

# 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.

## Weitere sternbildende Bakterien aus Brackwasser

Von RENATE AHRENS

**Zusammenfassung:** Elf sternbildende Bakterienstämme aus Brackwasser der Ostsee und der Elbemündung wurden mit *Agrobacterium stellulatum* und *A. ferrugineum* verglichen.

**Further star-forming bacteria from brackish water (Summary):** Eleven star-forming bacterial strains from brackish water of the Baltic Sea and the River Elbe have been compared with *Agrobacterium stellulatum* and *A. ferrugineum*.

### Einleitung

Bei der Untersuchung sternbildender Bakterien an der Ostsee (AHRENS, 1968) ließen sich zahlreiche Isolierungen der Gattung *Agrobacterium* zuordnen. Es handelte sich um kleine stäbchenförmige Zellen mit überwiegend runden Polen. Alle Arten besaßen bewegliche Vertreter.

Daneben wurde ein zweiter Typ sternbildender Bakterien in Brackwasser der Ostsee und der Elbemündung angetroffen, der größere Zellen mit spindeligen Polen besaß und stets unbegeißelt war. Die hier behandelten Stämme besitzen bräunliche bis braune weißumsäumte Kolonien, die den in der Ostsee sehr häufigen Arten *Agrobacterium stellulatum* und *A. ferrugineum* ähnlich sehen. Die Morphologie und einige physiologische Merkmale dieser Stämme werden beschrieben.

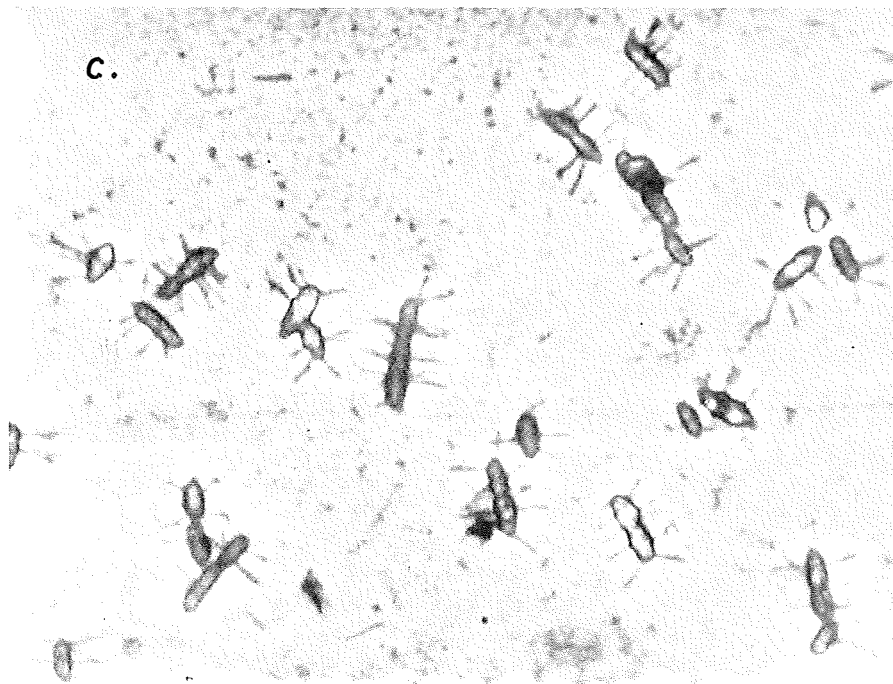
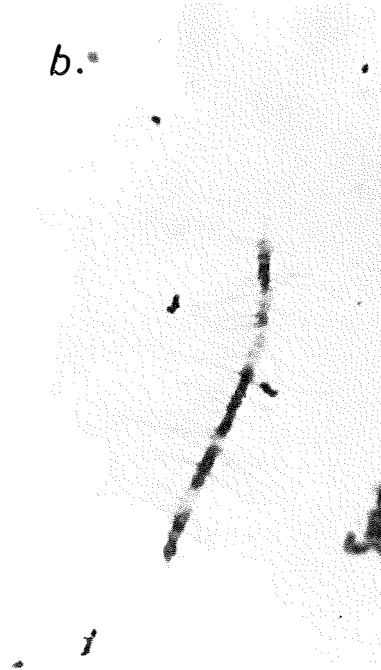
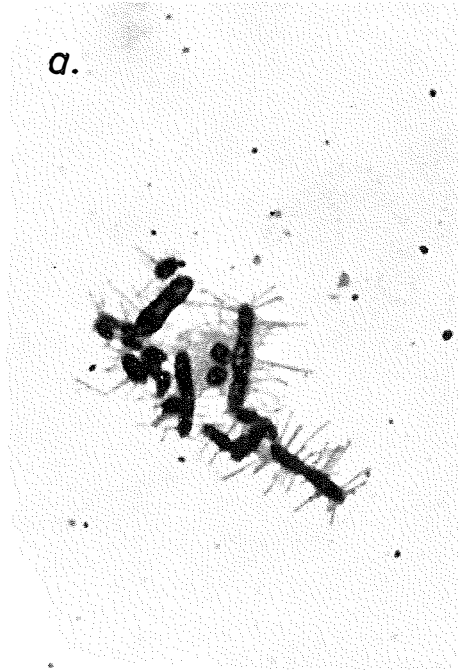
Tabelle 1  
Herkunft der Isolierungen

Stamm	Station	Tiefe	Salzgehalt der Probe (‰)
A 34	Ostsee, Breitgrund	10 m	18,0
A 47	Ostsee, Tonne C	2 m	17,2
A 53	Ostsee, Olpenitz	10 m	21,3
A 84	Ostsee, Darßer Schwelle	10 m	9,1
C 3	Elbemündung	1 m	8,2
C 4	„	über Grund	7,5
C 5	„	1 m	10,2
C 6	„	1 m	5,2
C 8	„	über Grund	4,5
C 9	„	über Grund	6,0
C 10	„	über Grund	13,0

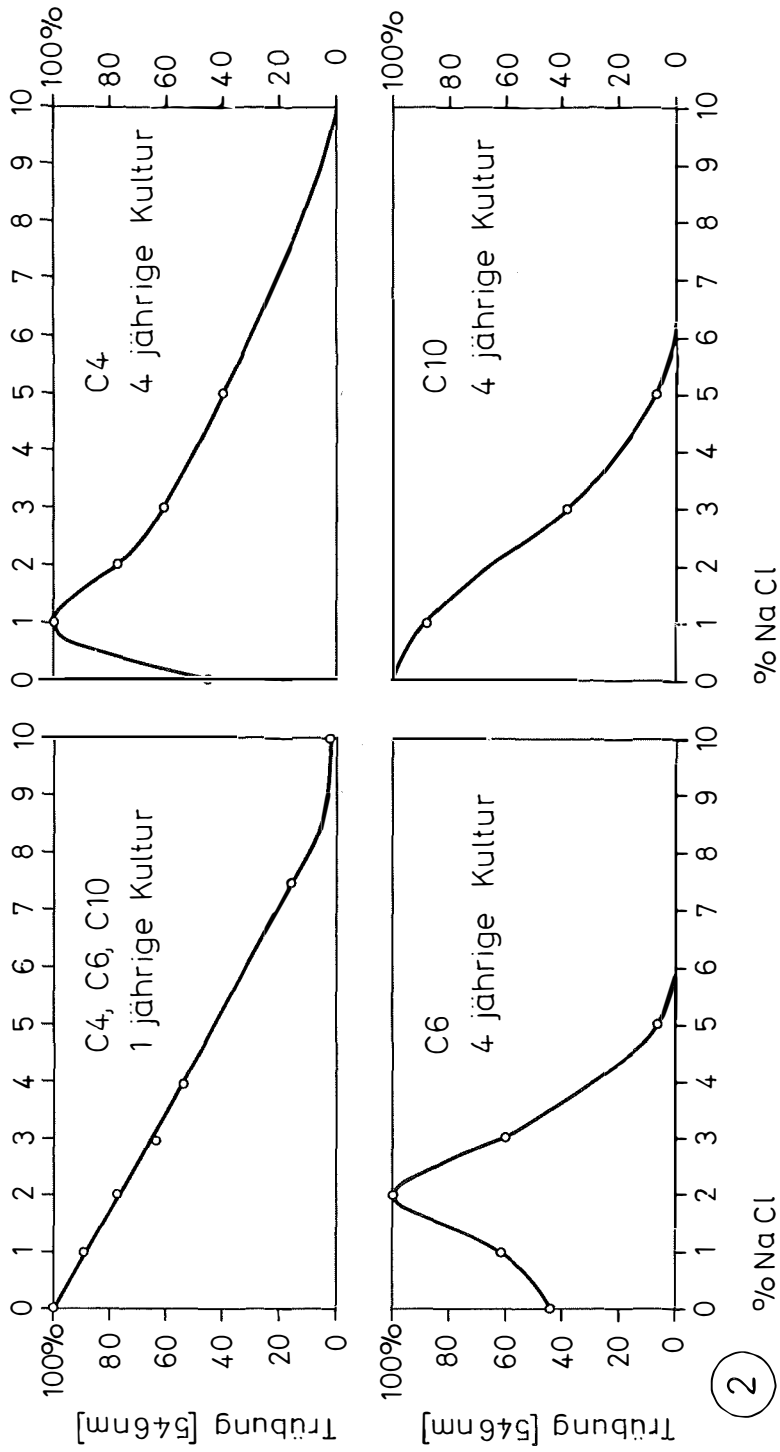
### Legende zu der nebenstehenden Abbildung (Tafel 1)

Abb. 1: Fimbrienträgende Zellen. Pepton-Hefeextrakt-Medium,  $\frac{1}{3}$  konzentriert, S  $24\text{‰}$ ,  $10^\circ\text{C}$ . Geißelfärbung nach Leifson. Vergr. 4000 fach.

- Stamm A 47, 3 Wochen alt. Hellfeld, Grünfilter.
- Stamm A 53, 3 Wochen alt. Hellfeld, Grünfilter.
- Stamm C 8, 2 Wochen alt. Phasenkontrast.



Tafel 1 (zu R. Ahrens)



2

Tafel 2 (zu R. Ahrens)

## Material und Methoden

Von den Sternbildnern des spindeligen Typs wurden 4 Stämme aus Ostseewasser (S 9—21‰) isoliert: *A 34*, *A 53*, *A 47*, *A 84*. Die Stämme *C 3*, *C 4*, *C 5*, *C 6*, *C 8*, *C 9*, *C 10* wurden aus dem Elbe-Aestuar bei Cuxhaven gewonnen (S 4.5—13‰). Herkunft und Salzgehalt der Wasserproben sind aus Tab. 1 zu ersehen.

Die Methoden für die Isolierung sowie die morphologischen und physiologischen Untersuchungen finden sich bei AHRENS und RHEINHEIMER (1967) und AHRENS (1968). Geißelfärbungen wurden nach der Vorschrift von LEIFSON (1960) ausgeführt.

## Ergebnisse

Die Kolonien der Ostseeisolierungen sind wie die von *Agrobacterium stellulatum* und *A. ferrugineum* nach 5 Tagen farblos, klein, rund, ganzrandig, flachkonvex, von glatter glänzender Oberfläche und mehr oder weniger transparent. Später werden sie zusehends trüber und maximal 2—2,5 mm groß. Das Zentrum färbt sich bei Stamm *A 53* und *A 84* bräunlich, bei *A 34* und *A 47* braun.

Die Cuxhaven-Stämme bilden ebenfalls braune Kolonien mit hellerem Saum. Sie sind größer, trüber und von weicherer Konsistenz als diejenigen von *A. stellulatum*. Ihr Durchmesser erreicht 3—5 mm; ihr Rand ist weißlich bis cremefarben.

Nach der Zellform lassen sich zwei Typen unterscheiden, einer mit deutlich spindeligen Polen (Spindeltyp) und einer, dessen Zellen in kurzen Spitzen enden (Intermediärform zwischen runden und spindeligen Polen). Dem Intermediärtyp gehören die Stämme *C 4*, *C 6*, *C 9*, *C 10* an, dem Spindeltyp die übrigen Stämme. Die Zellbreite beträgt in beiden Gruppen meist 0,8—1  $\mu$  (Lebendpräparat, Phasenkontrast), beim spindeligen Typ gelegentlich bis zu 1,3  $\mu$ . Zellen des Intermediärtyps werden 1—3  $\mu$  lang, die des Spindeltyps 1,5—5  $\mu$  oder länger. Letzterer bildet überwiegend Sterne aus wenigen langen Zellen. Bevorzugt treten Winkel von 120° auf (Zellpaare, dreigliedrige ebene Sterne) sowie der Tetraederwinkel (viergliedrige räumliche Sterne). Häufig erscheint das Sternzentrum lichtoptisch leer; die Zellen berühren sich nicht unmittelbar. Auch in Zellketten können die Einzelelemente in einigem Abstand voneinander liegen. Auffällig sind mehrfach eingeschnürte Teilungsstadien mit unterschiedlich langen Abschnitten, hantelförmige und keulenförmige Zellen sowie winzige spindelige Tochterzellen, die mit den Polen großer Spindelzellen verbunden sind. Viele Zellen enthalten sporenähnliche Einschlüsse.

Der Intermediärtyp bildet zumeist regelmäßige Zellen aus, die einzeln, in Ketten und in wenig- bis vielgliedrigen Rosetten angeordnet sind

Alle hier behandelten Stämme sind gramnegativ, nicht sporenbildend und ungeißelt. In Geißelfärbungen ließen sich bei den Isolierungen aus der Elbemündung bei Cuxhaven sowie bei den Stämmen *A 34* und *A 53* lange fädige Zellenanhänge nachweisen, dünner als Geißeln, die einzeln oder in Büscheln zumeist polar inseriert sind und offensichtlich Fimbrien darstellen, die im Dienste der Sternbildung stehen (vgl. AHRENS et al., 1968). Ihre Länge betrug 3—10  $\mu$  oder beträchtlich mehr und erreichte in einem Fall 65  $\mu$ . Solche Fimbrien wurden nach der Leifson-Methode auch bei den meisten Stämmen von *Agrobacterium stellulatum* und *A. ferrugineum* gefunden. Ähnliche Zellanhänge zeigten die Stämme *C 4* und *C 10* bereits in ungefärbten Präparaten. Es

---

### Legende zu der nebenstehenden Abbildung (Tafel 2)

Abb. 2: Abhängigkeit des Wachstums vom Salzgehalt; Veränderung der ●ptima durch vierjährige Laborzüchtung.

muß sich hierbei um Bündel aus zahlreichen Fimbrien oder um andere Abscheidungen handeln. Neben langen (polaren) Fimbrien besitzen die Stämme *A 47*, *A 53*, *C 8*, *C 9*, *C 10* zahlreiche dickere relativ kurze peritriche Fimbrien (Abb. 1). Über die Fimbrierung dieser Sternbildner wird noch gesondert zu berichten sein.

Folgende physiologischen Merkmale sind den behandelten Stämmen gemeinsam und stimmen mit *Agrobacterium stellulatum* und *A. ferrugineum* überein: Gelatine wird nicht verflüssigt. Im Impfstich wachsen kleine runde Kolonien. Stärke und Zellulose werden nicht hydrolysiert. Aus Tryptophan entsteht kein Indol. Der Methylrot- und Voges-Proskauer-Test fallen negativ aus. Alle Stämme benötigen eine organische Stickstoff-Quelle. Sie bilden Katalase und besitzen eine Oxydase. Für die Isolierungen aus der Elbemündung wurden ferner das Wachstum in 1% Phenol, das Wachstum auf einer Kartoffelscheibe sowie der Abbau von Chitin und Alginat mit negativem Ergebnis geprüft.

Nitratreduktion, Wachstum auf Süßwassermedien und Säurebildung aus Kohlenhydraten stellen die untersuchten Stämme entweder in die Nähe von *Agrobacterium ferrugineum* oder in die Nähe von *A. stellulatum*, wie aus Tab. 2 zu entnehmen ist.

Die Ernährungsansprüche stimmen mit *A. stellulatum* und *A. ferrugineum* überein. Peptonmedien werden gut verwertet. Ein Pepton-Hefeextrakt-Medium (2216 E von ZOBELL, ohne Agar) ermöglicht bei den Stämmen *C 4*, *C 9*, *C 8* bereits in einer Konzentration von  $\frac{3}{10}$  der Formelzusammensetzung gute Entwicklung. Höhere Nährstoffmengen wirken bei *C 4* und *C 9* weiterhin wachstumsfördernd, bei *C 8* hemmend.

Das Optimum der Reaktion liegt für Stamm *C 6* zwischen pH 6,5 und 8,5. Wachstum erfolgt zwischen pH 6 und pH 9. Die übrigen Stämme wurden hierauf nicht untersucht.

Der günstigste Temperaturbereich liegt für die Stämme *C 4*, *C 6*, *C 8* zwischen 5 und 25° C mit Optima bei 20—25° C.

Die Stämme *A 47* und *A 84* sind obligat halophil. Alle übrigen gedeihen auch ohne Salzzusatz. Die Maxima liegen zwischen 5 und 10% NaCl (*C 3*, *C 4*, *C 5*, *C 6*, *C 8*, *C 9*, *C 10*, *A 34*). Die Optima haben sich während der Laborzüchtung (S  $\frac{24}{100}$ ) teilweise zu höheren Salzgehalten verschoben. *C 4*, *C 5*, *C 6* wurden als Süßwasserorganismen isoliert. Ihre Optima lagen nach 4-jähriger Kultur bei 1% und 2% NaCl bzw. im Süßwasser (Abb. 2). Bei *C 5* verlagerte sich das Optimum von 1% nach 2% NaCl. Die übrigen untersuchten Stämme zeigten bei 1—3% NaCl die beste Entwicklung (Tab. 3).

Tabelle 3  
Salzoptima nach ein- bzw. vierjähriger Laborzüchtung

Stamm	Salzoptima nach 1-jähriger Kultur	Salzoptima nach 4-jähriger Kultur
<i>C 3</i>		1—2% NaCl
<i>C 4</i>	Süßwasser	1% NaCl
<i>C 5</i>	1% NaCl	2% NaCl
<i>C 6</i>	Süßwasser	2% NaCl
<i>C 8</i>		2% NaCl
<i>C 9</i>		3% NaCl
<i>C 10</i>	Süßwasser	Süßwasser
<i>A 34</i>	*1—2% NaCl	

\* nach 3-monatiger Kultur

Tabelle 2  
 Vergleich einiger Merkmale von *Agrobacterium ferrugineum* und *A. stellulatum*  
 mit abweichenden braunen Sternbildnern

Typ (Art)	<i>A. ferrugineum</i>		Stoffwechsel: <i>A. ferrugineum</i>		Stoffwechsel: <i>A. stellulatum</i>		<i>A. stellulatum</i>						
	A 7	C 4	C 6	C 10	C 3	C 5	C 8	A 53	A 34	C 9	A 47	A 84	A 5
	r	i	i	i	s	s	s	s	s	i	s	s	r
			Zelltyp: intermediär	Zelltyp: intermediär	Zelltyp: Spindelform	Zelltyp: Spindelform	Zelltyp: Spindelform	Zelltyp: Spindelform	Zelltyp: Spindelform	Zelltyp: Spindelform	Zelltyp: Spindelform	Zelltyp: Spindelform	Zelltyp: Spindelform
Stamm	A 7	C 4	C 6	C 10	C 3	C 5	C 8	A 53	A 34	C 9	A 47	A 84	A 5
Pole (r = rund; s = spindelig; i = intermediär)	r	i	i	i	s	s	s	s	s	i	s	s	r
beweglich	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
Säure aus: Glucose	(+)	(+)	(+)	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fructose	(+)	(+)	(+)	(+)	—	(+)	(+)	—	(+)	(+)	—	—	—
Xylose	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	+	—	—	—	—
Maltose	+	(+)	+	—	+	(+)	+	(+)	+	—	(+)	—	—
Glycerin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	—	—	—
Süßwassermedien	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	—	—	—
Nitrit aus Nitrat	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+
NH <sub>3</sub> aus Nitrat	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	(+)	+
NH <sub>3</sub> aus Pepton	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	+	(+)	(+)	+	+	(+)
H <sub>2</sub> S-Bildung	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—

### Schlußbetrachtung

Die hier behandelten sternbildenden Bakterien ähneln entweder *Agrobacterium stellulatum* oder *A. ferrugineum*, die ihrerseits zahlreiche gemeinsame Merkmale besitzen. Lediglich durch die überwiegend spindelige Zellform und die stets fehlende Begeißelung weichen sie von den Agrobacterium-Arten ab, z. T. auch durch den Besitz peritricher Fimbrien. Möglicherweise handelt es sich um Varianten der beiden Arten.

Bemerkenswert ist, daß einige Süßwasserorganismen durch mehrjährige Laborzüchtung bei 24‰ an Brackwasser angepaßt wurden, sei es durch Selektion oder durch Adaptation. Die Entwicklung in Süßwassermedien wurde dabei deutlich schwächer. Umgekehrt wurde gelegentlich festgestellt, daß halophile Bakterien durch längere Laborzüchtung süßwassertolerant werden können (ZOBEL, 1946, S. 120f). Daneben gibt es aber eine Vielzahl von Organismen, deren Salzansprüche auch bei längerer Kultur konstant bleiben. Im Brackwasser der Ostsee überwiegen obligat halophile Organismen mit z. T. recht stabilen Salinitätsoptima (RHEINHEIMER, 1968). Eine Verlagerung des Salzoptimums vom Süß- zum Brackwasser kann neben den hier beobachteten Fällen auch bei anderen süßwassertoleranten Sternbildnern stattgefunden haben. Dann ist ihr Ursprung möglicherweise außerhalb des marinen Bereiches zu suchen. Allerdings fanden sich bisher bei Untersuchung von Süßwasser keine entsprechenden Formen.

### Literaturverzeichnis

- AHRENS, R. (1968): Taxonomische Untersuchungen an sternbildenden *Agrobacterium*-Arten aus der westlichen Ostsee. Kieler Meeresforsch. 24, 147—173. — AHRENS, R., MOLL, G. u. RHEINHEIMER, G. (1968): Die Rolle der Fimbrien bei der eigenartigen Sternbildung von *Agrobacterium luteum*. Arch. Mikrobiol. 63, 321—330. — AHRENS, R. u. RHEINHEIMER, G. (1967): Über einige sternbildende Bakterien aus der Ostsee. Kieler Meeresforsch. 23, 127—136. — LEIFSON, E. (1960): Atlas of bacterial flagellation. Acad. Press, N. Y. u. London. — RHEINHEIMER, G. (1968): Über das Vorkommen von Brackwasserbakterien in der Ostsee. III. Europ. Symp. für Meeresbiologie, Arcachon, Frankreich. — ZOBEL, C. E. (1946): Marine Microbiology. Chronica Botanica Co., Waltham, Mass.