀₀)	+	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oxydase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
fakultativ anaerob	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Abbau von Stärke	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Zellulose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chitin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alginat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methylrot-Reaktion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Voges-Proskauer-Reaktion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Indol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gelantineverflüssigung	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wachstum im Stich bzw. Form des Abbaus	perlartig	perlartig	perlartig	perlartig	perlartig	perlartig	perlartig	perlartig	perlartig	perlartig	perlartig	perlartig	perlartig
H ₂ S aus Pepton + Cystein	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NH ₃ aus Pepton (versch. Medien)	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+
NH ₃ aus Harnstoff	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N-autotroph	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	(+)
Wachstum in 1% Phenol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wachstum auf Kartoffelkeil	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lackmismilch (— = kein Wachstum)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannitagar	(+)	-	-	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	-

* = alkalisch, koagulierte

** = neutral bis alkalisch, langsame Koagulation und Reduktion

*** = völliger Abbau, trichterförmig

bungen wurden in der Tabelle nicht erfaßt (LÖHNIS, 1921; LIESKE, 1928; HENRICI und JOHNSON, 1935; ZAVARZIN, 1961). Ebenso lassen sich Angaben von LEIFSON (1962a, b) über „aggregatbildende“ Gewässerformen in diesem Zusammenhang nicht verwerten, da ihre Beschreibung unvollständig ist und ihre Benennung unterblieb. Diese Organismen können den Ostseestämmen nahestehen. LEIFSON stellt gewisse Übereinstimmungen mit der Gattung *Pseudomonas* fest, nimmt aber eher an, daß die aggregatbildenden Bakterien stiellose Verwandte der Gattung *Caulobacter* darstellen. Eine Einordnung nimmt er jedoch nicht vor (LEIFSON, 1962a, b).

GROMOV (1967) beschreibt eine Reihe sternbildender Bakterien, die von Algenmaterial isoliert wurden. 9 unpigmentierte Stämme wurden zu den Rhizobiaceae gestellt, aber nicht benannt. 6 farblose bzw. gelbe Isolierungen mit monotricher Begeißelung wurden bisher nicht eingeordnet.

Innerhalb der aufgeführten rosettenbildenden Bakteriengruppen entfällt eine Zugehörigkeit zu den Gattungen *Caulobacter*, *Asticcacaulis*, *Spirillum*, *Hyphomicrobium*, *Rhodomicrobium*, *Blastocaulis*, *Thiothrix*, *Leucothrix* oder *Leptospira* aus morphologischen Gründen. Athiorhodaceae wachsen photoautotroph. *Methanomonas* weicht im Stoffwechsel völlig ab. Die Gattung *Pasteuria* ist durch die Längsteilung definiert, die allerdings nicht eindeutig nachgewiesen wurde. *Clostridium* („*Granulobacter pectinovorum*“, STILLE 1953; *Cl. lochheadii*, HUNGATE 1957) ist Anaerobier. Dagegen lassen sich alle in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Stämme der Familie der Rhizobiaceae zuordnen, und zwar fügen sie sich am besten in die Gattung *Agrobacterium* ein. Die an einigen Stämmen durchgeführten DNS-Basenanalysen unterstreichen diese Verwandtschaft (s. o. Tab. 2). Die Gattung *Rhizobium* umfaßt „Knöllchenbakterien“ und kommt daher nicht in Betracht. Bei der Gattung *Phyllobacterium* (s. KNÖSEL, 1962) handelt es sich um Blatt-symbionten. *Chromobacterium* ist nach BERGEY (1957) durch das violette Pigment definiert, das bei einer Art zusammen mit einer gelblich-braunen Färbung auftritt. *Chromobacterium lividum*, das unter den Sternbildnern bei KNÖSEL (1962) aufgeführt ist, dürfte definitionsgemäß nicht in diese Gattung fallen, da es kein violettes Pigment besitzt. Auch ein aus Boden isolierter nicht violetter Sternbildner (NOWAK, 1966) sollte daher nicht als *Chromobacterium* angesprochen werden.

Die Gattung *Agrobacterium* weist nach BERGEY (1957) u. a. folgende Merkmale auf: „Kleine Kurzstäbchen, die im typischen Fall durch 1—4 peritriche Geißeln beweglich sind (bei nur einer Geißel ist seitliche Anordnung ebenso häufig wie polare). Meist gramnegativ. Gelatine wird langsam oder gar nicht verflüssigt. Freier Stickstoff kann nicht gebunden werden, aber andere anorganische Formen von Stickstoff können gewöhnlich verwertet werden. Temperaturoptimum zwischen 25 und 30°C.“

Die Begeißelung ist innerhalb der Gattung nicht einheitlich. Möglicherweise bereitet ihr Nachweis auch bei anderen Stämmen Schwierigkeiten. *A. stellulatum* STAPP und KNÖSEL 1954 besitzt eine polare Geißel. Für *A. tumefaciens* sind die Angaben meist ungenau; BRAUN und ELROD (1946) fanden 3—6 Geißeln an einem Zellpol.

Die meisten *Agrobacterium*-Arten sind phytopathogen bei höheren Pflanzen, aber mit *A. stellulatum* STAPP und KNÖSEL 1954 ist eine halophile Form aus dem marinen Bereich bekannt. Sie wurde von faulem Algenmaterial gewonnen (SIEBERT und SCHWARTZ, 1956). Nach KORINEK soll *A. radiobacter* algenlebende marine Stämme besitzen („*Bacterium cyanicola*“, KORINEK 1932, 1953). Eine Reihe halophiler Ostsee-Isolierungen ließ sich als *A. stellulatum* STAPP und KNÖSEL identifizieren. Die Zuordnung des Stammes A5 wurde bereits ausführlich begründet (AHRENS und RHEINHEIMER, 1967). Einige braune, rote bzw. gelbe Ostseestämme fallen in die Arten *A. ferrugineum*, *A. sanguineum* bzw. *A. luteum*, die bei AHRENS und RHEINHEIMER (1967) definiert sind. Die Benennung von vier weiteren *Agrobacterium*-Arten in der vorliegenden Arbeit wurde

jeweils bei ihrer Beschreibung erläutert, nämlich: *A. agile*, *A. gelatinovorum*, *A. kieliense* und *A. aggregatum*. Alle untersuchten *Agrobacterium*-Stämme werden in Tab. 4 gegenübergestellt, in der zum Vergleich auch *A. tumefaciens* und der *A. stellulatum*-Stamm 2Ma/E von SIEBERT und SCHWARTZ aufgeführt sind.

Es wäre zu erwägen, die halophilen sternbildenden Rhizobiaceae aus dem marinen Bereich von der Gattung *Agrobacterium* abzugrenzen. Andererseits finden sich in Süßwasser ebenfalls sternbildende Bakterien (LEIFSON, 1962a, b; GROMOV, 1967), die, abgesehen von der Halophilie, den marinen Rhizobiaceae offenbar sehr ähnlich sind und zwischen beiden Gattungen stehen würden. Die meisten *Agrobacterium*-Arten parasitieren aber auf höheren Pflanzen und unterscheiden sich hierdurch von den Gewässerformen. Möglicherweise läßt sich jedoch bei diesen eine algenpathogene Lebensweise feststellen (vgl. auch KORINEK, 1932, 1953). Daher erscheint es noch verfrüht zu entscheiden, ob die marinen oder die gewässerlebenden sternbildenden Rhizobiaceae in eine eigene Gattung zu stellen sind.

Literaturverzeichnis

- AHRENS, R. und G. RHEINHEIMER (1967): Über einige sternbildende Bakterien aus der Ostsee Kieler Meeresforsch. 23, 127—136. — ANDERSON, J. I. W. (1962): Studies on micrococci isolated from the North Sea. J. appl. Bact. 25, 362—368. — ARISTOVSKAJA, T. V. und O. M. PARINKINA (1963): Novyj povennyj mikroorganizm Seliberia stellata (Neuer Bodenmikroorganismus *Seliberia stellata*). Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Biol., 1 (zitiert nach Gromov, 1967). — BEIJERINCK, M. W. und A. VAN DELDEN (1902): Über die Assimilation des freien Stickstoffs durch Bakterien. Zblt. Bakt., Abt. II 9, 3—43. — Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1957): R. S. BREED, E. G. D. MURRAY und N. R. SMITH, eds. 7. Aufl., Baltimore: Williams and Wilkins Co. — BISSSET, K. A. (1961): Morphological variations in *Spirillum* spp., with observations upon the origin of the hyphomicrobia. J. Gen. Microbiol. 24, 427—431. — BRAUN, A. C. und R. P. ELROD (1946): Stages in the life history of *Phytomonas tumefaciens*. J. Bact. 52, 695—702. — BRISOU, J. (1955): La Microbiologie du Milieu marin. Paris: Editions Médicales Flammarion. — BRISOU, J. (1957): Contribution à l'étude de la famille des Pseudomonadaceae. Bourdeaux: A. Baillet. — COLWELL, Rita R., R. V. CITARELLA und P. K. CHEN (1966): DNA base composition of *Cytophaga marinoflava* n. sp. determined by buoyant density measurement in cesium chloride. Canad. J. Microbiol. 12, 1099—1103. — CONN, H. J. und G. E. WOLFE (1938): The flagellation of bacteria. Science 87, 283—284. — CONTI, S. F. und P. HIRSCH (1965): Biology of budding bacteria. III.: Fine structure of *Rhodomicrobium* and *Hyphomicrobium*. J. Bact. 89, 503—512. — DE LEY, J., M. BERNARTELS, A. RASSEL und J. GUILMOT (1966) Approach to an improved taxonomy of the genus *Agrobacterium*. J. gen. Microbiol. 43, 7—17. — DE LEY, J. und A. RASSEL (1965): DNA base composition, flagellation and taxonomy of the genus *Rhizobium*. J. Gen. Microbiol. 41, 85—91. — GÄNGEL, G. und H. THEMANN (1956): Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Entwicklungsstadien bei Leptospiiren. Arch. Hyg. Bact. 140, 559—568. — GAINOR, G. und W. C. PRICE (1953): Studies concerning colonial variants of *Agrobacterium tumefaciens*. Phytopath. 43, 509—512. — GRÄF, W. und P. STÜRZENHOFECKER (1964): Biologie und Vorkommen von aeroben Wassermixobakterien (*Sporocytophaga cauliformis*) im Bodensee. Arch. Hyg. 148, 79—96. — GRAY, P. H. H. und E. G. THORNTON (1928): Soil bacteria that decompose aromatic compounds. Zblt. Bakt., Abt. I, 73, 74—95. — GROMOV, B. V. (1964): Zgutikovanie *Seliberia stellata* (Die Geißelbildung der *Seliberia stellata*) Vestnik LGU 21, 148—150 (zitiert nach Gromov, 1967). — GROMOV, B. V. (1967): „Zvezdoobrazujuscie bakterii“ sopotstvujuscie vodoroslam v kul'turach („Sternbildende Bakterien“, die in Algenkulturen auftreten). Vestnik Leningradskogo Universiteta, Biologija 15 (3), 133—143. — HAMPP, E. G., D. B. SCOTT, und R. W. G. WYCKOFF (1960): Morphological characteristics of oral Fusobacteria as revealed by the electron microscope. J. Bact. 79, 716—728. — HARBERS, E., G. F. DOMAGK und W. MÜLLER (1964): Die Nukleinsäure. Stuttgart: Thieme. — HAROLD, Ruth und R. Y. STANIER (1955): The genera *Leucothrix* and *Thiothrix*. Bactl. Rev. 19, 49—64. — HAYES, P. R. (1963): Studies on marine Flavobacteria. J. Gen. Microbiol. 30, 1—19. — HENRICI, A. T. und D. E. JOHNSON (1935): Studies of freshwater bacteria. II.: Stalked bacteria, a new order of schizomycetes. J. Bact. 30, 61—93. — HEUMANN, W. (1956): Der Sexualcyclus sternbildender Bakterien. Arch. Mikrobiol. 24 362—395. — HEUMANN, W. (1962): Die Methodik der Kreuzung sternbildender Bakterien. Biol. Zblt. 81, 341—354. — HOFFMAN, H. und M. E. FRANK (1964): „Germination tube“ growth in *Escherichia coli* microcultures. J. Bact. 88, 1151—1154. — HOUWINK, A. L. (1955): *Caulobacter*. Its morphogenesis, taxonomy and parasitism. Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol. 21, 49—64. — HUNGATE,

R. E. (1957): Microorganismus in the rumen of cattle fed a constant ration. *Canad. J. Microbiol.* 3, 399—410. — KNÖSEL, D. (1962): Prüfung von Bakterien auf Fähigkeit zur Sternbildung. *Zblt. Bakt., Abt. II*, 116, 79—100. — KORINEK, J. (1932): Über oligonitrophile Mikroben im Meere. *Zblt. Bakt., Abt. II*, 86, 201—206. — KORINEK, J. (1953): Isolation and multiplication of Rhizobia by means of the artificial symbiosis with algae and oscillatoriæ. *Bull. Intern. Acad. tcheque sci., C. I. sci. math. natur. med.*, 53, 129—133. — KORINEK, J. und V. POKORNY (1953): Excretion of glucides in *Agrobacterium radiobacter*. *Bull. Intern. Acad. tcheque sci., C. I. sci. math. natur. med.*, 52 (1), 73—80. — LARSEN, H. (1962): Halophilism. In: *The Bacteria*, Bd. 4. Gunsalus, I. C., und Stanier, R. Y., eds., S. 297—342. New York und London: Academic Press. — LEE, K. Y., R. WAHL und E. BARBU (1956): Contenu en bases puriques et pyrimidiques des acides desoxyribonucleiques des bactéries. *Ann. Inst. Pasteur* 91, 212—224. — LEHNER, A. und W. NOWAK (1957): Morphological studies on nodule bacteria cultures (*Rhizobium* sp.). *Can. J. Microbiol.* 3, 399—410. — LEIFSON, E. (1962a): The bacterial flora of distilled and stored water. I.: General observations, techniques and ecology. *Intern. Bull. Bactl. Nom. Tax.* 12, 133—153. — LEIFSON, E. (1962b): The bacterial flora of distilled and stored water. III.: New species of the genera *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Spirillum* and *Pseudomonas*. *Intern. Bull. Bactl. Nom. Tax.* 12, 161—170. — LEIFSON, E. (1963): Determination of carbohydrate metabolism of marine bacteria. *J. Bact.* 85, 1183—1184. — LEIFSON, E., B. J. COSENZA, R. MURCHELANO und R. C. CLEVERDON (1964): Motile marine bacteria. I.: Techniques, ecology, and general characteristics. *J. Bact.* 87, 652—666. — LIESKE, R. (1928): Untersuchungen über die Krebskrankheit bei Pflanzen, Tieren und Menschen. *Zblt. Bakt., Abt. I*, 108, 118—146. — LÖHNIS, F. (1921): Studies upon the life cycles of bacteria. I.: Review of literature 1838—1918. *Mem. Natl. Acad. Sci. US*, 16, 2nd. Mem. 1—252. — MARMUR, J. (1961): A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from microorganisms. *J. Mol. Biol.* 3, 208—218. — MARMUR, J., S. FALKOW und M. MANDEL (1963): New approaches to bacterial taxonomy. *Ann. Rev. Microbiol.* 17, 329—372. — METCHNIKOFF, M. E. (1888): *Pasteuria ramosa*. Un représentant des bactéries à division longitudinale. *Ann. Inst. Pasteur* 2, 165—170. — MOLL, G., R. AHRENS und G. RHEINHEIMER (1967): Elektronenoptische Untersuchungen über sternbildende Bakterien aus der Ostsee. *Kieler Meeresforsch.* 23, 137—147. — VAN NIEL, C. B. (1944): The culture, general physiology, morphology and classification of the nonsulfur purple and brown bacteria. *Bactl. Rev.* 8, 1—118. — NOWAK, W. (1966): Über ein sternbildendes Bodenbakterium aus dem Formenkreis der Chromobacteriaceæ. *Naturwiss.* 53, 338 bis 339. — OPPENHEIMER, C. H. (1964): Culture media of marine microbiology. Institute of Marine Science, Univ. of Miami, Florida 33149. — PÄECH, K. und M. V. TRACEY (1955): Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Bd. II, Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer. — PATE, J. L. und E. J. ORDAL (1965): The fine structure of two unusual stalked bacteria. *J. Cell Biol.* 27, 133—150. — PERFIL'EV, B. V. und D. R. GABE (1961): Kapilljarnye metody izucenija mikroorganizmov. (Kapillarmethode zur Untersuchung von Mikroorganismen.) M., Izd. Akad. Nauk SSSR (zitiert nach Gromov, 1967). — PRINGSHEIM, E. G. (1957): Observations on *Leucothrix mucor* and *Leucothrix cohaerens* nov. sp. With a survey of colourless filamentous organisms. *Bactl. Rev.* 21, 69—76. — PRINGSHEIM, E. G. (1966): Zur Kenntnis von *Leucothrix*, einer Gattung farbloser Cyanophyceen. *Arch. Mikrobiol.* 55, 266—277. — RHEINHEIMER, G. (1966): Einige Beobachtungen über den Einfluß von Ostseewasser auf limnische Bakterienpopulationen. Veröff. Inst. Meeresf. Bremerhaven, Sonderbd. II, 238—244. — RUSCHKE, R., und Margrit RATH (1966): *Sporocytophaga cauliformis* KNORR und GRÄF, eine Myxobakterienart mit großer Bedeutung für den Abbau organischen Materials. *Arch. Hydrobiol./Suppl.* XXVIII 4, 377—402. — SHEWAN, J. M. (1961): The microbiology of sea water fish. In: *Fish and Food*. Bd. I. Borgstrom, G., ed., S. 487—560. New York: Academic Press. — SIEBERT, G. und W. SCHWARTZ (1956): Untersuchungen über das Vorkommen von Mikroorganismen in entstehenden Sedimenten. *Arch. Hydrobiol.* 52, 321—366. — SKERMAN, V. B. D. (1959): A guide to the identification of the genera of bacteria, with digests of generic characteristics. Baltimore: Williams and Wilkins Co. — STAPP, C. und H. BORTELS (1931): Der Pflanzenkrebs und sein Erreger *Pseudomonas tumefaciens*. II. Mitteilung: Über den Lebenskreislauf von *Ps. tumefaciens*. *Zschr. Parasitenk.* 4, 101—125. — STAPP, C. und D. KNÖSEL (1954): Zur Genetik sternbildender Bakterien *Zblt. Bakt., Abt. II*, 108, 243—259. — STAPP, C. und D. KNÖSEL (1956a): Phasenoptisch-cytologische Untersuchungen sternbildender Bakterien. *Zblt. Bakt., Abt. II*, 109, 25—41. — STAPP, C. und D. KNÖSEL (1956b): Fortgeführte Untersuchungen über den Entwicklungszyclus und die Karyologie sternbildender Bakterien. *Zblt. Bakt., Abt. II*, 109, 416—428. — STAPP, C. und D. KNÖSEL (1956c): Zur Frage des Vorkommens sogenannter „Polyzygoten“ bei sternbildenden Bakterien. *Zblt. Bakt., Abt. II*, 109, 473—478. — STILLE, B. (1953): Beobachtungen über das Auftreten von Sternformen bei *Granulobacter pectinovorum*. *Arch. Mikrobiol.* 18, 165—169. — STOCKS, P. K. und C. S. McCLESKEY (1964): Morphology and physiology of *Methanomonas methanooxidans*. *J. Bact.* 88, 1071—1077. — STOUGHTON, R. H. (1929): The morphology and cytology of *Bacterium malvacearum*, E. F. S. *Proc. Roy. Soc., Ser. B*, 105, 469 bis 484. — STOVE POINDEXTER, J. (1964): Biological properties and classification of the *Caulobacter* group. *Bactl. Rev.* 28, 231—295. — STOVE POINDEXTER, J. L. und G. COHEN-BAZIRE (1964): The fine structure of stalked bacteria belonging to the family Caulobacteraceæ. *J. Cell Biol.* 23, 587—607. —

THIMANN, K. V. (1964): Das Leben der Bakterien (deutsche Übersetzung). Jena: Fischer. — WATANABE, N. (1960): On the life cycle of *Spirillum japonicum*. Bot. Mag. Tokyo 73, 44—50. — WOOD, E. J. F. (1953): Heterotrophic bacteria in marine environments of Eastern Australia. Aust. J. Mar. Freshw. Res. 4, 160—200. — WYATT, G. R. (1951): The purine and pyrimidine composition of deoxyribose nucleic acids. Biochem. J. 48, 584—590. — WYATT, G. R. und S. S. COHEN (1953): The bases of nucleic acids of some bacterial and animal viruses: the occurrence of 5-hydroxymethylcytosine. Biochem. J. 55, 774—782. — ZAVARZIN, G. A. (1960): The life cycle and nuclear apparatus in *Hyphomicrobium vulgare* STUTZ. and HARTLEB. Mikrobiologija (Translation) 29, 38—42. — ZAVARZIN, G. A. (1961): Budding bacteria (a review). Mikrobiologija (Transl.) 30, 774—791. — ZOBELL, C. E. (1946): Marine Microbiology. Waltham, Mass: Chronica Botanica Co. — ZOBELL, C. E. und H. C. UPHAM (1944): A list of marine bacteria including descriptions of sixty new species. Bull. Scripps Inst. Oceanogr. 5, 239—292.