

ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAPHICA

Editor: G. WOLF

E 1036/1966

Chromatium okenii (Thiorhodaceae)
Biokonvektion, aero- und phototaktisches Verhalten

Mit 1 Abbildung

GÖTTINGEN 1968

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

Der Film ist ein Forschungsdokument und wurde zur Auswertung in
Forschung und Hochschulunterricht veröffentlicht.

Stummfilm, schwarzweiß, 107 m, 10 min (Vorführgeschw. 24 B/s)

Inhalt des Films

Der Film zeigt die Bewegungsformen und -richtungen von *Chromatium okenii* unter normalen Bedingungen. Ferner werden Verhalten und Reaktion auf Licht- und Luftreize demonstriert sowie die Bildung eines Biokonvektionsmusters.

Der Film wurde im Jahre 1965 vom Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen (Direktor: Prof. Dr.-Ing. G. WOLF), aufgenommen; Sachbearbeitung: Dr. K.-H. HÖFLING; Aufnahme: H. D. KUSMIERZ; wissenschaftliche Leitung: Prof. Dr. N. PFENNIG, Institut für Mikrobiologie der Universität Göttingen (Prof. Dr. H. G. Schlegel).

Abgedruckt in Publ. Wiss. Film., Bd. 2 A, H. 3

Chromatium okenii (Thiorhodaceae)

Biokonvektion, aero- und phototaktisches Verhalten

N. PFENNIG, Göttingen

Allgemeine Vorbemerkungen

Systematische Stellung, Vorkommen in der Natur und allgemeine Merkmale von *Chromatium okenii*

Chromatien und Thiospirillen sind die Prototypen der roten Schwefelbakterien (Thiorhodaceae, van NIEL [11]), einer physiologisch-ökologischen Gruppe von streng anaeroben, photosynthetisch lebenden Mikroorganismen. In der Natur kommen die Thiorhodaceae im lichtoffenen oder mit Wasserpflanzen überdeckten schwefelwasserstoffhaltigen Wasser und Schlamm aller Gewässerarten vor. Sie bilden gelegentlich mit bloßem Auge sichtbare Massenanhäufungen in Form von rosa- oder purpurroten Überzügen auf faulenden Pflanzenresten oder eine das Wasser purpurrot färbende Wasserblüte.

Die Kohlensäure-Assimilation der photosynthetischen Bakterien verläuft im Gegensatz zu den grünen Pflanzen ohne Sauerstoffbildung und nur unter anaeroben Verhältnissen. Darüber hinaus ist die bakterielle Photosynthese der Thiorhodaceae von der Gegenwart reduzierter Schwefelverbindungen, wie Schwefelwasserstoff, Thiosulfat oder elementarem Schwefel abhängig. Bei der Reduktion der Kohlensäure zu Zellsubstanz werden die reduzierten Schwefelverbindungen im Lichte zu Sulfat oxidiert (van NIEL [10]). Als Zwischenprodukt tritt dabei elementarer Schwefel in Tröpfchenform in den Zellen gespeichert auf.

Chromatium okenii PERTY wurde zusammen mit *Thiospirillum jenense* WINOGRADSKY von EHRENBERG [5] entdeckt und zu Ehren von LORENZ OKEN als *Monas okenii* beschrieben. Die Einzelzellen sind 5 bis 6,5 μ dick und 8 bis 15 μ lang (WINOGRADSKY [19]). Der Zellkörper ist stäbchen- bis tonnenförmig, manchmal schwach gekrümmt bis nierenförmig; er trägt an einem Ende einen langen, starren, Geißelschopf (in gestrecktem Zustand 20 bis 30 μ m lang), der aus bis zu 40 Einzelgeißeln besteht

(BUDER [2]), aber als Einheit wirkt. Die schraubenförmig gewundene Geißel von *Chromatium okenii* ist ebenso wie die kurze Geißel von *Thiospirillum jenense* im Lichtmikroskop gut sichtbar und wurde deshalb auch schon von BUDER [2] und METZNER [9] als ein Schulbeispiel für die von BÜTSCHLI [1] aufgestellte Theorie der Geißelbewegung ausführlich beschrieben. In schwefelwasserstoffhaltigen Medien sind die Zellen von *Chromatium okenii* gleichmäßig mit stark lichtbrechenden Schwefeltröpfchen angefüllt.

Die klassischen Untersuchungen an *Chromatium okenii* wurden an Zellen angestellt, die vom natürlichen Standort entnommen waren. Die Lebensbedingungen von *Chromatium okenii* sind ebenso wie von *Thiospirillum jenense* erst vor einigen Jahren aufgeklärt worden (SCHLEGEL u. PFENNIG [17], PFENNIG [12], [13], [14]). Deshalb ist es heute möglich, diese Organismen in synthetischer Nährlösung in Reinkultur im Laboratorium zu kultivieren. Vitamin B₁₂ wurde als notwendiger Wachstumsfaktor erkannt.

Assimilationspigmente

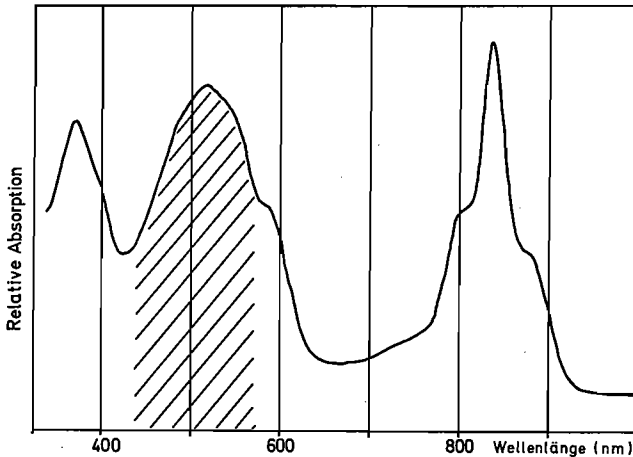
Chromatium okenii enthält ebenso wie die übrigen roten Schwefelbakterien Bakteriochlorophyll a und Carotinoide (Okenon) als Assimilationspigmente (JENSEN et al. [8], SCHMIDT [18]). Die kräftig purpurrote Eigenfarbe der Zellen ist durch das Hauptcarotinoid Okenon bedingt, das die blaugrüne Chlorophyllfärbung ganz überdeckt. An einer spektralen Absorptionskurve lebender Zellen von *Chromatium okenii* sind die Absorptionsmaxima des Bakteriochlorophylls a (375, 590 und 800—890 nm) und des Okenons (520 nm) gut zu erkennen (vgl. Abb.).

Phobische Phototaxis

Sowohl die von Bakteriochlorophyll a als auch von den Carotinoiden absorbierte Strahlung sind photosynthetisch und phototaktisch wirksam. Ein eigenartiger Mechanismus, auf eine Herabsetzung der Lichtintensität mit einer Schlagumkehr der Geißel und damit mit einer Bewegungsumkehr der Zelle zu reagieren, führt die planlos umherschwimmenden Zellen immer wieder in das Licht zurück. Diese phobophototaktische Reaktionsweise ist seit ihrer Entdeckung durch ENGELMANN [6], [7] auch als „Schreckreaktion“ bekannt und an verschiedenen photosynthetischen Bakterien mehrfach untersucht worden (BUDER [2], METZNER [9], SCHLEGEL [16], CLAYTON [4]).

Da nur diejenige Strahlung physiologisch wirksam ist, die von den Assimilationspigmenten absorbiert wird, bedeuten alle nicht absorbierten Spektralbereiche „Dunkelheit“ für die Zellen. Das Absorptionsspektrum der lebenden Zellen (Abb.) stellt also zugleich ein Wirkungsspektrum der Photosynthese und Phototaxis dar (CLAYTON [4]). ENGELMANN hatte dies bereits 1883 [6] an seinem *Bacterium photometricum* entdeckt: Be-

strahlte er eine Suspension von beweglichen Zellen dieses Organismus mit einem Spektrum, so sammelten sich die Zellen phobophototaktisch in denjenigen Spektralbereichen an, die dem Absorptionsspektrum der Zellen entsprachen.



Spektrale Absorptionskurve lebender Zellen von *Chromatium okenii*, gemessen in gesättigter Rohrzuckerlösung. Das Absorptionsmaximum über der schraffierten Fläche ist durch das Carotinoid Okenon bedingt, alle übrigen Absorptionsmaxima und die Schulter bei 590 nm gehören zu Bakteriochlorophyll a

Die roten Schwefelbakterien reagieren aber nicht nur auf Lichtreize durch eine phobische Reaktion, sondern zeigen auch eine negative Aero-taxis an der Diffusionsgrenze der Luft im Kulturmedium und eine positive oder negative Chemotaxis. CLAYTON [4] hat unsere Kenntnisse über die Taxien der photosynthetischen Bakterien zusammenfassend dargestellt.

Geißelbewegung und Zellbewegung bei *Chromatium okenii*

Anknüpfend an die Beobachtungen von BUDER [2] hat METZNER [9] die Geißelbewegung von *Chromatium okenii*, auch an Hand von Modellen, genauer untersucht und beschrieben. Die Geißel von *Chromatium okenii* ist in der Ruhelage eine starre, rechtsläufige Schraube mit $1-1\frac{1}{2}$ Windungen. Rotiert die rechtsläufige Geißelschraube von rechts nach links, so wirkt sie als Schubgeißel und treibt den sich von links nach rechts drehenden Zellkörper vorwärts. Der Schwingungsraum der Geißel ist dabei eng und langgestreckt glockenförmig. Im Dunkelfeld ist die

schwingende Geißel nur als „ein eleganter Lichtschweif zu sehen, der hinter den Bakterien herzieht“ (BUDER [2]). Erhält die Zelle einen Reiz (etwa indem sie in ein dunkleres Lichtfeld schwimmt), so kehrt die Geißel plötzlich ihre Rotationsrichtung um. Dabei wird für einen Augenblick die Geißelspirale sichtbar, wenn nämlich die eine Rotationsrichtung ausklingt und die Bewegung in der neuen Richtung einsetzt. Der Wechsel der Rotationsrichtung des Zellkörpers geht mit der der Geißel — wenn auch gegenläufig — Hand in Hand. Anders als bei *Thiospirillum jenense* bleibt der Schwingungsraum der Geißel von *Chromatium okenii* in der gleichen vom Zellkörper abgewandten Lage erhalten, wenn die Zelle nach Umkehr der Rotationsrichtung der Geißel mit der Geißel voran (Zuggeißel) in entgegengesetzter Richtung in das hellere Lichtfeld zurückschwimmt. Bei ihrer Funktion als Zuggeißel vor dem Vorderende der Zelle wird die langgestreckte Form des Schwingungsraumes der Geißel ein wenig breiter und offener, und die Zelle schwimmt etwa um die Hälfte langsamer. Im horizontal liegenden mikroskopischen Präparat mit dünner Flüssigkeitsschicht kehrt sich die Rotationsrichtung der Geißel bald wieder — ohne sichtbaren äußeren Reiz — um, so daß METZNER [9] die Vorstellung entwickelte, daß die Funktion der Geißel als Schubgeißel die „normale“ Bewegungsform sei.

Biokonvektion

Im vertikal gestellten mikroskopischen Präparat mit nicht zu dünner Flüssigkeitsschicht läßt sich beobachten, daß *Chromatium okenii*, ebenso wie *Thiospirillum jenense*, vertikale Schwimmrichtungen bevorzugt einnimmt. Man sieht dann, daß bei Zellen, die von oben nach unten schwimmen, die Geißel als Schubgeißel wirkt, während die Geißel bei den mit geringer Geschwindigkeit von unten nach oben schwimmenden Zellen als Zuggeißel fungiert. Man hätte also dann als „normal“ anzusehen, daß die Zellen von *Chromatium okenii* im freien Wasser überwiegend mit der Geißel nach oben orientiert sind, wobei sich dann die Schubgeißelfunktion bei der Abwärtsbewegung, die Zuggeißelfunktion bei der Aufwärtsbewegung ergibt. Die vorwiegend vertikalen Schwimmbewegungen der Zellen führen in den Kulturgefäßen oder in den „Organismenwolken“ am natürlichen Standort zur Bildung von Biokonvektionsströmungen und -mustern (PLATT [15], PFENNIG [13]). In vertikalen Streifen höherer Zelldichte strömen und schwimmen die Zellen abwärts, in den dazwischenliegenden größeren Bereichen steigen die Zellen aufwärts. Nur unter optimalen Entwicklungsbedingungen bilden sich solche Biokonvektionsmuster aus.

Herkunft des *Chromatium okenii*-Stammes

Der für die Filmaufnahmen verwendete Stamm von *Chromatium okenii* PERTY wurde 1959 aus einem Teich des Schloßparkes Ostrau bei Halle

isoliert und wird seit 1961 vom Verfasser in Reinkultur in synthetischer Nährlösung gehalten. Eine genaue Beschreibung des Kulturmediums und der Kulturbedingungen ist bei PFENNIG [13], [14] angegeben. Alle im Film gezeigten Vorgänge wurden an Zellen in diesem Kulturmedium mit Phasenkontrastoptik aufgenommen.

Filminhalt

Bewegung der Einzelzellen

24 B/s¹

1. Es werden zunächst Einzelzellen in ungerichteter Bewegung gezeigt; der langgestreckt glockenförmige Schwingungsraum der Geißel ist am Hinterende der Zellen sichtbar: die Geißel wirkt als Schubgeißel.

Vorwärtsbewegung

48 B/s

1. Eine einzelne Zelle, in der Schwefeltröpfchen als helle Punkte sichtbar sind, schwimmt von oben nach unten. Der Schwingungsraum der Geißel ist jetzt besonders deutlich zu sehen: Schubgeißelwirkung.

Rückwärtsbewegung

48 B/s

1. Eine einzelne Zelle schwimmt von oben nach unten mit der Geißel voran: Zuggeißelwirkung. Ein Partikelchen löst Umkehr der Schlagrichtung der Geißel aus und die Zelle schwimmt in entgegengesetzter Richtung weiter.

Vertikale Bewegungsrichtung der Einzelzellen

24 B/s

1. In einem vertikal gestellten Flüssigkeitspräparat wird die Bewegung der Zellen beobachtet. Man erkennt deutlich zwei Bewegungsrichtungen der Einzelzellen: zahlreiche Zellen schwimmen langsam gradlinig von unten nach oben, andere Zellen schwimmen weniger streng gerichtet und schneller von oben nach unten.

Biokonvektion einer Kultur in Aufsicht und von der Seite gesehen

4—1 B/s

1. bis 3. Aufsicht auf eine luftdicht geschlossene, horizontal stehende flache Kulturschale.

¹ Die *Kursiv*-Überschriften entsprechen den Zwischentiteln im Film.

1. Alle Zellen sind zunächst gleichmäßig verteilt, sammeln sich dann aber an vielen Stellen an, sichtbar an den grauen Flecken mit helleren Zwischenräumen. Am Gefäßdeckel konzentrieren sich die Ansammlungen und es entsteht ein schwarz erscheinendes Wabenmuster, das durch die Strömungsbahnen gebildet ist, in denen die Zellen jetzt mit hoher Zelldichte abwärts strömen (zelluläre Strömung, Biokonvektion).

2. Der gleiche Vorgang wie in 1.

3. Bei stärkerer Vergrößerung sind die einzelnen Zellen als winzige schwarze Punkte sichtbar. Es ist gut zu sehen, wie sich die Zellen von allen Seiten auf die dunklen Zonen zubewegen, in denen sie abwärts zum Gefäßboden strömen.

4. bis 6. Seitenansicht einer geschlossenen senkrecht stehenden, flachen Küvette.

4. Nach Schütteln der Küvette sind anfangs alle Zellen gleichmäßig verteilt. Bei ruhigem Stehen beobachtet man dann die Bildung des Biokonvektionsmusters. Dunkel erscheinende Bereiche höherer Zelldichte strömen vom oberen Küvettenrand nach unten; gleichzeitig sieht man gegenläufige Strömungen von unten nach oben.

5. Der gleiche Vorgang wie in 4.

6. Ein Ausschnitt aus dem Biokonvektionsmuster bei stärkerer Vergrößerung.

Negative Aerotaxis

Bewegungsumkehr an der Grenze zur eindiffundierten Luft

1 und 24 B/s

1. Seitenansicht einer oben offenen Küvette. Die Flüssigkeitsoberfläche erscheint als horizontaler, schwarzer Streifen. Darunter ist ein zellfreier heller Raum sichtbar, an dessen unterer Grenze die von unten aufsteigenden Zellen durch ihre negativ aerotaktische Reaktionsweise umkehren (Schreckreaktion).

2. Ein Ausschnitt der Grenzschicht bei stärkerer Vergrößerung.

3. Bei noch stärkerer Vergrößerung sind die Einzelzellen sichtbar; man beachte die Umkehr einzelner Zellen an der Grenze zum zellfreien Raum.

4. Wie 3., aber noch stärker vergrößert.

Phobische Phototaxis

Bewegungsumkehr im Lichtspalt (Schreckreaktion)

24 B/s

1. Ungerichtete Bewegung der Einzelzellen.

2. Das Gesichtsfeld wird spaltförmig eingengt. Man beachte, daß sich immer mehr Zellen im Lichtspalt fangen und jeweils an der Grenze zur Dunkelzone umkehren.

Schwärmende Zellen fangen sich in einem Lichtkreuz

Dauer etwa 6 Minuten

24 B/s

1. Ungerichtete Bewegung der Einzelzellen.
2. Das Gesichtsfeld wird zu einem Lichtkreuz abgeblendet. — Alle Zellen, die zufällig in das Lichtkreuz hineinschwimmen, bleiben darin gefangen durch Umkehr der Bewegung am Rande des Lichtkreuzes. Die Zelldichte im Lichtkreuz steigt allmählich an.
3. Nach etwa 6 min wird die kreuzförmige Abblendung entfernt und die Zellen schwimmen nach allen Seiten auseinander.

Ansammeln in Stufen unterschiedlicher Lichtintensität

24 B/s

1. Zunächst sind alle Zellen gleichmäßig im Präparat verteilt.
2. Das Licht wird unterschiedlich stark abgeblendet, so daß eine Hellzone, zwei verschiedene Graustufen und eine Dunkelzone entstehen. Die Zellen verteilen sich allmählich entsprechend den herrschenden Lichtintensitäten.
3. Nach Entfernung der Blenden wird die Verteilung der Zellen deutlich sichtbar; die Zellen schwimmen jetzt nach allen Seiten auseinander.

Verhalten im Lichtspektrum

Ansammlung der Zellen in bestimmten Banden

blau — grün — gelb — ultrarot

24 B/s

1. Alle Zellen sind gleichmäßig im Präparat verteilt.
2. Ein Linienspektrum des Wellenlängenbereiches von 400 bis 800 nm wird in der Objektebene abgebildet. Da der Film nur bis etwa 670 nm empfindlich ist, erscheint der Spektralbereich oberhalb 670 nm jetzt dunkel. Nach einiger Zeit sammeln sich die Zellen in bestimmten Spektralbereichen an, die mit den Absorptionsmaxima der Assimilationspigmente in den lebenden Zellen identisch sind (Abb.). Man beachte die vertikalen Streifen erhöhter Zelldichte bei 400 nm und 500 bis 600 nm.
3. Das Linienspektrum wird entfernt, um die Ansammlungen der Zellen im ganzen Spektralbereich sichtbar werden zu lassen. Man beachte jetzt besonders die Ansammlung der Zellen bei 800 nm, die vorher noch nicht sichtbar sein konnte. Da das Spektrum entfernt ist, schwimmen die Zellen auseinander und verteilen sich gleichmäßig.

Literatur (Auswahl)

- [1] BÜTSCHLI, O.: Protozoa. In: Bronns Klassen und Ordnungen des Tierreichs, 1, Abt. 2, Leipzig 1889, 857.
- [2] BUDER, J.: Zur Kenntnis des Thiospirillum jenense und seiner Reaktionen auf Lichtreize. Jb. wiss. Bot. 56 (1915), 529—584.
- [3] BUDER, J.: Zur Biologie des Bakteriopurpurins und der Purpurbakterien. Jb. wiss. Bot. 58 (1919), 525—628.
- [4] CLAYTON, R.: Phototaxis of purple bacteria. In: Hb. Pflanzenphysiol. 17, 1. Teil (1957), 371—387.
- [5] EHRENBERG, C. G.: Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen. L. Voss, Leipzig 1838.
- [6] ENGELMANN, Th. W.: Bacterium photometricum. Pflügers Arch. 30 (1883), 95—124.
- [7] ENGELMANN, Th. W.: Die Purpurbakterien und ihre Beziehungen zum Licht. Bot. Z. 46 (1888), 661.
- [8] JENSEN, A., O. AASMUNDROD & K. E. EIMHJELLEN: Chlorophylls of photosynthetic bacteria. Biochim. Biophys. Acta 88 (1964), 466.
- [9] METZNER, P.: Zur Mechanik der Geißelbewegung. Biol. Zbl. 40 (1920), 49—87.
- [10] NIEL, C. B. van: On the morphology and physiology of the purple and green sulphur bacteria. Arch. Mikrobiol. 3 (1931), 1—112.
- [11] NIEL, C. B. van: Thiorhodaceae. In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. (Hrsg. BREED, R. S., E. G. D. MURRAY & N. R. SMITH.) 7. Aufl. The Williams and Wilkins Co., Baltimore 1957, 38—53.
- [12] PFENNIG, N.: Eine vollsynthetische Nährlösung zur selektiven Anreicherung einiger Schwefelpurpurbakterien. Naturwiss. 48 (1961), 136.
- [13] PFENNIG, N.: Beobachtungen über das Schwärmen von Chromatium okenii. Arch. Mikrobiol. 42 (1962), 90—95.
- [14] PFENNIG, N.: Anreicherungskulturen für rote und grüne Schwefelbakterien. Zbl. Bakt., 1. Abt., Orig. Suppl. 1 (1965), 179—189 und 503—504.
- [15] PLATT, J. R.: Bioconvection patterns in cultures of free swimming organisms. Science 133 (1961), 1766—1767.
- [16] SCHLEGEL, H. G.: Vergleichende Untersuchungen über die Lichtempfindlichkeit einiger Purpurbakterien. Arch. Protistenkde. 101 (1956), 69—97.
- [17] SCHLEGEL, H. G., u. N. PFENNIG: Die Anreicherungskultur einiger Schwefelpurpurbakterien. Arch. Mikrobiol. 38 (1961), 1—39.
- [18] SCHMIDT, K.: Die Carotinoide der Thiorhodaceae. II. Carotinoidzusammensetzung von Thiospirillum jenense Winogradsky und Chromatium okenii Winogradsky. Arch. Mikrobiol. 46 (1963), 127.
- [19] WINOGRADSKY, S. N.: Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien. A. Felix, Leipzig 1888, 1—120.