

## Lebensfähigkeitstest durch $S^0$ –Bestimmung (phototrophe Schwefelbakterien)

### Prinzip

Die Methode von Van Gernerden geht von der Fragestellung aus, inwiefern eine Population von Chromatiaceen, die vorübergehend schlechten Bedingungen ausgesetzt ist, unter optimalen Umständen wieder auflebt (Ausgangspopulation sollen schwefelfreie Zellen sein). Mit dem Test weist man das Funktionieren bestimmter Stoffwechselwege der Chromatiaceen nach, woraus indirekt die Lebensfähigkeit einer Population bestimmt wird. Eine Bakterienpopulation enthält tote und lebende Zellen. Die lebenden können metabolisch aktiv sein und sich vermehren oder sie sind metabolisch inaktiv und betreiben einen Erhaltungsstoffwechsel d.h. sie vermehren sich nicht. Letztere bezeichnete Postgate (1976) als "pseudosenescent cells". Geht es um die Fähigkeit einer Population, ungünstige Perioden zu überdauern, spielen ruhende Zellen eine wichtige Rolle, da sie die Startpopulation bilden, die wachsen, sobald sich die Bedingungen verbessern.

Lebensfähige Chromatiaceen oxidieren im Licht Sulfid zu Schwefel, der intrazellulär gespeichert und bei längerer Lichtexposition weiter zu Sulfat oxidiert wird. Van Gernerden (1980) entwickelte den Test aufgrund der Beobachtungen von Beefink et al. (1979), der feststellte, dass auf Acetat gewachsene Chromatiaceen ohne lag-Phase Sulfid oxidieren und bei längerer Inkubation im Licht den eingelagerten Schwefel (Probe 1) zu Sulfat weiteroxidieren (Probe 2). Tote Chromatiaceenzellen lysieren im betrachteten Zeitraum nicht total, ergeben also keine Verfälschung der erhaltenen Lebensfähigkeit (um die Zunahme der Biomasse gering zu halten, wird ein stickstoffreies Medium ohne organische C-Quelle für die Inkubation verwendet).

### Vorgehen

- Je 7 ml Kultur und 2 ml Medium, das wenig  $HS^-$  enthält, in zwei 9 ml-Glasröhrchen füllen, anoxisch verschliessen.
- Für ca. 1 Stunde ans Licht stellen.
- Aus Röhrchen 1 einen Tropfen auf einen Agarose-beschichteten Objektträger geben und unter dem Mikroskop in mindestens fünf Blickfeldern die mit Schwefel gefüllten Zellen ( $S_1$ ) sowie die totale Anzahl Zellen ( $N_1$ ) auszählen.
- Röhrchen 2 weiterhin beleuchten.
- Nach 12 Stunden 1 Tropfen Probe aus Röhrchen 2 auszählen ( $S_2, N_2$ ).

### Berechnungen

Die Berechnung der Lebensfähigkeit beruht auf der folgenden Überlegung (Van Gernerden,1985):

$$\frac{S\text{-haltige Zellen}_{(\text{am Anfang})} - S\text{-haltige Zellen}_{(\text{am Ende})}}{\text{Gesamtzellzahl}} \cdot 100 [\%]$$

$$V[\%] = \frac{S_1 - S_2}{N_1} \quad (\text{Annahme: } N \text{ verändere sich während der Dauer des Tests nicht})$$

Für  $S_2 \ll S_1$  d.h. praktisch alle anfänglich  $S^0$  –haltigen Zellen haben den Schwefel oxidiert.

$$\frac{S_1}{N_1} \approx 1 \text{ und } V[\%] = 100$$

Ausgedrückt in der Van Gernerden Formel:

$$V[\%] = \frac{N_1 - (N_1 \cdot 1 - f_1) + N_2 \cdot f_2}{N_1} \cdot 100$$

$$V [\%] = \text{Lebensfähigkeit in } [\%] = 100 \cdot (f_1 - f_2)$$

$N_1, N_2$  = Gesamtzellzahl in Probe 1 bzw. 2, Annahme:  $N_1 \approx N_2$

$S_1, S_2$  = Anzahl schwefelhaltiger Zellen in Probe 1 (vorher) bzw. 2 (nachher)

$f_1, f_2$  = Anteil schwefelhaltiger Zellen zu den Zeitpunkten 1 bzw. 2 ( $f = S/N$ )

S/N = Verhältnis der schwefelhaltigen Zellen zur Gesamtzellzahl

Als nicht lebensfähig gelten Zellen, welche nach der ersten Inkubation im Licht (1 Stunde) keinen Schwefel eingelagert haben ( $N_1 \cdot (1 - f_1)$ ) sowie Zellen, die auch nach verlängerter Inkubation noch Schwefelkörner enthalten ( $N_2 \cdot f_2$ ).

### Literatur

- Beeftink HH, Van Gernerden H. 1979. Actual and potential rates of substrate oxidation and product formation in continuous cultures of *Chromatium vinosum*. *Arch. Microbiol.* 121:161-167
- Känel B, Mez K. 1992. *Vielfalt und Dynamik mikrobieller Stoffwechselaktivitäten in der Redoxtransitionszone des Lago di Cadagno*. Diplomarbeit Universität Zürich
- Postgate JR. 1976. Death in macrobes and microbes. Symposium of the Society of General Microbiology 26, 1-18, University Press, Cambridge
- Van Gernerden H. 1980. Survival of *Chromatium vinosum* at low light intensities. *Arch. Microbiol.* 125:115-121
- Van Gernerden H. 1985. Diel cycle of metabolism in phototrophic purple sulfur bacteria in Lake Cisò (Spain). *Limnol. Oceanogr.* 30:932-943