

1 Einführung in die Diversität, Systematik und Physiologie von Mikroorganismen

R. GROTE, G. ANTRANIKIAN

- 1.1 Einleitung 2
- 1.2 Die Welt der Mikroorganismen 2
 - 1.2.1 Prokaryoten: Bakterien und Archaeen 2
 - 1.2.2 Eukaryoten: Hefen und Pilze 4
- 1.3 Systematik: Phylogenie und Taxonomie von Mikroorganismen 4
- 1.4 Prokaryotische Diversität: Die wichtigsten bakteriellen und archaeellen Taxa 6
 - 1.4.1 Die Domäne der Bakterien 6
 - 1.4.2 Die Reiche der Bakterien 7
 - 1.4.3 Die Reiche der Archaeen 8
 - 1.4.4 Eukaryotische Mikroorganismen 9
- 1.5 *Escherichia coli* – Das Haustier der Mikrobiologie 12
- 1.6 Das Reich der Gram-positiven Bakterien – *Bacillus* und *Clostridium* 13
 - 1.6.1 Sporen – Eine mikrobielle Überlebensstrategie 13
 - 1.6.2 *Bacillus subtilis* – Ein wichtiger industrieller Produktionsstamm 14
 - 1.6.3 Gattung *Clostridium* – Stoffwechselvielfalt unter anaeroben Bedingungen 15
- 1.7 Milchsäurebakterien – Seit Jahrtausenden von Menschen genutzt 15
- 1.8 Methanogene Mikroorganismen – Das letzte Glied einer anaeroben Nahrungskette 17
- 1.9 Extremophile Mikroorganismen – Leben unter extremen Bedingungen 18
- 1.10 *Saccharomyces*, *Penicillium* und *Aspergillum* – Pilze in der Biotechnologie 19
- 1.11 Ausblick 21

1.1 Einleitung

Dieses Kapitel soll in die faszinierende Welt der Kleinstlebewesen einführen und einen Überblick über die Systematik und wichtigsten Eigenschaften anwendungsrelevanter Mikroorganismen geben. Der Schwerpunkt liegt auf Bakterien, Archaeen, Hefen und Pilzen, die in industriellen Produktionsverfahren eingesetzt werden und eine Bedeutung für die angewandte Mikrobiologie haben. Es würde den Rahmen des Kapitels sprengen, wenn man versuchen würde, die große Diversität der Mikroorganismen und ihre systematische Einordnung umfassend zu beschreiben. Hier sei auf die einschlägige Literatur verwiesen (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology). Für tiefergehende Einblicke in den Aufbau und die Physiologie von pro- und eukaryotischen Zellen empfehlen sich die Bücher von Schlegel (1992), Brock (2005) und Cypionka (2003). Ziel des Kapitels ist es, die im Rahmen dieses Lehrbuches behandelten Mikroorganismen im mikrobiologischen Kontext vorzustellen und in ihren Eigenschaften näher zu beleuchten.

1.2 Die Welt der Mikroorganismen

Die Mikrobiologie ist ein Teilgebiet der Biologie und widmet sich Lebewesen, die so klein sind, dass sie mit dem bloßen Auge nicht zu erkennen sind. Solche Kleinstlebewesen oder Mikroorganismen (durchschnittliche Größe 1 bis 100 μm) zeichnen sich gegenüber höheren Pflanzen und Tieren durch ihre **geringe morphologische Differenzierung** aus. Mikroorganismen – früher häufig auch als Protisten bezeichnet – sind einzellige Organismen, die über eine Vielzahl von physiologischen Leistungen verfügen und die größte Biodiversität auf unserer Erde darstellen. Interessanterweise sind bisher erst 2–5% aller Mikroorganismen beschrieben; somit ist die mikrobielle Diversität auf dieser Erde bei weitem noch nicht erschöpfend untersucht. Die physiologischen Fähigkeiten von Mikroben werden schon seit Jahrtau-

senden genutzt, beispielsweise bei der Herstellung von Brot, Yoghurt, Bier oder Wein. Hierbei war die Mikrobiologie ausgesprochen anwendungsorientiert, basierte aber auf **Empirie**. Tief greifende Erkenntnisse über die zugrunde liegenden biochemischen Vorgänge konnten erst ab dem 19. Jahrhundert gewonnen werden, nachdem die Mikrobiologie ein moderner Wissenschaftszweig geworden war. In der Mikrobiologie werden Methoden der Zellkunde, der Genetik, der Biochemie, der Ökologie und der Systematik eingesetzt. Der Mikrobiologe erforscht die in den Zellen ablaufenden Stoffwechselfvorgänge und ihre Regulation (s. Kap. 2). Die in den letzten Jahren rasante Entwicklung neuer Technologien wie beispielsweise Genomics, Proteomics, Metabolomics und Systembiologie führten zur genauen Analyse der **Genetik und Physiologie der Mikroorganismen**. Die hieraus abgeleiteten wissenschaftlichen Erkenntnisse haben eine große Bedeutung für die angewandte Mikrobiologie und die Biotechnologie.

Die mikrobielle Welt setzt sich aus allen mikroskopisch kleinen Organismen wie den Bakterien, Archaeen, Protozoen, einzelligen Algen und Pilzen zusammen. **Viren** und Bakteriophagen werden zwar häufig auch zu den Mikroorganismen gezählt, verfügen aber anders als Bakterien und andere Einzeller nicht über eine eigene Stoffwechselaktivität und sind für ihre Reproduktion auf stoffwechselaktive Wirtszellen angewiesen. Eine stammesgeschichtliche Einheit bilden die Mikroorganismen nicht. Mikrobiologen müssen sich mit einer Vielzahl verschiedener Organismen aus allen drei Domänen der lebendigen Welt befassen: Bacteria, Archaea und Eukarya.

1.2.1 Prokaryoten: Bakterien und Archaeen

Prokaryoten (auch Prokaryonten oder Prokarya genannt), zu denen sowohl die Bakterien als auch die Archaeen zählen, sind **einzellige Organismen**, die sich durch eine **Vielzahl von Merkmalen** von den ein- oder mehrzellig organisierten **Eukaryoten** unterscheiden. Die Bezeichnung Prokaryoten ist aus dem Griechischen (*pro karyu*, „Pronukle-

Tabelle 1.1. Die differenzierenden Charakteristika von Bacteria, Archaea und Eukarya

Charakteristikum	Bacteria	Archaea	Eukarya
prokaryotischer Zellaufbau	ja	ja	nein
membranhüllter Zellkern	nein	nein	ja
Membranlipide	Esterbindung	Etherbindung	Esterbindung
Zellwand enthält Muraminsäure	ja	nein	nein
Zellwand enthält Pseudomurein	nein	ja	nein
Organellen	nein	nein	ja
Ribosomen	70S	70S	80S
zirkuläre DNS	ja	ja	nein
DNS mit Histonen assoziiert	nein	nein	ja
Introns	nein	nein	ja
Plasmide	ja	ja	selten
Transkriptionsfaktoren	nein	ja	ja
RNS Polymerase	eine (4 Untereinheiten)	mehrere (je 8–12 Untereinheiten)	drei (je 12–14 Untereinheiten)
Empfindlich gegenüber Diphtherietoxin	nein	ja	ja
Empfindlich gegenüber Antibiotika (Chloramphenicol, Streptomycin, Kanamycin, Penicillin)	ja	nein	nein
Methanogenese	nein	ja	nein
Nitrifikation	ja	nein	nein
Denitrifikation	ja	ja	nein
Stickstofffixierung	ja	ja	nein
Chemolithotrophie	ja	ja	nein
Photosynthese (Chlorophyll)	ja	nein	ja
Wachstum oberhalb 80 °C	ja	ja	nein

us“) abgeleitet und weist darauf hin, dass diese Organismen nicht über einen echten, d. h. einen von einer Membranhülle umgebenen, Zellkern verfügen. Stattdessen besitzen sie eine einzige, zirkuläre DNS (Desoxyribonukleinsäure), die in einer diffusen Kernregion lokalisiert ist. Manche Prokaryoten verfügen über zusätzliche genetische Elemente, die **Plasmide**, die beispielsweise Gene für Antibiotika- oder Schwermetallresistenzen tragen. Plasmide spielen in der Gentechnik eine wichtige Rolle als „mobile“ Elemente (Vektoren), mit denen genetische Information von einem Stamm auf den anderen übertragen werden kann (s. Kap. 3). Insgesamt weisen Prokaryoten nur eine sehr geringe Kompartimentierung auf und enthalten keine Organellen (Mitochondrien, Chloroplasten). Die Proteinbiosynthese findet im Cytoplasma an den Ribosomen statt, die dem 70S-Typ angehören. Die wichtigsten Merkmale pro- und eukaryotischer Zellen sind in Tabelle 1.1 dargestellt.

Die meisten prokaryotischen Zellen sind stäbchen- oder kugelförmig und selten größer als 1 µm breit und 5 µm lang bzw. 2 µm im Durchmesser. Allerdings gibt es auch wahre „Riesen“ unter den Bakterien mit einer Länge von bis zu 500 µm (*Thiomargarita namibiensis*). In der zellulären Organisation und in der Morphologie ähneln sich die beiden prokaryotischen Lebensformen der Bakterien und der Archaeen sehr. Allerdings weisen die **Archaeen einige charakteristische biochemische Besonderheiten** auf. Zwar sind auch Archaeen einzellige Mikroorganismen mit einem ringförmigen Chromosom, die weder ein Cytoskelett noch Zellorganellen enthalten, sie unterscheiden sich aber dadurch von den Bakterien, dass ihre Zellwand anstelle eines Peptidoglykangerüsts Pseudomurein oder nur Proteine bzw. Polysaccharide enthalten. Damit reagieren Archaeen weniger sensitiv auf Antibiotika wie z. B. Penicillin. Auch die Zellmembran ist anders aufgebaut.

Während in der Cytoplasmamembran von Bakterien Glycerinester enthalten sind, sind dies bei den Archaeen Glycerinether. Viele Archaeen zeichnen sich durch eine Vorliebe für **extreme Lebensräume** (s. Kap. 1.4.3) aus: Es gibt Arten, die bevorzugt bei Temperaturen von über 80 °C wachsen. Andere leben in gesättigten Salzlösungen oder in stark säurehaltigen Lebensräumen (pH-Wert 0,7). Allerdings sind Archaeen nicht auf extreme Lebensräume beschränkt, sondern wachsen auch unter „normalen“ Bedingungen, etwa im Boden oder im Meer. Archaeen sind in der Forschung von Interesse, da sie wahrscheinlich Merkmale des frühen Lebens auf der Erde erhalten haben. Aber auch ihre außergewöhnliche Enzymsausstattung ist von Interesse, da Biokatalysatoren aus extremophilen Archaeen sehr robust sind. Aus biochemischer Sicht (z. B. Antibiotikaresistenz, Aufbau des Replikationsapparats) und aus stammesgeschichtlichen (phylogenetischen) Gesichtspunkten sind die Archaeen den Eukaryoten näher verwandt als den „echten“ Bakterien.

1.2.2

Eukaryoten: Hefen und Pilze

Unter dem Begriff Eukaryoten (auch Eukaryonten oder Eukarya genannt) werden Lebewesen zusammengefasst, die über einen **echten Zellkern** und ein **Cytoskelett** verfügen. Eukaryoten entwickeln sich immer aus zellkernhaltigen Ausgangszellen und sind deutlich größer (5 bis 50 µm; manche bis mehrere 100 µm) als Prokaryoten. Die Eukaryoten werden traditionell in die Reiche der mehrzelligen Tiere, Pflanzen und Pilze (einschließlich einzellige Hefen) sowie der einzelligen oder mehrzelligen Protisten (einzellige Protozoen und wenigzellige Algen) eingeteilt. Die genaue systematische Einteilung der insgesamt etwa 60 unter die Protisten gefassten Gruppen ist umstritten. Sie bilden keine monophyletische Gruppe.

Charakteristisch für Eukaryoten ist, dass sich in ihren Zellen **Organellen** befinden, die wie die Organe eines Körpers verschiedene Funktionen ausüben. Das wichtigste Organell ist der **Zellkern**, mit dem **Hauptanteil des genetischen Materials**.

Im Zellkern liegt die DNS in Chromosomen organisiert vor. Weitere DNS kommt – je nach Art – in den Mitochondrien und bei Pflanzen auch in den Plastiden vor. Eine weitere Besonderheit der Eukaryoten liegt in der Protein-Biosynthese: Anders als Prokaryoten sind Eukaryoten in der Lage, aus derselben DNS-Information **durch alternatives Splicing unterschiedliche Proteine** herzustellen. Struktur und Form wird der eukaryotischen Zelle durch das Cytoskelett verliehen, welches aus Mikrotubuli und Mikrofilamenten aufgebaut ist. Die Vermehrung der Eukaryoten erfolgt durch **Teilung** oder **Sprossung**, wobei die Kernteilung (Teilung der Chromosomen) durch Mitose erfolgt. Die Generationszeiten, die bei den prokaryotischen Bakterien unter optimalen Bedingungen im Minutenbereich liegen (*E. coli*: 20 min.), betragen bei Eukaryoten in der Regel Stunden bis Tage.

In der angewandten Mikrobiologie spielen die Hefen (*Saccharomyces*, *Pichia*; s. Kap. 1.10) und Schimmelpilze (*Aspergillus*, *Penicillium*; s. Kap. 1.10) eine wichtige Rolle. Im Gegensatz zu höheren Eukaryoten (Pflanzen, Tiere) zeichnen Sie sich durch eine relativ **kurze Generationszeit** und **gute Kultivierbarkeit** aus. Schon seit Urzeiten nutzt der Mensch Hefen, um Lebens- und Genussmittel wie Brot, Wein, Bier oder Kefir herzustellen (s. Kap. 29). In der modernen Biotechnologie werden Schimmelpilze zur Herstellung von Antibiotika (Penicillin) und hochwertigen Produkten wie Zitronen- oder Weinsäure eingesetzt (s. Kap. 1.8, 16, 17, 20).

Bevor nachfolgend auf die Diversität der pro- und eukaryotischen Kleinstlebewesen eingegangen wird, soll im folgenden Abschnitt zunächst ein Überblick gegeben werden, wie Mikroorganismen in der modernen Biologie klassifiziert und taxonomisch eingeordnet werden.

1.3

Systematik: Phylogenie und Taxonomie von Mikroorganismen

Die Systematik ist eine Fachdisziplin der Biologie und findet nicht nur in der Zoologie und Botanik, sondern auch in der Mikrobiologie Anwendung.

In der Systematik werden Lebewesen klassifiziert, indem sie auf der Basis definierter Merkmale zu Gruppen zusammengefasst und diese Gruppen (Taxa) in einem hierarchischen System angeordnet werden. Der Taxonom, der sich mit der Klassifikation von Mikroorganismen beschäftigt, versucht Einheiten zu Gruppen größerer Einheiten anzuordnen. Die Grundeinheit stellt dabei der Stamm dar, also die Reinkultur eines isolierten Mikroorganismus. Stämme werden in aufsteigender Reihenfolge zu Arten (*species*), Gattungen (*genus*) und Familien (Endung auf: *-aceae*) zusammengefasst. Hierbei gilt auch für die Klassifizierung von Mikroorganismen die von Carl von Linné eingeführte **binäre Nomenklatur**, d. h. jeder Name setzt sich aus einem Gattungs- und einem Artnamen zusammen. Definitionsgemäß werden Gattungs- und Artnamen *kursiv* geschrieben (z. B. *Escherichia* [Gattungsname, Anfangsbuchstabe groß] *coli* [Artnamen, Anfangsbuchstabe klein]). Jede taxonomische Einordnung setzt eine umfassende und wissenschaftlich korrekte Beschreibung der Mikroorganismen voraus. Zu dieser Beschreibung gehört die Angabe von **morphologischen Merkmalen** (Form der Mikroorganismen: Stäbchen, Kokken, Spirillen) sowie die Nennung **physiologischer und biochemischer Eigenschaften**. Zu den physiologisch-biochemischen Merkmalen zählen u. a.

- das Verhältnis zum Sauerstoff (aerob, fakultativ, anaerob),
- die Art der Energiegewinnung (Atmung, Gärung oder Photosynthese),
- die Temperatur- und pH-Optima,
- das Substratspektrum,
- die Zellwand- und Membranzusammensetzung (Gram-Färbung),
- die Basenzusammensetzung der DNS (mol% G+C),
- die DNS-DNS-Hybridisierung,
- die Sequenz der 16S rRNS.

Prinzipiell können zwei Arten der Klassifikation unterschieden werden: Die künstliche oder die **natürliche (phylogenetische) Klassifikation**. Erstere basiert auf der Einordnung von Organismen

auf der Basis morphologischer und physiologischer Merkmale und war lange Zeit das vorherrschende Konzept. Die natürliche Klassifikation hingegen hat sich zum Ziel gesetzt, verwandte Formen, die durch einen gemeinsamen Vorfahren miteinander in Relation stehen, zusammenzuordnen und einen **phylogenetischen Stammbaum** zu entwickeln. Dies ist heute mit modernen Methoden, beispielsweise durch die Sequenzierung von Proteinen und Nukleinsäuren, möglich und hat sich in der wissenschaftlichen Welt nachhaltig durchgesetzt.

Die Sequenzanalyse der 16S rRNS, die durch Carl Woese etabliert wurde, ermöglicht es der modernen Mikrobiologie, einen phylogenetischen, also stammesgeschichtlichen, Stammbaum der Mikroorganismen zu entwickeln. Die Ribosomen als Orte der Proteinbiosynthese sind in allen Zellen enthalten und ihrer Funktion nach sehr konservativ. Dies gilt auch für die ribosomale RNS (rRNS), die über eine sehr konservierte Sequenz verfügt und somit einen sehr guten phylogenetischen Marker darstellt. Durch computergestützten Vergleich der 16S rRNS-Sequenzen aus verschiedenen Mikroorganismen ist es möglich, phylogenetische Stammbäume abzuleiten (Abb. 1.1).

Eines der überraschenden Ergebnisse der 16S rRNA-Sequenzanalysen war, dass sich die Prokaryoten schon sehr frühzeitig ausgehend von einem gemeinsamen Vorläufer in zwei Gruppen, nämlich die **Archaeen** und die **Bakterien**, aufgespalten haben. Zu diesem Ergebnis hätten die Methoden der künstlichen Klassifikation nicht geführt. Die nachfolgende Darstellung der mikrobiellen Diversität erfolgt daher in erster Linie auf Grundlage der phylogenetischen Klassifikation. Nach wie vor werden Bakterien aus praktischen Gründen dennoch nach ihrer Form und ihrer Organisation unterteilt. Dabei werden kugelige Bakterien als Kokken, längliche, zylindrische Bakterien als Stäbchen und spiralige Formen als Spirillen bezeichnet. Diese Grundformen können einzeln auftreten oder sich zu typischen Formen zusammenfinden (Haufenkokken = Staphylokokken, Kettenkokken = Streptokokken, Doppelkokken = Diplokokken). Des Weiteren bilden vor allem