

Ein *Actinomyces oligocarboophilus*-Stamm von hoher Eisenbeständigkeit.

(Aus dem Institute für Botanik, Warenkunde, techn. Mikroskopie und Mykologie der Deutschen Technischen Hochschule in Brünn, Nr. 54.)

Von Dr. Ing. Rudolf Bojanovsky.

Zusammenfassung.

Aus dem Wasser eines eisenhaltigen Baches wurde ein Stamm von *Actinomyces oligocarboophilus* gezüchtet, der eine ganz außerordentliche Widerstandsfähigkeit gegen Eisen zeigt. In Lösungen mit 5% Mohrschem Salz (0.71% Fe) kommt er noch gut vorwärts und entwickelt bei dieser Fe-Konzentration sogar mehr Kolonien, als bei 0.5% Mohrsalz.

Anlässlich einer größeren Arbeit über eisenbedürftige Zellulosezerstörer¹⁾ sammelte ich auch Kleinwesen aus einem Bächlein bei Altsattel im Egerlande. Das Wasser kam aus einem Stollen, durch den man in früheren Zeiten Braunkohle und Pyrit gefördert hatte, und war, offenbar wegen auch heute noch vorhandener Reste des Eisenerzlagere, äußerst eisenreich. Einige Meter hinter dem Austritt aus dem Stollen war ein kleiner Wasserfall. Der Boden des Bächleins und die einzelnen Stufen des Wasserfalls bestanden aus großen Mengen abgefallener Blätter, die durch dicke Krusten von braunem Eisenhydroxyd zusammengekittet waren. Stollenwasser mit solchen verkrusteten Blättern bildete meine Ausgangskultur. Im mikroskopischen Bilde zeigte das Gewebe der Blätter, nachdem das $\text{Fe}(\text{OH})_3$ mit HCl weggelöst worden war, stellenweise stark angegriffene Zellwände. Es gelang auch tatsächlich, aerobe zellulosezerstörende Bakterien abzusondern. Sie waren aber stets von einem Strahlenpilz begleitet, der an der Flüssigkeitsoberfläche zusammenhängende, weiße, schwerbenetzbare Kolonien bildete und gut gedieh, trotzdem die Nährlösung, abgesehen von einem eingetauchten Filtrierpapierstreifen, bloß aus anorganischen Salzen zusammengesetzt war. Nach all diesen Eigenschaften und nach dem mikroskopischen Bilde, von dem später die Rede sein soll, erwies sich der Strahlenpilz als der von Kurt Lantzsch²⁾ beschriebene *Actinomyces oligocarboophilus*. Da in der Rohkultur keine autotrophen Kleinwesen vorkamen, bot die Reinkultur keine besonderen Schwierigkeiten. Schon nach einmaligem Wachstum auf einer anorganischen Nährlösung ohne Filtrierpapier war der Strahlenpilz frei von Zellulosebakterien und mithin überhaupt rein, da die übrigen Kleinwesen der Rohkultur schon bei Gewinnung der Zellulosezerstörer entfernt worden waren.

¹⁾ Die Arbeit wird demnächst im Zentralblatte für Bakt., II. Abt., erscheinen.

²⁾ Kurt Lantzsch, Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 57, S. 309.

Act. oligocarb. besitzt noch Bruno Kober¹⁾ eine ganz außerordentliche Widerstandsfähigkeit gegenüber hohen Neutralsalzkonzentrationen. Er gedeiht noch in Lösungen mit 5% NaCl oder 25% MgSO₄ · 7H₂O. Etwa 0·6 Mole im Liter (3% NaCl bzw. 15% MgSO₄ · 7H₂O) bedeutet bei beiden Salzen einen ausgezeichneten Punkt, da bei dieser Konzentration die Koloniengröße ihren Höchstwert, die Kolonienzahl aber ihren Mindestwert erreicht.

Diese Beobachtungen von Kober im Verein mit der Tatsache, daß der vorliegende Stamm des Act. oligocarb. einem eisenreichen natürlichen Nährboden entstammte, ließen vermuten, daß er auch größeren Eisenmengen gegenüber beständig sein würde, ja daß vielleicht auch Eisenverbindungen gegenüber bei einer gewissen Konzentration ein ähnlicher ausgezeichneter Punkt bestehen könnte.

Bei allen Versuchen zur Prüfung dieser Vermutung wurde folgende Grundlösung verwendet:

dest. Wasser	1000
K ₂ HPO ₄	0·2
Ca(NO ₃) ₂	0·2
NaCl	Spur

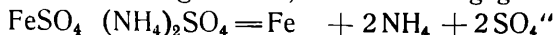
Dazu kamen je nach dem Zwecke der Versuchsreihe wechselnde Mengen von Magnesiumsulfat oder Mohrschem Salz (FeSO₄ [NH₄]₂SO₄ · 6H₂O) oder beiden. Die Zusammensetzung dieser Nährlösung leitet sich von dem von O. Richter²⁾ zur Reinzucht von Algen empfohlenen „Mohragar“ her, auf dem nach Kober auch Act. oligoc. gut gedeiht; sie hat sich bei meinen Versuchen sehr gut bewährt. Die Brutschranktemperatur war in allen Fällen 30°C.

Die Versuchsreihen wurden so angelegt, daß sie sich in zwei Gruppen einordnen lassen:

A. Lösungen, die 0·6 Mole Magnesiumsulfat im Liter enthalten (ausgezeichneter Punkt nach den Ergebnissen Kobers), oder Magnesiumsulfat und Mohrsalz in solchen Mengen, daß beide zusammen zu 0·6 Molen isotonisch sind. Hierbei ist zu beachten, daß ein Mol Magnesiumsulfat nach der Dissoziationsgleichung



zwei Ionen in die Lösung schickt, Mohrsalz hingegen nach



fünf Ionen. Zu einem Mol MgSO₄ sind also $\frac{2}{5}$ Mole Mohrsalz isotonisch. Die Lösungen müssen daher, um der oben gestellten Bedingung zu entsprechen, für x Mole Mohrsalz

$$x = 0·6 - \frac{5}{2} a$$

Mole MgSO₄ enthalten.

B. Lösungen ohne MgSO₄ mit steigenden Mengen Mohrsalz von 0·5 — 19·6%³⁾ (gesättigte Lösung).

¹⁾ Bruno Kober, Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 79, S. 370.

²⁾ O. Richter, „Anwendung selektiver Nährböden bei der Reinzucht, von Algen“, Anz. Akad. Wien, Math.-nat. Kl., Abt. I., Nr. 15 (1919), S. 201.

³⁾ Mit % sind hier stets g in 100 ccm gemeint.

Alle Versuchsreihen dieser beiden Gruppen, über deren Ergebnis im folgenden berichtet werden soll, wurden selbstverständlich auch mikroskopisch verfolgt. Da aber die mikroskopischen Befunde nicht wesentlich mit der Beantwortung der gestellten Frage zusammenhängen, wohl aber die Ergebnisse von Kober bezüglich Morphologie und Cyclogenie des Act. oligocarb. voll bestätigen, seien sie hier zunächst kurz erwähnt. In jungen Kulturen zeigten sich die von Kober angegebenen Formen des „kleinen Entwicklungskreises“: Strangplasma; Regenerativkörperchen, häufig mit stärker färbaren (Vitalfärbung) Körnchen; Stäbchen, zum Teil auch in Konjunktion, oder zu Fäden auswachsend; normale Pilzfäden. In alten Kulturen (auch über ein Jahr alte ließen sich ohne Schwierigkeit weiterimpfen) körniges Symplasma in ungemein großen, schön ausgebildeten Flächen. In gut entwickelten aber noch jungen Kulturen (z. B. am 9. Tage) auf anorganischer Nährlösung waren stets auch Lufthyphen zu sehen. In den eisenhaltigen Lösungen bildete sich das Fadengeflecht ebenfalls in normaler Weise aus, sofern es sich nicht um Konzentrationen handelte, bei denen das Wachstum überhaupt unterblieb. Bei höheren Konzentrationen (z. B. 5% Mohrsalz) war das Fadengeflecht häufig ganz mit $\text{Fe}(\text{OH})_3$ durchsetzt und wurde erst nach Weglösen des Hydroxyds durch H_2SO_4 deutlich sichtbar. Bei ganz hohen Konzentrationen (9.4% Mohrsalz und mehr) trat, wie später gezeigt werden soll, überhaupt kein Wachstum ein. Das mikroskopische Bild zeigte, abgesehen von manchmal vereinzelt vorkommender Impfmasse, bloß $\text{Fe}(\text{OH})_3$.

Im folgenden seien nun die beiden Gruppen von Versuchsreihen und ihre Ergebnisse in übersichtlicher Form wiedergegeben.

Gruppe A.

Gesamtmolgehalt isotonisch zu 0.6 Mol MgSO_4 im Liter

Vers. Reihe	$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{ aq}$		Mohrsalz			Befund
	Mol/l	%	Mol/l	$\frac{1}{3}$ Mol/l	%	
1	0.6	14.8	—	—	—	Ankommen nach 2 Tagen; nach 5 Tagen bereits üppiges Wachstum (sehr viele Kolonien).
2	0.6	14.8	0.0005	0.0013	0.02	Ankommen nach 2 Tagen; nach 5 bis 9 Tagen üppiges Wachstum.
3	0.5682	14.—	0.0127	0.0318	0.5	Ankommen nach 4 Tagen; nach 11 Tagen Kolonien auch noch vereinzelt; dieser Zustand bleibt auch weiterhin unverändert.
4	0.2815	6.94	0.1273	0.3185	5.—	Ankommen nach 8 Tagen; nach 12 Tagen mäßig viele Kolonien; Zustand bleibt.
5	—	—	0.24	0.6	9.4	Impfmasse bleibt einige Zeit erhalten; kein neues Wachstum.

Aus diesen Ergebnissen folgt zunächst, daß — wie zu erwarten war — das Schwermetall Fe den Metallen aus den niederen Gruppen des periodischen Systems Na und Mg auch bei einem derart widerstandsfähigen Kleinwesen, wie dem *Act. oligocarb.* trotz isotonischen Lösungen nicht gleichwertig ist. Während 0·6 Mole $MgSO_4$ sehr üppiges Wachstum gestatten, tritt bei der isotonisch entsprechenden Mohrsalzmenge überhaupt kein Wachstum mehr ein. Immerhin kommt der Pilz noch bei 5% Mohrsalz + 7% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ gut fort, was wohl einen Gipfel der Duldsamkeit gegenüber Eisen bedeutet.

Ferner muß festgestellt werden, daß der untersuchte Stamm von *Act. oligocarb.* auch bei erstmaliger Überimpfung auf eine Lösung mit 15% Magnesiumsulfat bereits nach 2 Tagen erstes Wachstum zeigt, während Kober bei seinen Stämmen gefunden hat, daß bei Überimpfung auf einen neuen, dem Pilze noch nicht vertrauten Nährboden 6—7 Tage vergehen, ehe ein mit freiem Auge sichtbares Wachstum eintritt. Die Zeit des Ankommens verzögert sich bei dem vorliegenden Stamme aber mit steigendem Fe-Gehalte. Ein weiterer Unterschied gegenüber den Beobachtungen von Kober besteht darin, daß der vorliegende Stamm auch bei 15% Magnesiumsulfat verhältnismäßig kleine Kolonien entwickelt, während Kober an seinen Stämmen gerade bei diesem $MgSO_4$ -Gehalte außergewöhnlich große Kolonien beobachtet hat.

Gruppe B.

Steigender Fe-Gehalt; kein $MgSO_4$.

Ver- s. Reihe	Mohrsalz			Befund
	Mol/l	$\frac{2}{5}$ Mol/l	%	
6	0·0127	0·0318	0·5	Ankommen nach 4 Tagen; nach 8 Tagen mäßig viele Kolonien; Zustand bleibt.
7	0·1273	0·3185	5 —	Ankommen nach 8 Tagen; nach 12 Tagen bereits viele Kolonien.
5	0·24	0·6	9·4	Impfmasse bleibt einige Zeit erhalten; kein weiteres Wachstum.
8	0·3	0·75	1·76	Kein Wachstum.
9	0·5	1·25	19·6 (ges.)	Kein Wachstum.

Diese Tabelle zeigt zunächst das bereits aus der Gruppe A bekannte Ergebnis, daß die Grenze des Wachstums bei etwa 9·4% Mohrsalz liegt. Bei 5% kommt der Strahlenpilz noch gut weiter. Gegenüber 0·5% (Versuchsreihe 7 gegen 6) zeigt sich hier eine

Gesetzmäßigkeit, die auch bei den Mg-Versuchen (Gruppe A, Versuchsreihe 4 gegen 3) — wenn auch weniger ausgeprägt — aufgetreten ist. Bei 0·5% Mohrsalz wird erstes Wachstum nach 4 Tagen sichtbar; bei 5% ist die Inkubationszeit bereits verdoppelt. Im Laufe der weiteren Entwicklung bildet der Pilz aber bei 5% in beiden Gruppen eine größere Anzahl von Kolonien aus, als bei 0·5%. Das bedeutet zwar nicht gerade einen Höchstwert an Lebenstätigkeit, denn die Kolonienzahl allein ist kein Maß dafür, und auch das langsamere Ankommen spricht dagegen; auch ist die Kolonienbildung in Lösungen ohne oder mit sehr geringem Mohrsalzzusatz (0·02%) noch viel üppiger; — immerhin stellt aber 5% Mohrsalz entsprechend 0·1273 Mol/l in gewissem Sinne einen „ausgezeichneten Wert“ dar.

Ein Vergleich der einander entsprechenden Versuche mit und ohne $MgSO_4$ sei durch die folgende auszugsweise Gegenüberstellung der Tabellen A und B erleichtert:

Vers. Reihe	$MgSO_4$, 7 aq		Mohrsalz			Befund
	Mol/l	%	Mol/l	$\frac{2}{5}$ Mol/l	%	
3	0·5382	14·—	0·0127	0·0318	0·5	Ankommen nach 4 Tagen; nach 11 Tagen Kolonien auch noch vereinzelt; Zustand bleibt.
6	—	—	0·0127	0·0318	0·5	Ankommen nach 4 Tagen; nach 8 Tagen mäßig viele Kolonien; Zustand bleibt.
4	0·2815	6·94	0·1273	0·3185	5·—	Ankommen nach 8 Tagen nach 12 Tagen mäßig viele Kolonien; Zustand bleibt.
7	—	—	0·1273	0·3185	5·—	Ankommen nach 8 Tagen; nach 12 Tagen bereits viele Kolonien.

Bei gleichen Fe-Gehalten kommt der Pilz also, gleichgültig ob $MgSO_4$ vorhanden ist oder nicht, nach einer gleichen Anzahl von Tagen an; hingegen bleibt das weitere Wachstum in den $MgSO_4$ -haltigen Lösungen zurück. Mg^{++} hat also in diesem Falle eine hemmende Wirkung, ganz im Gegensatz zu seiner entgiftenden Wirkung, die Kobert bei dem an sich schädlichen Einflusse höherer K⁺-Konzentrationen auf den Act. oligocarb. festgestellt hat.

Die Eisenbeständigkeit des untersuchten Act. oligocarb.-Stammes muß als ganz außerordentlich hoch bezeichnet werden. Die zu Anfang dieser Arbeit erwähnten Zellulosezerstörer zeigen einen Höchstwert des Wachstums bei 0·1% Mohrsalz. Bei 0·5% kommen sie nurmehr äußerst kümmerlich vorwärts, bei höheren Fe-Gehalten überhaupt nicht. Anpassungen an noch höhere Eisen-

gehalte wurden meines Wissens bisher nicht beschrieben. Daß der untersuchte Stamm von *Act. oligocarb.* noch bei 5% Mohrsalz, entsprechend 0.71% Fe (!) nicht nur gut gedeiht, sondern auch lebhaftere Kolonienbildung zeigt, als bei weniger Fe, ist ein neuerlicher Beweis für die ungewöhnlich hohe Widerstandskraft und Anpassungsfähigkeit dieses Strahlenpilzes; umso mehr, als das Fe infolge des geringen Phosphatgehaltes der angewendeten Nährlösung fast gänzlich in Lösung bleibt und die Wasserstoffionenkonzentration durch das Mohrsalz erhöht wird. (In der Grundlösung + 5% Mohrsalz wurde $p_H=6$ festgestellt.)

Zum Schlusse sei mir noch vergönnt, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn o. ö. Prof. Dr. Oswald Richter, der auch diese Arbeit durch seine Anteilnahme gefördert hat, meinen innigsten Dank auszusprechen.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Verhandlungen des naturforschenden Vereines in Brünn](#)

Jahr/Year: 1932

Band/Volume: [64](#)

Autor(en)/Author(s): Bojanovsky Rudolf

Artikel/Article: [Ein Actinomyces oligoearbophilus-Stamm von hoher Eisenbeständigkeit. 50-55](#)