**Zeitschrift:** Bollettino della Società ticinese di scienze naturali

**Herausgeber:** Società ticinese di scienze naturali

**Band:** 87 (1999)

**Artikel:** Das Ausmass der bakteriellen Vielfalt : oder wieviel Bakterien leben in Tessiner Bergseen

**Autor:** Stettler, R. / Bosshard, P. / Bachofen, R.

**DOI:** https://doi.org/10.5169/seals-1003289

**Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

**Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

**Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

**Download PDF:** 14.07.2025

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch**

# Das Ausmass der bakteriellen Vielfalt - oder wieviele Bakterien leben in Tessiner Bergseen

**R. Stettler, P. Bosshard und R. Bachofen***

*** Institut für Pflanzenbiologie, Mikrobiologie, Universität Zürich**

Die Mikroorganismen spielen in nahezu allen Ökosystemen der Biosphäre eine wichtige Rolle. Trotz ihrer Bedeutung auch für den Menschen werden sie in Diskussionen um die Artenvielfalt allzuoft vergessen. Die Analyse der Diversität mittels neuen, genetischen Verfahren erlaubt nun einen Einblick in eine unerwartet grosse Vielfalt von Mikroorganismen.

## DAS PROBLEM DER KLEINHEIT

Heute wird von der Annahme ausgegangen, dass das Leben auf der Erde nur einmal entstanden ist. Der Begriff Biodiversität, so wie er heute Verwendung findet, beschreibt die biologische Vielfalt der Arten, wie auch die genetische Variation innerhalb einer Art. Bei höheren Organismen drückt sich die Biodiversität in einer Vielzahl von phänotypischen Merkmalen aus. Obwohl trotz intensiver Forschung das Ausmass der Diversität des Lebens nach wie vor unbekannt ist, erlaubt das unterschiedliche Erscheinungsbild höherer Organismen, beispielsweise der Säugetiere, wenigstens eine grobe Abschätzung der Artenzahl.

Tab. 1 - Anzahl der beschriebenen Arten von lebenden Organismen (E.O. Wilson und F. M. Peter, ed., Biodiversity, Washington, 1988).

| | |
|---|---|
| Viren | 1'000 |
| Bakterien | 3'000 |
| Blaualgen | 1'700 |
| Pilze | 46'983 |
| Algen | 26'900 |
| niedere Pflanzen | 28'000 |
| höhere Pflanzen | 220'500 |
| Protozoen | 30'800 |
| Invertebraten | 989'700 |
| (davon Insekten: 751'000) | |
| Wirbeltiere | 42'600 |
| Total | 1'392'500 |

Weit schwieriger gestaltet sich da eine Schätzung der Artenzahl bei Mikroorganismen. Um die Vielfalt mikroskopisch kleiner Organismen untersuchen zu können, stehen in der Regel nur wenige und unscheinbare morphologische Merkmale zur Verfügung. Die Grundlage zur Definition von Gattungen bildet daher nebst den morphologisch-anatomischen Unterschieden die bei Bakterien häufig anzutreffende ausgeprägte physiologische Differenzierung. Grundvoraussetzung dafür ist allerdings, dass es gelingt, die Organismen in Reinkultur zu züchten. Wie in Tabelle 1 aufgeführt, konnten bis heute auf diese Weise etwa 3000 Bakterienarten, neuere Untersuchungen gehen inzwischen von etwa 5000 Bakterienarten aus, beschrieben werden.

## EINE NEUE KLASSE VON MERKMALE

Eine wichtige Frage bleibt aber unbeantwortet: Gibt die Anzahl der bis heute beschriebenen Bakterien das wirkliche Ausmass der mikrobiellen Vielfalt wieder oder steht die oben genannte Zahl lediglich für diejenigen Organismen, die heute kultivierbar sind? Hinweise, die für die zweite Annahme sprechen, erhält man aus Untersuchungen, die zeigen, dass nur ein Bruchteil der mikroskopisch sichtbaren Mikroorganismen auch auch als Reinkultur isoliert und demzufolge physiologisch näher beschrieben werden können.

1990 wurden in der gleichen Ausgabe der renommierten Fachzeitschrift «Nature» zwei Studien zum Thema mikrobielle Vielfalt veröffentlicht, die beide viel Beachtung erhalten haben. Dabei setzten die zwei Forschergruppen um S. Giovannoni und D. Ward ein neues Verfahren für die Fahndung nach bisher unbekannten Mikroorganismen ein, deren Idee ebenso einfach wie genial ist: Anstatt einzelne Organismen aus einer Umweltprobe zu kultivieren, haben die Wissenschafter das gesamte DNS-Material der Zellen isoliert und daraus ein bestimmtes Gen, die ribosomale rDNS, mittels Polymerase Kettenreaktion (PCR) vermehrt. Die so erhaltenen Genfragmente, die aus den verschiedenen, in der Probe vorkommenden Organismen stammte, wurden durch einen Klonierungsschritt vereinzelt und anschliessend analysiert. Durch Vergleich der Gensequenzen konnten so Rückschlüsse auf die stammesgeschichtliche Beziehungen der Organismen gemacht werden. Ein solches Vorgehen ist nur möglich, weil mit der ribosomalen rRNS ein Molekül zur Verfügung steht, das nicht nur zum Grundbestand einer jeden Zelle gehört, sondern auch in hoher Kopienzahl vorkommt. Dabei ist es von Vorteil, dass das ribosomale Gen stark konserviert ist. Un-

Bollettino della Società ticinese di Scienze naturali - 87, 1999 (1-2), pp. 67-69 (ISSN 0379-1254)

terschiede in der Abfolge der Sequenz geben nämlich Hinweise auf den Verwandtschaftsgrad und lassen eine Einordnung im phylogenetischen Stammbaum zu. Da alle Sequenzinformationen von den Forschern auf riesigen Datenbanken abgespeichert werden, von wo sie von jedermann über das weltweite Computernetz abgerufen werden können, ist eine immer genauere Einordnung der Organismen möglich. Molekulare Daten, z.B. Unterschiede in der DNS-Sequenz, stellen daher eine neue unabhängige Klasse von Merkmalen dar.

Bemerkenswert an den Arbeiten der zwei Forschergruppen war nun, dass sie in den untersuchten Ökosystemen zahlreiche bislang nicht kultivierte Organismen gefunden haben. Diese Resultate nährten die Spekulationen, dass die Vielfalt der Mikroorganismen weit grösser ist als bis dahin angenommen. Berichte wie diese, und mittlerweile sind es eine beachtliche Menge, haben zu revolutionären Veränderungen der Vorstellungen über das wahre Ausmass der mikrobiellen Biodiversität geführt. Die Schätzungen der tatsächlichen Artenzahlen streuen stark, es scheint aber, dass die Zahl der Bakterien bislang um Grössenordnungen unterschätzt worden ist. Nach vorsichtiger Annahme sind lediglich 1 % beschrieben worden, andere sprechen sogar von nur 0,1 % und noch weniger.

Eine Idee über die wirkliche Grösse der bakteriellen Artenvielfalt erhält man auch aus dem folgenden bekannt gewordenen Vergleich aus dem Umfeld der Entomologie: Neuere Studien sprechen heute von über einer Million verschiedenen Insektenarten auf der Erde. Geht man von der durchaus realistischen Annahme aus, dass in mindestens 10 % dieser Insekten mikrobielle Symbionten leben, welche durch eine obligate Wechselwirkung ganz spezifisch für eine bestimmte Insektenart sind, so müsste die Artenzahl der Bakterien allein durch diesen Umstand auf über 100'000 korrigiert werden. Und was für Insekten gilt, dürfte auch für andere Organismen gelten.

## BIODIVERSITÄT IM LAGO DI CADAGNO

Im Val Piora im Tessin liegt auf einer Höhe von 1923 m.ü.M. der nur ca. 25 ha grosse, alpine See Lago di Cadagno. Für Wissenschaftler speziell interessant ist dieser See durch seine ausgeprägte Meromixis. Dadurch wird er zu einem interessanten Forschungsgebiet und eignet sich ganz besonders, um die Beziehungen zwischen den Organismen sowie zwischen diesen und den abiotischen Faktoren zu untersuchen. Zusammen mit einer Tessiner Arbeitsgruppe um Raffaele Peduzzi vom kantonalen Institut für Mikrobiologie in Lugano verfolgen wir in Zürich das Ziel, mehr über die bakterielle Vielfalt in diesem meromiktischen See sowie in den angrenzenden Feuchtgebieten in Erfahrung zu bringen.

Verfahren sind wir in unserer Gruppe ähnlich wie die beiden erwähnten Forschungsgruppen um Stephen Giovannoni und David Ward. In einem ersten Ansatz haben wir 16S rDNS-Fragmente aus See und Mikrobenmatten kloniert und davon 47 Klone genauer analysiert. Was die Vielfalt der untersuchten Sequenzen anbelangt, stimmt unsere Untersuchung weitgehend mit Resultaten anderer Forschungsgruppen überein, die sie von verschiedensten Habitaten erhalten haben. Nur eine einzige Sequenz ist völlig identisch zu bekannten Sequenzen in den Datenbanken - die restlichen weisen teilweise so geringe Ähnlichkeiten auf, dass eine genaue Zuordnung sogar problematisch ist. Extrapoliert man diese Untersuchungsresultate, so kommt man zu dem Ergebnis, dass der Cadagnosee einen Artenreichtum aufweist, das selbst kühne Schätzungen übertrifft.

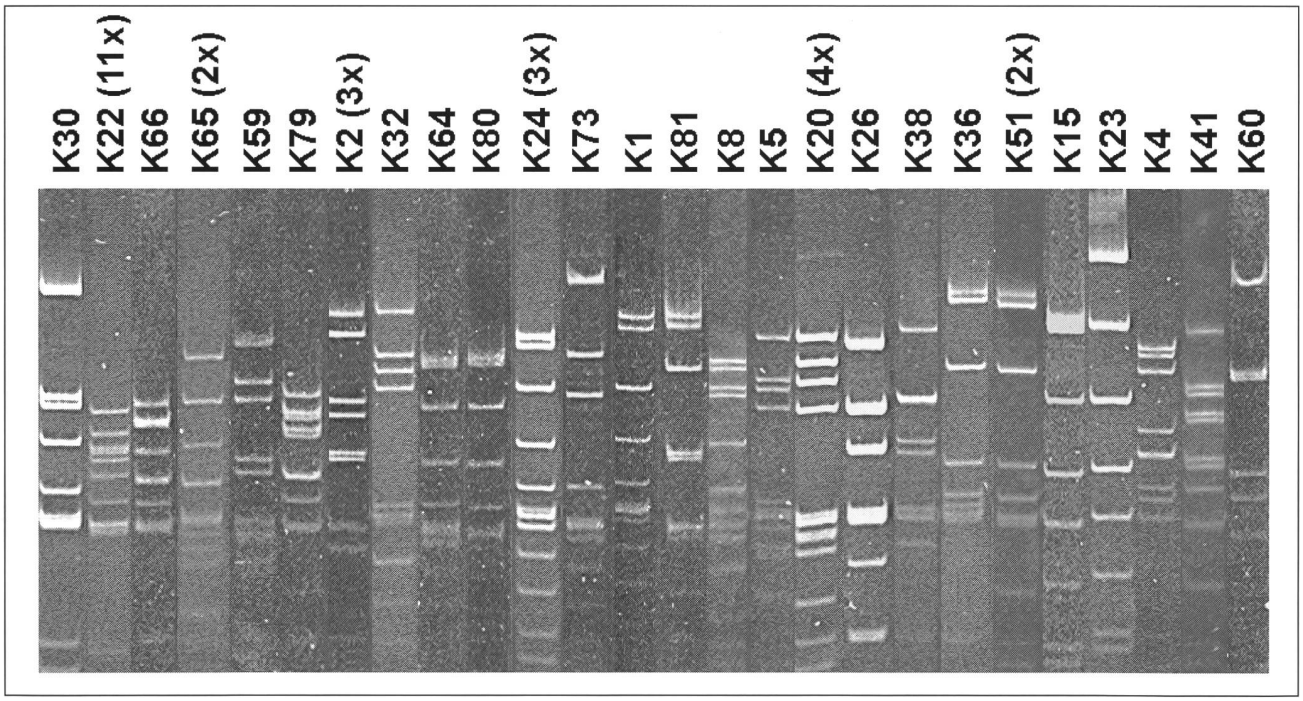


Abbildung 1: ARDRA-Muster von 45 zufällig ausgewählte 16S rDNA-Klone.

Die Vielfalt von rRNS-Genen in einer Bakteriengemeinschaft kann auch ohne vorhergehende klonale Seperation erhalten werden. Allerdings ist auch hier der erste Schritt eine Polymerase Kettenreaktion. Da die so vermehrten Genabschnitte alle ungefähr die gleiche Länge aufweisen, können sie mit einer konventionellen Agarose-Gelelektrophorese nicht aufgetrennt werden. In der «temporären Temperatur-Gradienten Gelelektrophorese» (TTGE) werden hingegen die PCR-Produkte abhängig von ihren verschiedenen Schmelzpunkten aufgetrennt. Besonders zur Bestimmung der Zusammensetzung der häufigsten Arten einer mikrobiellen Gemeinschaft wird das TTGE von 16S rDNS-Fragmenten verwendet. Mittels dieser Methode konnten wir die Resultate der Klonbiblothek weitgehend bestätigen. Zusätzlich haben wir aber auch Informationen über die mengenmässig wichtigen Organismen erhalten. Für uns speziell auffallend war in diesem Zusammenhang, dass einzelne Gruppen von Bakterien, wie beispielsweise Vertreter der Gattung Chromatium, untereinander eine beachtliche Vielfalt aufweisen.

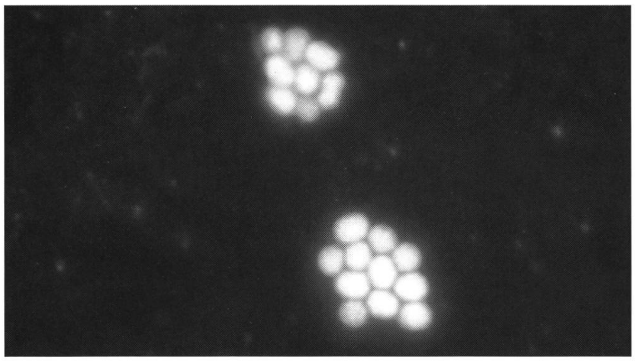

Abbildung 2: *In situ*-Detektion mit einer Probe aus dem Cadagnosee. Hybridisiert wurde mit einer Oligonukleotidsonde für Proteobakterien der g-Unterklasse.

Ergänzend zu diesen Untersuchungen haben wir auch Ganzzellhybridisierungen mit fluoreszenzmarkierten, rRNS-gerichteten Oligonukleotidsonden durchgeführt. Durch dieses Verfahren können Gruppen von Mikroorganismen *in situ* identifiziert und ihre Häufigkeit sowie Verteilung in der Umwelt direkt bestimmt werden. Damit wird es möglich, die Diversität der Mikroorganismen in ihrem natürlichen Habitat zu untersuchen.

## WARUM EINE MIKROBIELLE BIODIVERSITÄTSFORSCHUNG?

Die Bestimmung des Ausmasses der Biodiversität auf der Erde, deren Entstehung und Erhaltung, ist einer der grossen Problemkreise in der Biologie. Vor allem in der Mikrobiologie ist unser gegenwärtiges Verständnis der Vielfalt sehr oberflächlich. Fragen beispielsweise, wieviele Arten in einem bestimmten Ökosystem existieren und warum gerade soviele und nicht mehr oder weniger, oder warum gerade eine bestimmte Art in dem Biotop zu finden ist, während eine verwandte Art ein ganz anderes Umfeld vorzieht, werden die Mikrobiologen auch in Zukunft beschäftigen.

Gerade weil wir die Bedeutung der mikrobiellen Vielfalt noch nicht exakt einschätzen können, dürfen sich Debatten über Biodiversität nicht nur auf die gut sichtbaren Tier- und Pflanzenarten beschränken. Nur wenn realistische Erhebungen über Artenzahl von Mikroorganismen und deren (genetisch bestimmten) Stoffwechselfähigkeiten vorliegen, können überhaupt erst Aussagen gemacht werden, wieweit die vom Menschen verursachten Veränderungen einen Einfluss auf die mikrobiellen Gemeinschaften und die durch Mikroorganismen katalysierten Prozesse in unserer Umwelt haben.