

**Untersuchung des Bakterienwachstums bei unterschiedlicher Zusammensetzung der Nähragar-Grundsubstanz**

Benedikt Oswald und Sebastian Scheinost

Als Vorbereitung der durchzuführenden Versuchsreihe stellten wir 80 Agarplatten mit 20 verschiedenen Zusammensetzungen her, siehe Tabelle 1. Das ergibt pro Zusammensetzung vier Agarplatten, somit hat man eine Platte pro Bakterienart (*Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Streptomyces griseus*) zur Verfügung.

Plattenart	V(Nähragar) in mL	m(Nähragar) in g	m(NaCl) in g
<b>Vergleichsplatten</b> (Standardnähragar, pH = 7)	100	2,8	(0,5)
<b>Kochsalzagarplatten</b>			
w(NaCl) = 1 %	100	2,8	+ 0,5
w(NaCl) = 2 %	100	2,8	+ 1,5
w(NaCl) = 4 %	100	2,8	+ 3,5
w(NaCl) = 8 %	100	2,8	+ 7,5
w(NaCl) = 16 %	100	2,8	+ 15,5
<b>Zuckeragarplatten</b>			<b>m(Zucker) in g</b>
w(Zucker) = 1 %	100	2,8	+ 1,0
w(Zucker) = 2 %	100	2,8	+ 2,0
w(Zucker) = 4 %	100	2,8	+ 4,0
w(Zucker) = 8 %	100	2,8	+ 8,0
w(Zucker) = 16 %	100	2,8	+ 16,0
<b>pH-Agarplatten</b>			
pH(Vgl.agar) - 1 = 6	100	2,8	+ Salzsäure
pH(Vgl.agar) - 2 = 5	100	2,8	+ Salzsäure
pH(Vgl.agar) - 3 = 4	100	2,8	+ Salzsäure
pH(Vgl.agar) +1 = 8	100	2,8	+ Natronlauge
pH(Vgl.agar) +2 = 9	100	2,8	+ Natronlauge
pH(Vgl.agar) +3 = 10	100	2,8	+ Natronlauge
<b>Silberagarplatten</b>			<b>m(AgNO<sub>3</sub>) in g</b>
w(Ag <sup>+</sup> ) = 0,01 %	100	2,8	0,016
w(Ag <sup>+</sup> ) = 0,10 %	100	2,8	0,158
w(Ag <sup>+</sup> ) = 1,00 %	100	2,8	1,58

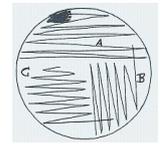
**Tabelle 1: Übersicht über getestete Agar-Arten**

Die Intention der Versuchsreihe ist die Lösung der Frage, inwiefern verschiedene Bakterienarten auf abiotische Faktoren (Salz, Zucker, pH-Wert und Schwermetallionen (in Form von Silbernitrat)) in verschieden hoher Konzentration reagieren. Dies erreichten wir, indem wir das Medium modifizierten. Anschließend plattierten wir die Bakterien mit einem Drigalskispatel aus. Die Inkubationszeit betrug 48 Stunden bei 30 °C.

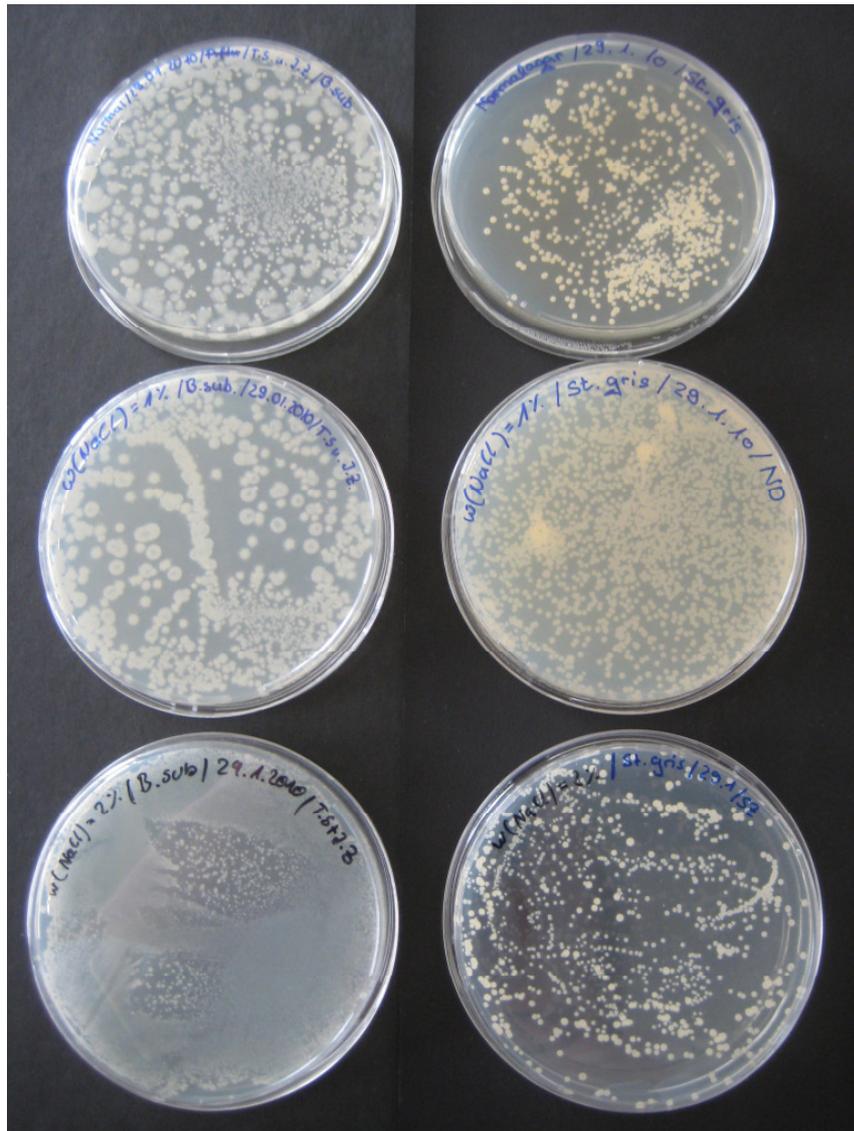
Um das Bakterienwachstum zu beurteilen, führten wir folgendes Bewertungssystem ein, das sich bereits bei Stiftung Warentest bewährt hat:

- ++ → ganzflächiges, dichtes Bakterienwachstum
- + → teilweise flächiges Bakterienwachstum
- o → ganzflächiges Kolonienwachstum der Bakterien
- - → geringes Kolonienwachstum der Bakterien
- - - → kein Wachstum

Wenn wir uns nicht auf ein Bewertungszeichen festlegen konnten, führten wir Zwischenstufen ein. Beispiel: +/o



**1. Abiotischer Faktor: Salz (NaCl)**

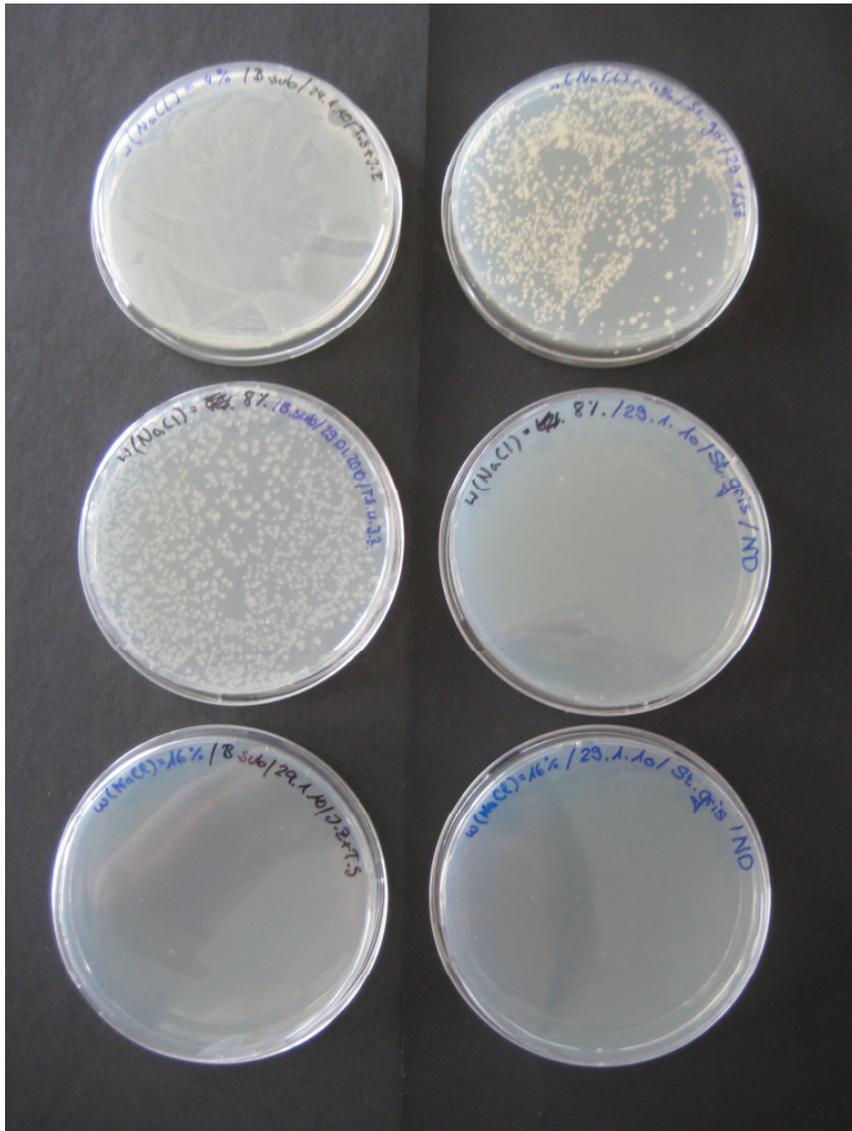
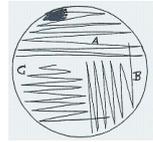


**Bild 1: Bacillus subtilis (linke Reihe) und Streptomyces griseus (rechte Reihe) auf Nährböden mit zunehmender NaCl-Konzentration:**

**Oben: w(NaCl) = 0,5 %  
Mitte: w(NaCl) = 1 %  
Unten: w(NaCl) = 2 %**

Salzkonzentration	Bacillus mycoides	Bacillus subtilis	Pseudomonas fluoreszens	Streptomyces griseus
0,5 % (Vergleichsplatte)	++	o	+	o/-
1,00%	++	+	++	+
2,00%	++	o	+	o/-
4,00%	+	++	+	o
8,00%	--	o	--	--
16,00%	--	--	--	--

**Tabelle 2: Bakterienwachstum in Abhängigkeit von der Salzkonzentration**

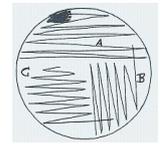


**Bild 2: Bacillus subtilis (linke Reihe) und Streptomyces griseus (rechte Reihe) auf Nährböden mit zunehmender NaCl-Konzentration:**

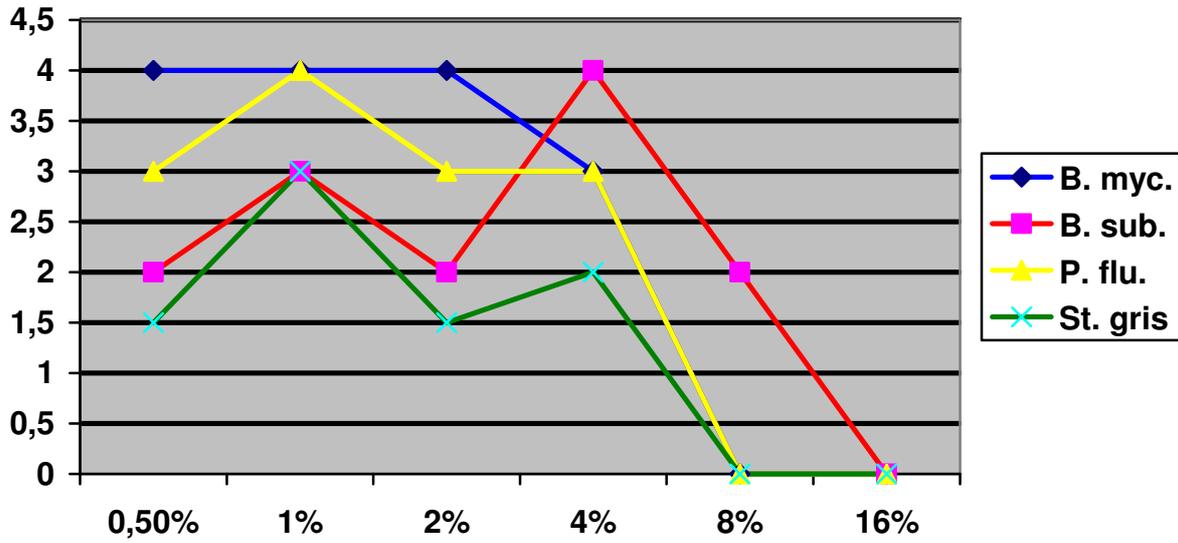
**Oben:  $w(\text{NaCl}) = 4\%$   
Mitte:  $w(\text{NaCl}) = 8\%$   
Unten:  $w(\text{NaCl}) = 16\%$**

**Auswertung:**

Bei fast allen Bakterienarten lässt sich eine kontinuierliche Abnahme des Wachstums mit der Erhöhung der Salzkonzentration im Nährmedium feststellen. Dies lässt sich mit der Osmose erklären: Es besteht ein Konzentrationsgefälle von Wasser im Bakterium zum Nährmedium. Folglich diffundiert das Wasser aus der Zelle, um einen Konzentrationsausgleich herzustellen (→ Hypertonie). Somit trocknet die Zelle aus und ist nicht mehr teilungsfähig.  
Auffällig: Bacillus subtilis scheint sein Wachstumsmaximum bei 4%-iger Salzkonzentration im Nährmedium zu erreichen. Wir schließen daraus, dass Bacillus subtilis salzliebend ist, also Salz benötigt, um ein Optimum an Wachstum zu erlangen. Des Weiteren fällt auf, dass Bacillus subtilis als einzige Bakterienart noch bei 8%-iger Salzkonzentration ein Wachstum vorzeigt, d.h. Bacillus subtilis ist zudem salztolerant. Schließlich ist bei 16%-iger Salzkonzentration kein Bakterienwachstum mehr möglich.



Wachstumsdiagramm Salz:

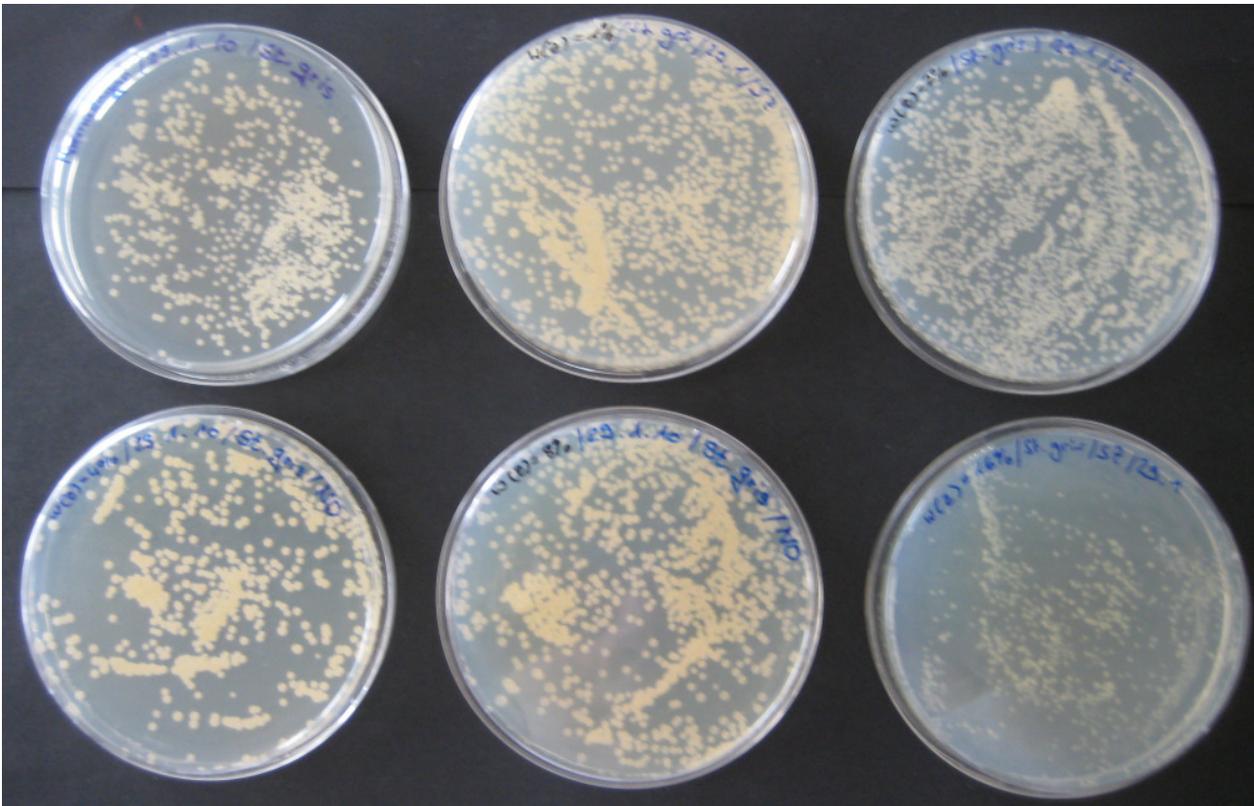


Anmerkung:

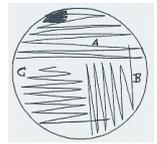
Wir mussten zur Erstellung aller folgenden Diagramme unser Bewertungssystem auf Zahlen übertragen:

- ++ → 4
- + → 3
- usw.

**2. Abiotischer Faktor: Zucker**



**Bild 3: Streptomyces griseus auf Nährböden mit zunehmender Zucker-Konzentration:**  
 Obere Reihe (von links nach rechts): w(Zucker) = 0 %, 1 %, 2 %  
 Untere Reihe (von links nach rechts): w(Zucker) = 4 %, 8 %, 16 %



Zuckerkonzentration	Bacillus mycoides	Bacillus subtilis	Pseudomonas fluoreszens	Streptomyces griseus
1,00%	++	+	+/o	o
2,00%	++	o	+	o
4,00%	++	+/o	++	o/-
8,00%	++	+/o	+	o
16,00%	++	+/o	++	-

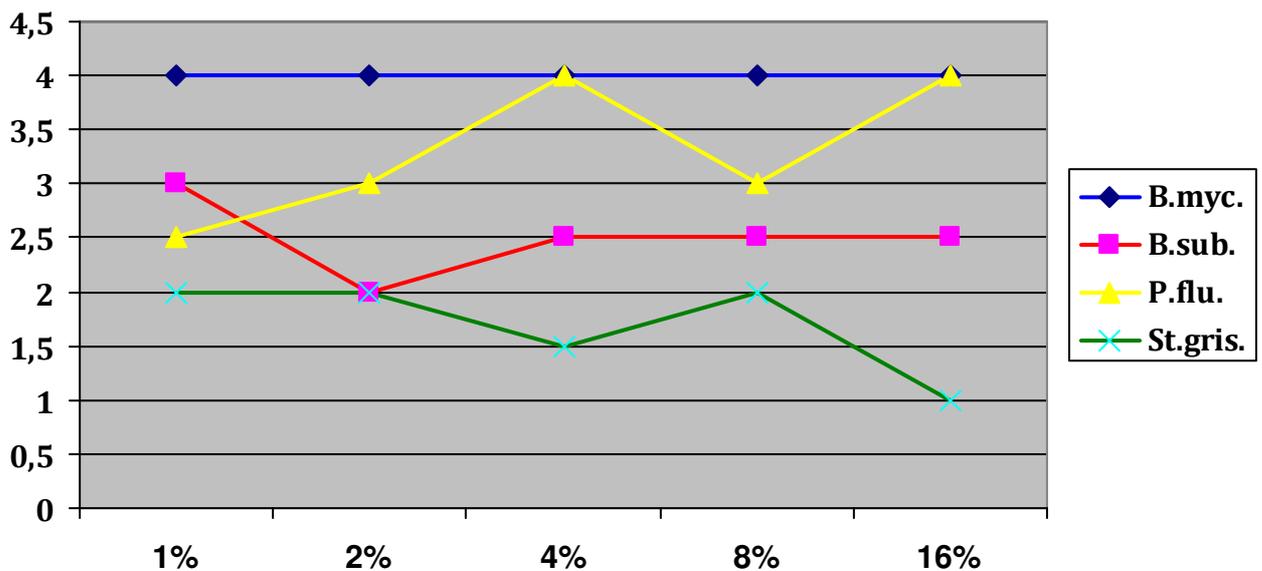
**Tabelle 3: Bakterienwachstum in Abhängigkeit von der Zuckerkonzentration**

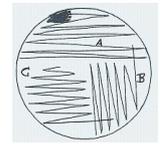
Anmerkung: Vergleichsplatte, siehe Bild 3 (w(Zucker) = 0 %)

Auswertung:

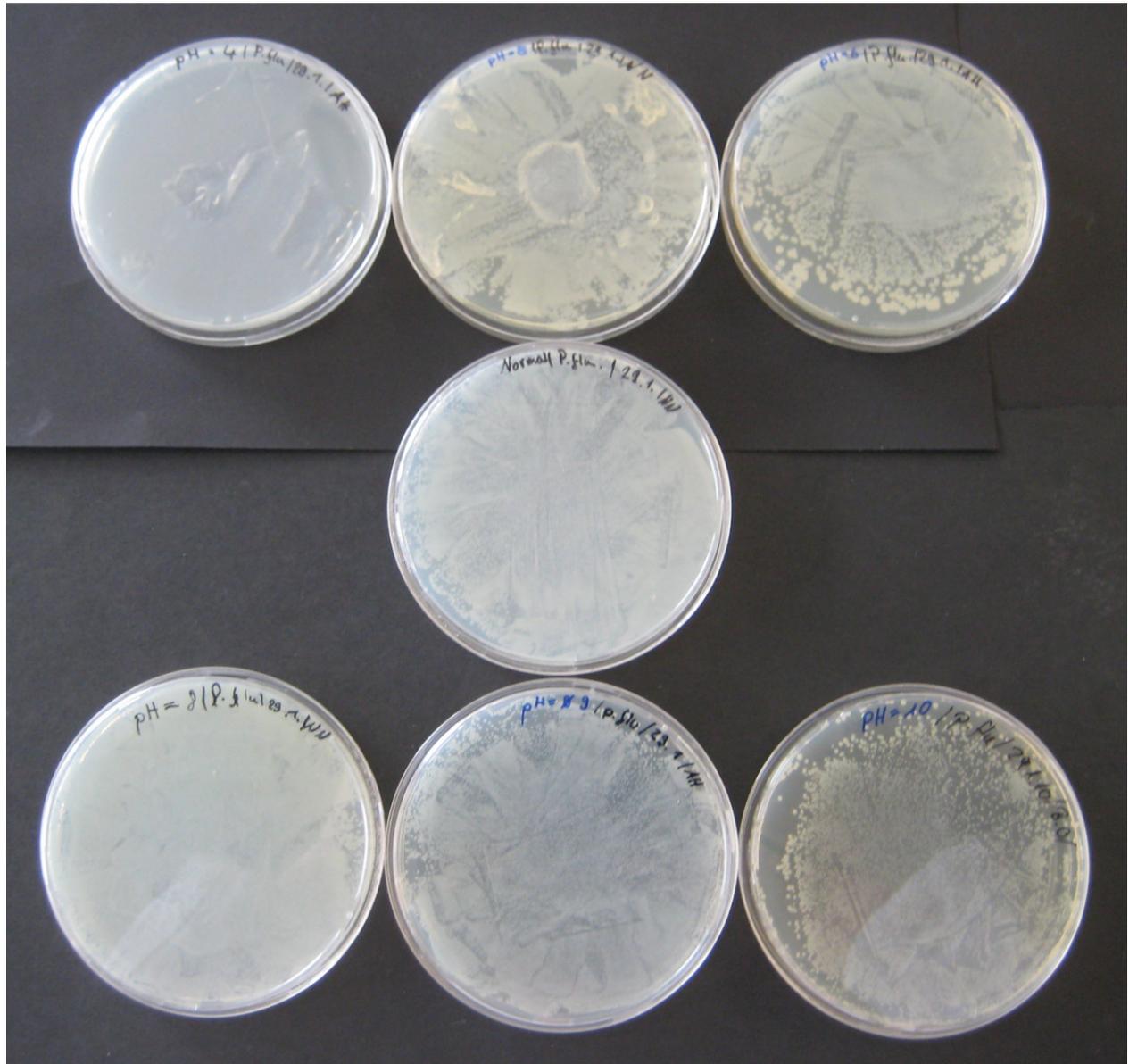
Das Bakterienwachstum wird bei keiner Zuckerkonzentration vollständig gehemmt, es kommt überall mindestens zu einem geringen Kolonienwachstum. Besonders zuckerliebend verhält sich Bacillus mycoides, es überwuchert die Agarplatten bei allen Zuckerkonzentrationen und nimmt eine gelbe Färbung an. Ebenfalls zuckerliebend, wenn auch in geringerem Ausmaß als Bacillus mycoides, verhält sich Pseudomonas fluoreszens. Bei Streptomyces griseus ist eine Abnahme des Bakterienwachstums zu verzeichnen. Das stärkere Wachstum aller Bakterienarten bei Zugabe von Zucker in den Nähragar im Vergleich zu Salz hängt vermutlich damit zusammen, dass der Zucker den Bakterien als zusätzlicher Energielieferant dient und das Wachstum beschleunigt. Allerdings ergibt sich ein Unterschied der Zuckerverwertung, Bakterienarten wie Bacillus mycoides können mehr Zucker abbauen, deshalb wächst es bei jeder Zuckerkonzentration sehr gut. Andere Bakterienarten wie zum Beispiel Streptomyces griseus kommen mit einem zu großen Zuckerüberschuss nicht zurecht und ihr Wachstum wird gebremst. Hier wirkt vielleicht wieder die Osmose, indem im Zuge eines Konzentrationsausgleichs das Wasser aus den Bakterien gezogen wird.

Wachstumsdiagramm Zucker:





**3. Abiotischer Faktor: pH-Wert**



**Bild 4: Pseudomonas fluoreszens auf Nährböden mit zunehmendem pH-Wert**

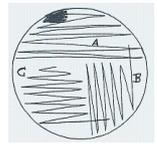
Obere Reihe (von links nach rechts): pH = 4, pH = 5, pH = 6

Mitte: pH = 7 (Standard-Nährboden)

Untere Reihe (von links nach rechts): pH = 8, pH = 9, pH = 10

pH-Wert	Bacillus mycoides	Bacillus subtilis	Pseudomonas fluoreszens	Streptomyces griseus
4	--	--	--	--
5	++/+	o	+/o	-
6	++	+	+/o	o/-
7 (Vergleichsplatte)	++/+	o	+	o/-
8	nicht auswertbar (Pilz)	+	++	o/-
9	++/+	+/o	+	o/-
10	+	+	o	o*

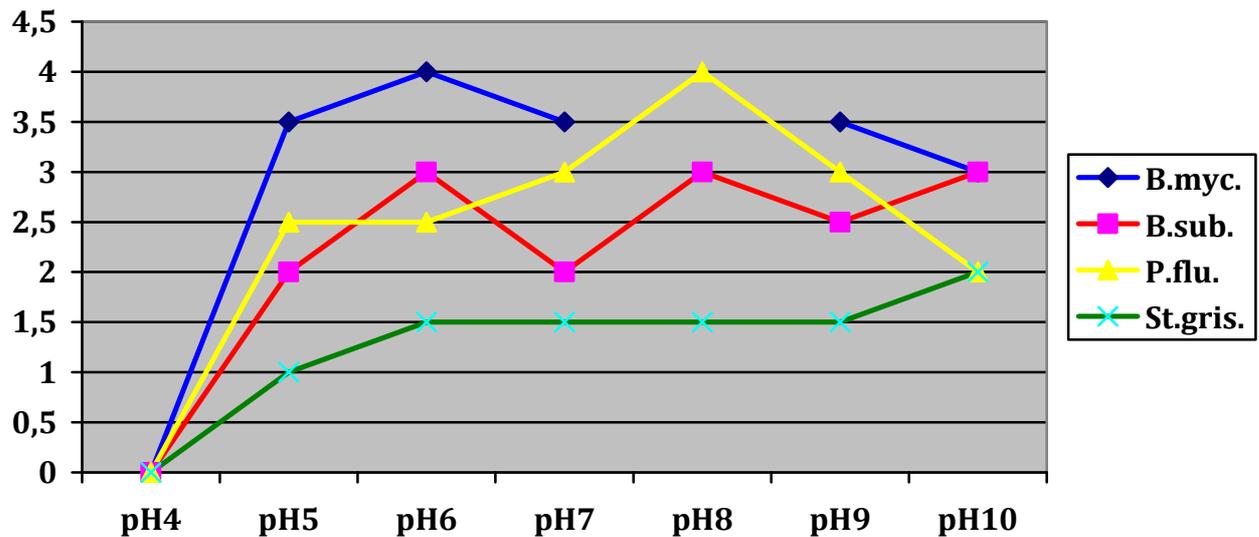
**Tabelle 4: Bakterienwachstum in Abhängigkeit vom pH-Wert des Nährmediums** \*orange Färbung

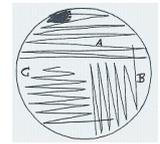


**Auswertung:**

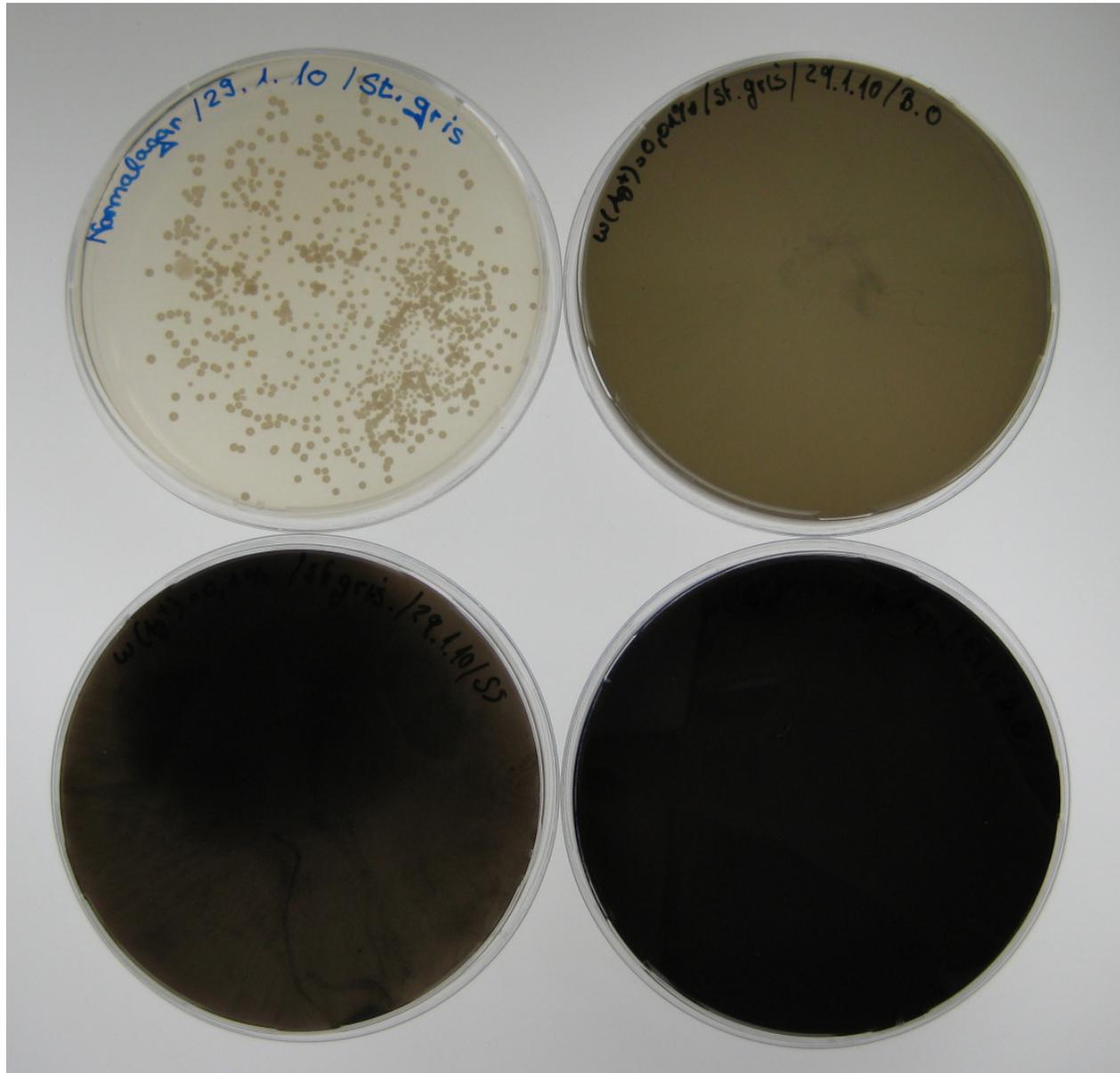
Man kann allgemein feststellen, dass die Bakterien bei einem pH-Wert=4 nicht wachstumsfähig sind, die Umgebung im Nähragar ist zu sauer. Die Enzyme, also die Biokatalysatoren, sind bei diesem pH-Wert nicht funktionstüchtig. Sie können nur innerhalb eines bestimmten pH-Wert –Bereiches arbeiten, ist dem nicht so, ist kein Wachstum möglich, die Zellen können sich nicht teilen, weil wichtige Stoffwechselreaktionen nicht stattfinden können. Auffällig ist, dass das Wachstum von St.gris. in alkalischer Umgebung (pH=10) am größten ist, jedoch insgesamt ein durchgehend ein geringes Wachstum vorliegt. Abgesehen von St.gris. wurde das beste Bakterienwachstum zwischen einem pH-Wert von 6 bis 8 erzielt, also in einer annähernd neutralen Umgebung

**Wachstumsdiagramm pH-Wert:**





#### 4. Abiotischer Faktor: Schwermetallionen ( $\text{Ag}^+$ )



**Bild 5: Streptomyces griseus auf Nährböden mit zunehmender Silber-Konzentration:**  
Obere Reihe (von links nach rechts):  $w(\text{Ag}^+) = 0 \%$ ,  $w(\text{Ag}^+) = 0,01 \%$   
Untere Reihe (von links nach rechts):  $w(\text{Ag}^+) = 0,1 \%$ ,  $w(\text{Ag}^+) = 1,0 \%$

Ergebnis: Kein Wachstum

Auswertung: Schwermetallionen hemmen schon in äußerst geringen Konzentrationen die Zellteilung der Bakterien, da sie die biologisch aktive Proteinstruktur zerstören. Sie wirken denaturierend.