

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | Überblick über die Mikroorganismen..... | 1 |
| 1.1 | Prokaryonten und Eukaryonten..... | 2 |
| 1.1.1 | Das taxonomische und phylogenetische System der Mikroorganismen..... | 2 |
| 1.1.2 | Diversität bezüglich Form und Größe..... | 5 |
| 1.1.3 | Diversität bezüglich des Stoffwechsels | 5 |
| 1.2 | Wachstums- und Nährstoffansprüche..... | 6 |
| 1.3 | Die natürlichen Standorte der Mikroorganismen | 8 |
| 1.4 | Stoffkreisläufe und Nahrungsketten | 9 |
| 1.4.1 | Kohlenstoffkreislauf | 9 |
| 1.4.2 | Aerobe und anaerobe Nahrungsketten | 9 |
| 1.4.3 | Stickstoffkreislauf | 10 |
| 1.4.4 | Schwefelkreislauf | 12 |
| 1.5 | Biotechnologie | 13 |
| 1.6 | Kultivierbare und nichtkultivierbare Mikroorganismen | 13 |
| 1.7 | Eingesetzte Mikroorganismen | 15 |
| 1.7.1 | Bezugsquellen für Mikroorganismen | 16 |
| | Weiterführende Literatur..... | 16 |
| | | |
| 2 | Vorschriften und Gesetze im Zusammenhang mit mikrobiologischen Arbeiten | 19 |
| 2.1 | Pathogene Mikroorganismen | 20 |
| 2.2 | Gentechnisch veränderte Mikroorganismen | 20 |
| 2.3 | Mikrobiologische Arbeiten im Produktionsmaßstab | 20 |
| 2.4 | Biostoffverordnung (BioStoffV) | 21 |
| 2.5 | Biologische Arbeitsstoffe und Risikogruppen | 21 |
| 2.6 | Risikobewertung und Einstufung der Arbeiten | 23 |
| 2.7 | Sicherheitsmaßnahmen und räumliche Voraussetzungen | 24 |
| | | |
| 3 | Versuche | 25 |
| 3.1 | Quantitative Bestimmungen | 27 |
| 3.1.1 | Versuch 1: Bestimmung der Anzahl von Hefezellen in 1 g Bäckerhefe | 27 |
| 3.1.2 | Versuch 2: Keimzahl in Milch und Milchprodukten..... | 31 |
| 3.1.3 | Versuch 3: Aufnahme einer Wachstumskurve mit <i>Cupriavidus necator</i> | 33 |
| 3.2 | Anreicherung, Isolierung und Charakterisierung von Mikroorganismen | 39 |
| 3.2.1 | Versuch 4: Anreicherung von Luftkeimen | 40 |
| 3.2.2 | Versuch 5: Anreicherung von Leuchtbakterien | 43 |
| 3.2.3 | Versuch 6: Anreicherung von Myxobakterien | 47 |
| 3.2.4 | Versuch 7: Anreicherung und Isolierung Violacein-produzierender Stämme der Gattungen <i>Chromobacterium</i> und <i>Janthinobacterium</i> | 50 |
| 3.2.5 | Versuch 8: Direktisolierung aerober Endosporenbildner (<i>Bacillus megaterium</i>) | 53 |
| 3.2.6 | Versuch 9: Anreicherung und Isolierung saccharolytischer Clostridien | 56 |
| 3.2.7 | Versuch 10: Direktisolierung und taxonomische Bestimmung fluoreszierender Pseudomonaden | 60 |
| 3.2.8 | Versuch 11: Das Bestimmen coliformer Keime in Wasserproben und die Isolierung sowie taxonomische Bestimmung von <i>Escherichia coli</i> | 63 |
| 3.2.9 | Versuch 12: Direktisolierung von <i>Streptococcus salivarius</i> | 68 |
| 3.2.10 | Versuch 13: Anreicherung und Isolierung von <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i> | 72 |

| | | |
|--------|---|-----|
| 3.2.11 | Versuch 14: Anreicherung und Isolierung von <i>Propionibacterium</i> sp. | 75 |
| 3.2.12 | Versuch 15: Anreicherung und Isolierung aerober N ₂ -Fixierer (<i>Azotobacter</i> sp.) | 78 |
| 3.2.13 | Versuch 16: Anreicherung und Isolierung anaerober N ₂ -Fixierer (<i>Clostridium pasteurianum</i>) | 81 |
| 3.2.14 | Versuch 17: Anreicherung von Nitrifizierern | 84 |
| 3.2.15 | Versuch 18: Anreicherung von Denitrifizierern | 87 |
| 3.2.16 | Versuch 19: Anreicherung und Isolierung von Knallgasbakterien | 90 |
| 3.2.17 | Versuch 20: Winogradsky-Säulen zur Anreicherung anoxygener phototropher Bakterien. | 94 |
| 3.2.18 | Versuch 21: Anreicherung und Isolierung von Schwefel-Oxidierern (farblose Schwefelbakterien) | 98 |
| 3.2.19 | Versuch 22: Anreicherung sulfatreduzierender Bakterien. | 102 |
| 3.3 | Herstellung biotechnisch relevanter Produkte und Lebensmittel mit Mikroorganismen | 105 |
| 3.3.1 | Versuch 23: Herstellung von Ethanol mit Hefe. | 106 |
| 3.3.2 | Versuch 24: Herstellung von Glycerol mit Hefe durch Abfangverfahren | 111 |
| 3.3.3 | Versuch 25: Herstellung von Citronensäure mit <i>Aspergillus niger</i> | 115 |
| 3.3.4 | Versuch 26: Herstellung von Dihydroxyaceton mit Essigsäurebakterien | 118 |
| 3.3.5 | Versuch 27: Herstellung des Farbstoffs Indigo mit einem rekombinanten Stamm von <i>Escherichia coli</i> | 120 |
| 3.3.6 | Versuch 28: Herstellung und Nachweis von Antibiotika | 124 |
| 3.3.7 | Versuch 29: Herstellung von Insektentoxinen mit <i>Bacillus thuringiensis</i> | 127 |
| 3.3.8 | Versuch 30: Herstellung von Xanthan mit <i>Xanthomonas campestris</i> | 130 |
| 3.3.9 | Versuch 31: Herstellung von Dextran mit <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i> | 134 |
| 3.3.10 | Versuch 32: Herstellung mikrobieller Cellulose mit Essigsäurebakterien..... | 137 |
| 3.3.11 | Versuch 33: Herstellung von Alginat mit <i>Azotobacter vinelandii</i> | 140 |
| 3.3.12 | Versuch 34: Herstellung von Bioplastik, Poly(3HB), mit <i>Cupriavidus necator</i> | 143 |
| 3.3.13 | Versuch 35: Herstellung eines Elastomers mit <i>Pseudomonas oleovorans</i> | 148 |
| 3.3.14 | Versuch 36: Herstellung von Poly(y-D-glutamat) mit <i>Bacillus licheniformis</i> | 153 |
| 3.3.15 | Versuch 37: Herstellung und Isolierung von Cyanophycin mit einem rekombinanten Stamm von <i>Escherichia coli</i> | 156 |
| 3.3.16 | Versuch 38: Herstellung von Sauerkraut | 160 |
| 3.3.17 | Versuch 39: Umwandlung von Wein in Weinessig | 164 |
| 3.3.18 | Versuch 40: Herstellung von Natto | 168 |
| 3.3.19 | Versuch 41: Herstellung von Tempeh | 172 |
| 3.4 | Abbauleistungen von Mikroorganismen | 174 |
| 3.4.1 | Versuch 42: Mikrobieller Abbau von Poly(3-hydroxybutyrat) | 175 |
| 3.4.2 | Versuch 43: Mikrobieller Abbau von Kautschuk | 180 |
| 3.4.3 | Versuch 44: Mikrobieller Abbau von Stärke | 184 |
| 3.4.4 | Versuch 45: Partieller mikrobieller Abbau einer Fotokopie | 187 |
| 3.4.5 | Versuch 46: Mikrobieller Abbau von Kohlenwasserstoffen | 190 |
| 3.4.6 | Versuch 47: Mikrobieller Abbau von Polyethylenglykol | 197 |
| 3.4.7 | Versuch 48: Wirkungsweise und mikrobieller Abbau von Roundup® | 201 |
| 3.5 | Bakteriophagen und Viren | 207 |
| 3.5.1 | Versuch 49: Nachweis von Coli-Phagen im Abwasser | 208 |
| 3.5.2 | Versuch 50: Nachweis des Tabak-Mosaik-Virus (TMV) | 212 |
| 3.6 | Auslösung von Mutationen, Anreicherung von Mutanten und Übertragung von DNA | 214 |
| 3.6.1 | Versuch 51: Genotoxitätstests mit <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> und <i>Escherichia coli</i> | 215 |

| | | |
|--------------|--|------------|
| 3.6.2 | Versuch 52: Erweiterung des Spektrums verwertbarer Substrate bei <i>Cupriavidus necator</i> durch Mutagenese | 223 |
| 3.6.3 | Versuch 53: Poly(3HB)-negative Mutanten von <i>Cupriavidus necator</i> | 227 |
| 3.6.4 | Versuch 54: Transformation von <i>Bacillus subtilis</i>..... | 232 |
| 3.6.5 | Versuch 55: Transformation von <i>Escherichia coli</i>..... | 236 |
| 3.6.6 | Versuch 56: Konjugation bei <i>Cupriavidus necator</i> und <i>Escherichia coli</i> | 239 |
| 3.6.7 | Versuch 57: Transposon-induzierte Mutanten von <i>Cupriavidus necator</i> | 244 |
| 3.6.8 | Versuch 58: Elektroporation von <i>Mycobacterium smegmatis</i> | 250 |
| | Weiterführende Literatur..... | 254 |
| 4 | Exkursionen und Demonstrationen von Mikroorganismen an natürlichen Standorten, in Umweltproben und in der Industrie | 259 |
| 4.1 | Exkursionen | 261 |
| 4.1.1 | Exkursion 1: Kommunale Abwasserkläranlagen..... | 261 |
| 4.1.2 | Exkursion 2: Kompostwerke | 265 |
| 4.1.3 | Exkursion 3: Biogasanlagen | 271 |
| 4.1.4 | Exkursion 4: Bierbrauerei und Braustätten | 274 |
| 4.1.5 | Exkursion 5: Weinherstellung in Winzereien | 278 |
| 4.1.6 | Exkursion 6: Silage in der Landwirtschaft | 283 |
| 4.1.7 | Exkursion 7: Mikrobiologie und Biotechnologie im Supermarkt..... | 285 |
| 4.1.8 | Exkursion 8: Industrielle Herstellung von Nährmedien für die Mikrobiologie | 289 |
| 4.2 | Demonstrationen | 292 |
| 4.2.1 | Demo 1: Symbiotische N₂-fixierende Bakterien und Wurzelknöllchen | 292 |
| 4.2.2 | Demo 2: <i>Rhizobium radiobacter</i> und induzierte Pflanzentumore | 296 |
| 4.2.3 | Demo 3: <i>Claviceps purpurea</i> und Mutterkorn-Alkaloide aus infiziertem Getreide | 301 |
| 4.2.4 | Demo 4: Flechten: Ektosymbiosen von Pilzen mit Grünalgen oder Cyanobakterien | 304 |
| 4.2.5 | Demo 5: Anaerobe Süßwassersedimente und das Volta-Experiment | 307 |
| 4.2.6 | Demo 6: Farbstreifen-Sandwatt und Nordseeküste | 309 |
| | Literatur | 313 |
| 5 | Methoden | 315 |
| 5.1 | Kultivierung von Mikroorganismen | 317 |
| 5.1.1 | Methode 1: Herstellen von Nährmedien..... | 317 |
| 5.1.2 | Methode 2: Sterilisation..... | 318 |
| 5.1.3 | Methode 3: Herstellen einer Verdünnungsreihe mit Zellsuspensionen | 322 |
| 5.1.4 | Methode 4: Vereinzelung | 323 |
| 5.1.5 | Methode 5: Kultivierung anaerober Mikroorganismen | 326 |
| 5.1.6 | Methode 6: Verwendung einer Gasstation | 326 |
| 5.1.7 | Methode 7: Dichtegradientenzentrifugation | 329 |
| 5.2 | Mikroskopische Methoden | 330 |
| 5.2.1 | Methode 8: Lichtmikroskopie | 330 |
| 5.2.2 | Methode 9: Messokular | 332 |
| 5.2.3 | Methode 10: Zählkammer | 332 |
| 5.2.4 | Methode 11: Tusche-Präparat | 333 |
| 5.3 | Einfache taxonomische Verfahren zur Charakterisierung von Mikroorganismen..... | 333 |
| 5.3.1 | Methode 12: Bestimmung des Gram-Verhaltens | 333 |
| 5.3.2 | Methode 13: Sporenfärbung | 336 |
| 5.3.3 | Methode 14: Biochemische Charakterisierung von Anreicherungs- und Reinkulturen..... | 336 |
| 5.3.4 | Methode 15: Färbung von Poly(3HB) mit Sudanschwarz B und Nilrot | 340 |
| 5.3.5 | Methode 16: Färbung von Poly(glucose) mit Lugol'scher Lösung | 341 |

| | |
|---|------------|
| 5.4 Molekulargenetische Methoden | 341 |
| 5.4.1 Methode 17: Isolierung von Plasmid-DNA aus <i>Escherichia coli</i> (»Koch-Methode«)..... | 342 |
| 5.4.2 Methode 18: Transformation von <i>Escherichia coli</i> | 342 |
| 5.4.3 Methode 19: Isolierung von Gesamt DNA aus <i>Bacillus subtilis</i>..... | 343 |
| 5.4.4 Methode 20: Auslösung von Mutationen..... | 344 |
| 5.5 Photometrische Methoden..... | 346 |
| 5.5.1 Methode 21: Lambert-Beer'sches Gesetz | 346 |
| 5.5.2 Methode 22: Messung der Trübung von Zellsuspensionen | 346 |
| 5.5.3 Methode 23: Proteinbestimmung ganzer Zellen | 347 |
| 5.5.4 Methode 24: Einfacher und gekoppelter optisch-enzymatischer Test | 348 |
| 5.6 Quantifizierung von Zellen und Medienbestandteilen..... | 355 |
| 5.6.1 Methode 25: Bestimmung der Trockenmasse einer Zellsuspension | 355 |
| 5.6.2 Methode 26: Bestimmung des Ammoniumgehalts | 355 |
| 5.7 Chromatographische und elektrophoretische Methoden..... | 356 |
| 5.7.1 Methode 27: Bestimmung des Polyhydroxyalkanoat-Gehalts..... | 356 |
| 5.7.2 Methode 28: Trennung und Nachweis von Proteinen und Cyanophycin..... | 357 |
| 5.7.3 Methode 29: Gelpermeationschromatographie (GPC). | 358 |
| Weiterführende Literatur..... | 359 |
| | |
| 6 Chemikalien, Nachweisreagenzien und Medien | 361 |
| 6.1 Herstellung von Medien, Puffern und Lösungen..... | 362 |
| 6.2 Medien- und Chemikalienliste | 362 |
| | |
| 7 Modulare Zusammenstellung von Versuchen für unterschiedliche Zielgruppen | 377 |
| | |
| Stichwortverzeichnis | 383 |