

RIJKSLANDBOUWPROEFSTATION GRONINGEN.

Cellulose aantastende bacteriën

DOOR

Dr. J. SACK.

(Ingezonden 19 Februari 1924).

In BERGEY's manual of determinative bacteriology, jaar 1923 zijn 31 cellulose aantastende bacteriën opgegeven, die tot het geslacht cellulomonas zijn gebracht. Van deze 31 staan er 30 op naam van KELLERMAN¹⁾ en Mc. BETH; één op naam van ITERSON²⁾. ITERSON heeft zijn „Bacillus ferrugineus” niet in reïncultuur verkregen. De wijze, waarop KELLERMAN en Mc. BETH meenen cellulose aantastende bacteriën gevonden te hebben, heeft eene zeer sterke critiek uitgelokt. Zij bereiden agarplaten, waarin behalve de noodige voedingszouten, ook calciumcarbonaat en zeer fijne cellulose werd gedaan. Wanneer nu om eene kolonie een doorzichtig ringetje zichtbaar werd, werd daaruit besloten dat de kolonie bestond uit cellulose aantastende bacteriën. Verdere proeven om te bewijzen, dat het werkelijk cellulose aantastende bacteriën waren, werden niet gedaan en de onderzoekers beriepen er zich op, dat de bacteriën hunne eigenschap om cellulose aan te tasten verloren, na in cultuur te zijn geweest. De moeilijkheid was natuurlijk dat op zulke ondoorzichtige platen het niet mogelijk is te zien of werkelijk ééne kolonie aanwezig was en zij juist de niet cellulose aantasters hebben gekweekt op de andere voedingsbodems. Dat is ook de algemeene opvatting³⁾. GROENE-WEGE⁴⁾ heeft waarschijnlijk reïncultures van cellulose aantasters in handen gehad, zooals blijkt uit zijne publicatie; hij beschrijft drie staafjes. Door HUTCHINSON⁵⁾ en CLAYTON is in de gronden van Rothamsted een organismen gevonden, dat cellulose aantast en door hen gebracht wordt tot de spirochaetoïdeae en genoemd is Spirochaeta cytophaga.

Het leek mij belangrijk na te gaan of het werkelijk mogelijk was cellulose aantastende bacteriën te kweken, het bleek mij

1) Centralblatt f. Bakt. Abt. II Bd. 34 blz. 485 en Bd. 39 blz. 502.

2) Centralblatt f. Bakt. Abt. II Bd. 11 blz. 689.

3) Centralblatt f. Bakt. Abt. II Bd. 60 blz. 310.

4) Bull. du jardin botanique de Buitenzorg blz. 261, jaar 1920.

5) The journal of agricultural science vol. 9 blz. 143, jaar 1919.

echter, dat zulks inderdaad zonder veel moeite gelukt. Voor het verkrijgen van deze soort bacteriën werd een stuk filtreerpapier eenige centimeters diep in den tuin begraven en zoo eenige weken gelaten. Na dien tijd werd een stukje van het papier afgewasschen en in een kolf gedaan met leidingwater, bikaliumfosfaat, kaliumnitraat en een schijf filtreerpapier. Na duidelijke aantasting van het papier werd van de vloeistof eenige druppels geënt in een tweede kolf, die op dezelfde wijze bereid was als hierboven beschreven. Wanneer dan weder duidelijke aantasting plaats had, werd een oogje der vloeistof uitgestreken over drie agarbouillonpeptonplaten. Deze uitstrijking had plaats door op de eerste plaat een oogje der vloeistof te doen en met een geflambeerden glazen haak heen en weer te strijken en daarna met denzelfden haak over de tweede en derde plaat. De verschillende kolonies, die te zien waren op de platen, werden afzonderlijk in kolven gebracht, waarin 200 c.c. leidingwater, bikaliumfosfaat, kaliumnitraat en een schijf filtreerpapier waren gebracht en voor de enting gesteriliseerd. Wanneer aantasting van het papier plaats had in een der kolven, werd wederom op platen uitgestreken. Wanneer de kolonies op de plaat niet geheel macro- en microscopisch op elkaar geleken, werd dezelfde bewerking nog eens herhaald. Op deze wijze werden ten slotte eenige reïncultures verkregen. Uit grond werden geïsoleerd twee staafjes en één coc. Verder werd uit modder verkregen een staafje. De drie staafjes werden ondergebracht bij het geslacht *cellulomonas*, terwijl voor de coc door mij het nieuwe geslacht *cellulococcus* wordt voorgesteld. De soortnamen zijn gegeven naar de kleur der kolonies op de agarbouillonpeptonplaat en luiden:

Cellulomonas aurantius.

Cellulomonas flavus.

Cellulomonas albus.

Cellulococcus albus.

Deze vier soorten bouwen het kaliumnitraat af tot nitriet en daarna tot ammoniak, dat is dus in tegenstelling met de nitraatvormende bacteriën, die nitriet oxydeeren tot nitraat. Wel hebben zij de eigenschap om cellulose aan te tasten gemeen, zelfs nadat zij een jaar¹⁾ op de schuine agar waren geweest, hadden zij die eigenschap *niet* verloren. Hetzelfde geldt voor de nitraatvormende bacteriën.

***Cellulomonas aurantius*.**

Vorm: staafje.

Afmetingen: lengte grooter dan 1 micron;
breedte 0,5 micron.

¹⁾ dwz. dat iedere maand de culturen op nieuwe agar werden overgeënt.

Beweeglijkheid: onbewegelijk.

Gramkleuring: gram positief.

Kapsel: geen kapsel.

Spoorvorming: vormt sporen.

Bouillon: blijft helder, maar vormt sterk bezinksel dat bij voorzichtig schudden als slijmdraden zich beweegt.

Peptonwater 5 pct.: wordt troebel. Pepton is de beste stikstofbron.

Agarbouillon-peptonplaat: vormt groote, ronde, bolvormige kolonies, die eerst licht oranje, daarna donkerder worden. Onder het microscoop ziet men uit de ronde kolonies, kleurlooze uitloopers, die fraai vertakt zijn.

Gelatineplaat: 10 pct. gelatine opgelost in bouillon-pepton, eveneens ronde, oranje gekleurde kolonies, die echter geene uitloopers bezitten.

Gelatinesteek: de bacterie groeit er in met zijtakken evenals een dennenboom, de zijtakken nemen na anderen toe, in lengte af. Vervloeiing had na 5 maanden staan nog niet plaats.

Agarsteek: groeit evenals in den gelatinesteek.

Agarstreek: evenals op de agarplaat.

Indol: geen indol.

Zwavelwaterstof: wordt gevormd. Een papiertje gedrenkt met loodacetaatoplossing, dat gehangen is in een reageerbuis waarin 5 pct. peptonoplossing was, wordt binnen een week zwart.

Melk: ontvette lakmoesmelk verandert uiterlijk niet.

Aardappel: groeit uitstekend met oranje gekleurde kolonies.

Kaliumnitraat: in de voedingsbodems bestaande uit leidingwater, bikaliumfosfaat, kaliumnitraat en cellulose zijn na eenige dagen reeds nitriet en ammoniak aan te toonen. Ten laatste is er geen nitraat en nitriet, maar alleen ammoniak aanwezig.

Cellulose: wordt aangetast. Daartoe werd in eene Erlenmeyer-kolf 200 c.c. leidingwater gedaan, waarin werden opgelost 0,1 gram bikaliumfosfaat en 0,1 gram kaliumnitraat. Eene schijf filtreerpapier van 9 c.M. doorsnede werd nog toegevoegd. Na eenige weken was de rand reeds aangetast en kwamen gaten in het papier, daarna viel de schijf uit elkaar en begon te verdwijnen. Contrôle-kolven op dezelfde wijze samengesteld en bewaard, vertoonden geene aantasting. Gasontwikkeling werd niet opgemerkt.

Cellulomonas flavus.

Vorm: staafje.

Afmetingen: lengte 1,5 micron;
breedte 0,2 micron.

Beweeglijkheid: beweeglijk.

Gramkleuring: gram negatief.

Kapsel: geen kapsel.

Spoorvorming: geen sporen.

Bouillon: wordt troebel, er vormt zich een bezinksel en een huidje.

- Agarbouillon-peptonplaat*: groote, ronde, citroengele kolonies.
Gelatineplaat: eveneens ronde, citroengele kolonies.
Gelatinesteek: geen bijzondere groei. Eerst na eenige maanden treedt vervloeiing op.
Agarsteek: geen bijzondere groei.
Agarstreek: evenals op de agarplaat.
Indol: afwezig.
Zwavelwaterstof: wordt gevormd.
Melk: uiterlijk niet veranderd.
Aardappel: lichtbruine kleur.
Kaliumnitraat: wordt afgebroken tot nitriet en ten laatste tot ammoniak.
Cellulose: wordt aangetast.

Cellulomonas albus.

- Vorm*: staafje.
Afmetingen: lengte 1 micron;
 breedte 0,5 micron.
Bewegelijkheid: beweeglijk.
Gramkleuring: gram negatief.
Kapsel: geen kapsel.
Spoorvorming: vormt sporen.
Bouillon: blijft helder, vormt bezinksel en huidje.
Bouillon-pepton-agarplaat: witte, bolronde, sappige kolonies met gave randen.
Gelatineplaat: witte ronde kolonies met gave randen.
Gelatinesteek: geen bijzondere groei. Na maanden staan heeft vervloeiing plaats.
Agarsteek: wit op de oppervlakte, weinig groei in de steek zelve.
Agarstreek: evenals op de agarplaat.
Indol: niet aan te toonen.
Zwavelwaterstof: wordt gevormd.
Melk: ontvette lakmoesmelk wordt eerst zuur en daarna ontcleurd.
Aardappel: dik, sappig, lichtbruin beslag.
Kaliumnitraat: wordt afgebouwd tot nitriet en daarna tot ammoniak.
Cellulose: wordt aangetast.

Cellulococcus albus.

- Vorm*: coc.
Afmetingen: middellijn kleiner dan 1 micron.
Bewegelijkheid: niet beweeglijk.
Gramkleuring: gram positief.
Kapsel: aanwezig.
Spoorvorming: vormt sporen.
Bouillon: wordt troebel en vormt bezinksel.
Bouillon-pepton-agarplaat: witte, ronde kolonies met gave randen.

Gelatineplaat: witte, ronde kolonies met gave randen, na 5 maanden was nog geen vervloeiing ingetreden.

Gelatinesteek: de kolonies liggen in de steek afzonderlijk.

Agarsteek: geen bijzondere groei.

Agarsteek: evenals op de agarplaat.

Indol: geen indol.

Zwavelwaterstof: afwezig.

Melk: ontvette lakmoesmelk wordt binnen eene week rood.

Aardappel: heeft zeer sterke groei plaats met crême kleur.

Kaliumnitraat: wordt afgebouwd tot nitriet en ten laatste tot ammoniak.

Cellulose: wordt aangetast.