Um welt mikrobiologie

np

08.04.2025

Inhaltsverzeichnis 1 Einführung 1 1 Mikroorganismen (MO)

1	1211	num u	ing	·
	1.1	Mikro	organismen (MO)	. 3
		1.1.1	Definition und Hintergrund	. 3
		1.1.2	Evolution	. 4
	1.2	Vorko	mmen und Bedeutung	. 4
		1.2.1	Umwelt und Biospäre	. 4
		1.2.2	Gesundheitliche Aspekte	. 4
		1.2.3	Biotechnologie	. 5
		1.2.4	MO-freie Umgebungen	. 5
	1.3	Wisse	nschaftliche Pioniere	. 6
		1.3.1	Leuwenhoek, Koch und Pasteur	. 6
		1.3.2	Beijerinck und Winogradsky	. 6
		1.3.3	Avery MacCarty, Mullis, Woese	. 6
2		sundh		7
	2.1	Grund	llagen der Interaktion	
		2.1.1	Symbiose	. 7
		2.1.2	Pathogenität	. 7
	2.2	Krank	cheitserreger	
		2.2.1	Definition	
		2.2.2	Herkunft und Übertragung	
	2.3	Bedeu	tung umweltassoziierter Infektionen am Bsp. Wasser	
		2.3.1	Relevanz	
		2.3.2	WHO Rahmen	
		2.3.3	Arten der Gefährdung	
		2.3.4	Analyse der mikrobiologisch hygienischen Qualität	
		2.3.5	Vorgabe der Qualitätsziele	
		_	eich chemischer und mikrobiologischer Gefährdungen	. 9
3				10
	3.1	Mikro	skopie	
		3.1.1	Lichtmikroskop	
	3.2	Arbeit	ten im Labor	
		3.2.1	Gute Laborpraxis	
		3.2.2	Kultivierung von MO	
		3.2.3	Klassifizieren von MO	12
4				14
	4.1		ryonten (Bakterien und Archae)	
		111	Aufbau einer Bakterienzelle	1/

		4.1.2	Drei älteste Bakteriengruppen	14
		4.1.3	Chloroflexi	15
		4.1.4	Phylum: Deinococcus-Thermus	15
		4.1.5	Phylum: Spirochaeta	15
		4.1.6	Phylum: Chlorobi (grüne Schwefelbakterien)	16
		4.1.7	Phylum: Flavobacteria & Bacteroidetes	16
		4.1.8	Phylum: Chlamydiae	16
		4.1.9	Phylum: Cyanobacteria	16
		4.1.10	Phylum: Firmicutes & Actinobacteria	17
		4.1.11	Phylum: Proteobacteria	17
	4.2	Archae	ea	17
		4.2.1	Phylum: Crenarchaeota	17
		4.2.2	Phylum: Euryarchaeota	18
	4.3	Viren		18
		4.3.1	Allgemeine Kennzeichen von Viren	18
		4.3.2	Das Capsid	18
		4.3.3	Die Virus-Hülle	18
		4.3.4	Virusklassifizierung	19
		4.3.5	Vermehrung von Viren	19
		4.3.6	Spezialfälle von Viren	19
	4.4	Eukar	yonten (Algen, Protozoen, Pilze)	19
		4.4.1	Protozoen	19
		4.4.2	Schleimpilze	20
		4.4.3	Algen	20
		4.4.4	Pilze	21
5	Nä	$\mathbf{hrstoff}$	fkreislauf und Microbial loop	22
	5.1	Kreislä	äufe	22
		5.1.1	Kurzgeschlossener Nährstoffkreislauf	22
			Gebrochener Nährstoffkreislauf	
	5.2	Kohler	nstoffkreislauf	22
	5.3	Stickst	toffkreislauf	22
	5.4	Phosp	horkreislauf	22
			felkreislauf	
			bial loop	23
6				24
	6.1	Abbau	ı & Transformation	
		6.1.1	Abbaubarkeit	
		6.1.2	Kometabolismus	24
	6.2			
	6.3	Wachs	stum und Wachstumskinetik	24
			stum und Wachstumskinetikeraturabhängigkeit biologischer Prozesse	
		Tempe		25
	6.4	Tempe 6.3.1	eraturabhängigkeit biologischer Prozesse	25 25
		Tempe 6.3.1 CSB u	eraturabhängigkeit biologischer Prozesse	25 25 26
7	6.5	Tempe 6.3.1 CSB u Zellert	eraturabhängigkeit biologischer Prozesse Temperatur / RGT-Regel und Redfield Stöchiometrie crag/Yield	25 25 26
7	6.5 An 7.1	Tempe 6.3.1 CSB u Zellert wendu Minera	raturabhängigkeit biologischer Prozesse Temperatur / RGT-Regel und Redfield Stöchiometrie trag/Yield ungsbeipiele alölkohlenwasserstoffe	25 26 26 26 27 27
7	6.5 An 7.1	Tempe 6.3.1 CSB u Zellert wendu Minera	raturabhängigkeit biologischer Prozesse Temperatur / RGT-Regel and Redfield Stöchiometrie trag/Yield trag/Sield	25 26 26 26 27 27
7	6.5 An 7.1 7.2	Tempe 6.3.1 CSB u Zellert wendu Minera Boden	raturabhängigkeit biologischer Prozesse Temperatur / RGT-Regel und Redfield Stöchiometrie trag/Yield ungsbeipiele alölkohlenwasserstoffe	25 26 26 27 27

1 Einführung

1.1 Mikroorganismen (MO)

1.1.1 Definition und Hintergrund

MO sind mit < 150μm definiert. Sie sind im Mikro-/Nanometer Bereich angesiedelt.

Mikrobiologie Analyse der dominanten Lebensform am Planeten

Mikroben dominante Biomassen und Prozesse

Prokaryoten Kein Zellkern, keine Membranen (Bakterien, Archaeen)

Eukaryoten Zellkern, Membranen (Pilze, Algen, Protozoen)

Biomoleküle RNA, DNA, Proteine, Lipide

Mikrokosmos:

- syntrophe Interaktionen (bedeutet "nähren")
- Zell-Zell Interaktionen
- Zell-Umwelt Interaktionen
- häufig Biofilmstrukturen
- großes Oberflächen-Volumen Verhältnis

Die Natur kultiviert "Mischkulturen" und nicht "Reinkulturen". Mikrobielle Gemeinschaften beeinflussen das tägliche Leben, bsp. das intestinale Mikrobiom ist für die Verdauung essentiell.

Reinkulturen werden im Labor erzeugt, und haben eine große Bedeutung für:

- experimentelle Arbeit
- Model Organismen
- Biotechnologie und Fermentation
- Diagnostische Arbeit

Es ist ein großer Aufwand reinkulturen zu erhalten.

Charakteristika des mikrobiellen Lebens:

- 1. Metabolismus
- 2. Wachstum
- 3. Evolution

Weitere Eigenschaften sind:

- Kommunikation
- Mobilität
- Differenzierung
- genetischer Austausch

Abiotische vs. biotische Kompartments:

Die 5 generellen Merkmale des Lebens:

- Form/Organistaion spezifische Organisation anhand von Biomolekülen und definierte Grenzen (Aussen/Innen)
- Metabolismus definierter Energie- and Massefluss
- Produktivität Wachstum- and Reproduktion
- Erregbarkeit Reaktion gegenüber Umweltreizen
- Evolution Veränderung in Raum und Zeit

Sind Viren Organismen? \rightarrow Nein

- Größe im Nanometerbereich
- kein Metabolismus
- benötigen Wirtszelle für Replikation

Effekte von Viren auf Wirtszelle:

- lytische Infektion: Zerstörung der Wirtszelle
- persistierende Infektion: Wirtszelle bleibt erhalten

- latente Infektion: Virusgenom wird in Wirtszelle integriert
- Transformation: Wirtszelle wird durch Virusgenom verändert (Tumorzelle)

Baltimore Classification (virale Genome):

Grafik aus dem Skript

1.1.2 Evolution

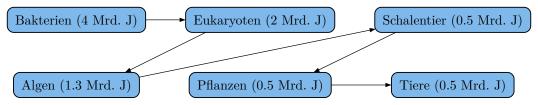


Abb. 1: Mikroorganismen besiedeln die Erde seit fast 4 Mrd. Jahren

Mikrobiota in der Umwelt:

- Flüsse, Seen, Quellen
- Grundwasser, Boden, Sedimente
- Luft, Ozeane, ...

Metabolische Möglichkeiten der Energiekonservierung:

- anerobe
- mikroaerophil
- aerob

Energiequellen:

- Licht
- organische Stoffe
- anorganische Stoffe

1.2 Vorkommen und Bedeutung

1.2.1 Umwelt und Biospäre

Mikrobielle Zellzahlen in den Top 5 Habitaten:

- Tiefseeuntergrund $4 \cdot 10^{29}$
- Boden $3 \cdot 10^{29}$
- Tiefer continentaler Untergrund $3 \cdot 10^{29}$
- Ozeane $1 \cdot 10^{29}$
- Oberer Ozeanische Sedimente $5 \cdot 10^{28}$

Biofilm Vorkommen:

- an Grenzflächen im Meer
- in Eukaryoten
- in Grundwasserleitern und Abwasserreinigungsanlagen

1.2.2 Gesundheitliche Aspekte

Die Top 3 Todesursachen um 1900 waren noch Infektionskrankheiten. Heute sind es Herz-Kreislauf-Erkrankungen.

Hauptübertragungswege:

- Person zu Person (Tröpfcheninfektion)
- Vehikel basierend (Wasser, Nahrung)
- Vektor basierend (Insekten)

Umweltmikrobiologie 1 Einführung

Die Übertragungswege beim Vehikel Wasser können sowohl **zoonotisch** (vom Tier) als auch **anthroponotisch** (vom Mensch) sein. Die Infektionen können durch Wassersicherheits Management minimiert werden.

Endemisch ständig in eine Endemiegebiet vorhanden

Epidemisch zeitlich und räumlich begrenztes massenhaftes Auftreten

Pandemisch weltweit Auftetende Epidemie

Wichtge Infektionskrankheiten:

- verursacht durch Bakterien
- verursacht durch Viren
- verursacht durch Protisten
- verursacht durch Pilze

Humanes Mikrobiom (positive Effekte):

- unterstütz bei Verdauung
- Synthese von Vitaminen und anderen Nährstoffen
- Art des Darmmikrobioms \rightarrow direkte gesundheitliche Auswirkung

1.2.3 Biotechnologie

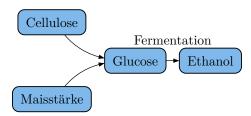
MO haben in fast allen Bereichen von Industrie und Gewerbe eine Bedeutung. Negativ:

• Wachstum in fast allen Kompartimenten mit Wasser (Korrosion, Fowling)

Positiv:

- relative low-cost Produktion mit MO (Enzyme, chemische Rohstoffe, ...)
- Biotechnologie (Medikamente, Insulin, ...)
- Umweltbiotechnologie \rightarrow Umweltschutz (Abwasserreinigung, ...)

Beispiel Ethanolerzeugung:



1.2.4 MO-freie Umgebungen

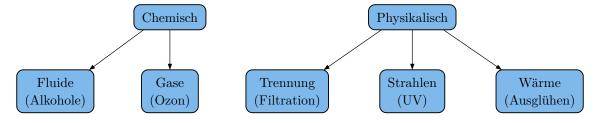
Sterile Kompartimente in der Umwelt sind die Ausnahme!

- sterile Körperkompartimente
- heiße Kompartimente
- künstlich sterile Kompartimente

Trinkwasser ist nicht steril. Wassereigene Mikrobiota gehören zum natureigenen Bestandteil.

In der Praxis ist eine ausreichende Sterilität gegeben, wenn die Kontaminationswahrcheinlichkeit ausreichend gering ist (unter 10^{-6} liegt).

 $Es \ gibt \ viele \ verschiedene \ Methoden \ zur \ Desinfektion \ bzw. \ Sterilisation \ von \ Oberflächen \ und \ Materialien.$



1.3 Wissenschaftliche Pioniere

1.3.1 Leuwenhoek, Koch und Pasteur

- Robert Hooke (1664) benutzte ein Mikroskop
- Van Leuwenhoek (1684) benutzte ein Mikroskop
- \rightarrow Optische Mikroskope nur bis zu einer Auflösung von $0.1\mu m$ oder 100~nm

Meilensteine in der Kultivierung und Reinkultur von MO.

Louis Pasteur:

- Bedeutung der Sterilisation
- Fermentation
- pasteurisieren
- Impfstoffentwicklung

Pasteur wiederlegt 1868 Theorie der spontanen Erzeugung, wonach Leben aus unbelebter Materie entstehen kann, mit seinem Schwanenhalsflaschen Experiment.

Moderne Impfstoffplattformen:

- whole Pathogen (attentuated, inactivated)
- viral vectors (replicating, non-replicating)
- Subunit (protein subunit; polysaccharide/conjugate; toxoid; virus-like particles)
- Nucleic Acids (RNA, DNA)

Keimtheorie von Infektionskrankheiten:

- 1847 Ignaz Semmelweis (Hygiene, Händewaschen, Prävention von Infektionen)
- 1867 Lister und Pasteur (aseptische Techniken, Hinweis MO könnten Infektionen verursachen)
- 1878 Robert Koch (beweist MO verursachen Infektionen)

Koch's Postulate:

- 1. Pathogen präsent in jedem Krankheitsfall
- 2. Pathogen muss in Reinkultur wachsen
- 3. Zellen der Reinkultur lösen Krankheit in gesundem Tier aus
- 4. Pathogen muss isoliert werden und gezeigt werden, dass gleich mit ursprünglichen Pathogen ist.

1.3.2 Beijerinck und Winogradsky

Martinus Beijerinck (1851-1931) wendete erstmals die Anreicherungskultur an.

- \rightarrow hoch selektive Wachstumsmedien
- \rightarrow hoch selektive Bebrütung

Sergeij Winograd
radsky (1856-1953) isolierte erfolgreich Bakterien die $\rm N_{2^-}$ und S-Kreislauf beteiligt sind.

1.3.3 Avery MacCarty, Mullis, Woese

DNA als Basis der Vererbung. Avery McCarty \rightarrow S_{DNA} kann auch Transformation durchführen und tötet ebenfalls Mäuse (siehe Folien).

Kary Mullis und Michale Smith gelten als Entwickler der PCR (Polymerasekettenreaktion) zur Amplifikation diagnostischer DNA-Fragmente zum Nachweis und Analyse von MO aus der Umwelt und Klinik.

2 Gesundheit

2.1 Grundlagen der Interaktion

2.1.1 Symbiose

Eine Symbiose kann sowohl positiv, negativ sowie eine unmessbare Wirkung auf Symbionten haben. Zudem können die Auswirkungen zeitlich und räumlich variieren.

- Mutualism (wechselseitige Beziehung, trennung kaum möglich)
- Cooperation (wechselseitige Beziehung, jedoch nicht zwingend)
- Commensalism (nur einer hat einen Nutzen, anderer wird nicht geschädigt)
- Predation (Raubtier greift Beute als Nahrungsquelle an.)
- Parasitism (Parasit profitiert von Wirt und Wirt wird geschädigt)
- Amensalism (Unidirektionale Beeinträchtigung)
- Competition (Kampf um selbe Resource)

2.1.2 Pathogenität

Es gibt verschiedene Auffassungen der Pathogenität.

- MO speziell um Mensch zu Schaden
- MO versuchen Gleichgewicht herzustellen. Bei Ungleichgewicht kommt es zur Krankheit
- Mensch ist ein zufälliger Wirt des MO

Wahrscheinlich sind situationsbedingt alle richtig. Schließlich ist der Ausgang der Infektion abhängig von der Virulenz des MO, von den Abwehrkräften des Wirts und von der Anzahl der krankmachenden MO.

2.2 Krankheitserreger

2.2.1 Definition

Obligater pathogene Krankheitserreger verursachen immer Krankheit in Menschen

Fakulative pathogene Krankheitserreger verursachen nur bei geschwächtem Immunsystem Krankheit (Opportunisten)

Apathogene MO verursachen normal keine Krankheit außer bei stark geschwächtem Immunsystem Infektion Eindringen des MO in den Wirt, Vermehrung und Reaktion des Wirtes

Inkubationszeit Zeit zwischen Infektion und Ausbruch der Krankheit

Infektionskrankheit Infektion mit klinischer Symptomatik (Zell- Gewebeschädigende Aktivität und Abwehrreaktion)

Kolonisation Anwesenheit von MO auf Haut oder Schleimhaut

Kontamination Verunreinigung von Gegenständen, der Umwelt oder von Proben mit unerwünschten MO

Wichtige Elemente des Immunsystems:

- Hauptelemente
 - physische / chemische Barrieren
 - ightharpoonup gelöste Faktoren
 - zelluläre Faktoren
- unspezifische Immunität
 - Haut und Schleimhäute
 - Mikrobiom
 - ► Komplement System
 - Monozyten, Makrophagen, natürliche Killerzellen
- spezifische Immunität
 - Antikörper
 - ► Lymphozyten (B, T)

2.2.2 Herkunft und Übertragung

Mikrobielle Krankheitserreger können verschiedene Ursprünge haben.

- Human (Anthroponosen) \rightarrow Cholera, Hepatitis, Meningitis, ...
- Tiere (Zoonosen) \rightarrow Enteric fever, Leptospirosis, ...
- Umwelt \rightarrow Legionellose, Wound infections, ...

Anthroponosen sind besonders relevant. Ca. $\frac{2}{3}$ der Tierinfektionen sind für den Menschen relevant.

Für die Übertragung von Krankheitserregern siehe Abschnitt 1.2.2

2.3 Bedeutung umweltassoziierter Infektionen am Bsp. Wasser

2.3.1 Relevanz

Die WHO beschreibt 9 Vorrausetzungen für einen intakte Gesundheit. Darunter fällt auch sicheres sauberes Wasser zum Waschen und zur Hygiene. Eine gesündere Umwelt könnte fast 23% der jährlichen weltweiten Todesfälle verhindern.

einige wichtige WHO Definitionen für Wasser assoziierte Erkrankungen:

- Water borne Infektion durch verunreinigtes Wasser
- Water washed Krankheiten aufgrund mangelnder Sanitärerversorgung und Hygiene
- Water based Infektion durch wirbelloses Wasserlebewesen
- Water-related vector-borne Infektion durch Insekten die auf Wasser angewiesen sind (Malaria)

2.3.2 WHO Rahmen

Hazard biologische, chemische, physikalische oder radiologische Agenzien, die das Potenzial haben Schaden zu verursachen.

Das Stockholm Proposal 1999 stellt ein vereinheitlichtes Konzept für alle Arten von Wassernutzung vor. Es beinhaltet Trinkwasser, Badewasser und Wiederverwendung von Wasser.

Gesundheitsziele basieren auf tolerierbaren Risiken. Diese Risiken werden durch Risikomanagement Maßnahmen geregelt. Danach wird eine Risikorückwirkung durchgeführt.

Die WHO schlägt ein tolerierbares Gesundheitsrisiko von 10^{-6} DALYs pro Person und Jahr vor. Kann übersetzt werden in eine Infektion pro 1.000 bis 10.000 Personen pro Jahr.

2.3.3 Arten der Gefährdung

- fäkal-bürtige Pathogene
- wassereigene Pathogene

Wichtige Faktoren wasserübertragbarer intestinaler Pathogener:

- Vorkommen
- Konzentration
- Größe und Mobilität

- Umweltresistenz
- Umweltpersistenz
- Infektionsdosis
- Gesundheitsbelastung

Pathogene Legionellen:

- natürliches Vorkommen nur in niedrigen Konzentrationen
- Vermehrung bei Stagnation
- Infektion der Atemwege (durch Aerosole)

2.3.4 Analyse der mikrobiologisch hygienischen Qualität

Ein universeller Pathogen Nachweis ist nicht sinnvoll oder möglich.

- viele Arten von Darmpathogenen
- häufig un geringer aber signifikanter Konzentration
- quantitative Informationen notwendig

Umweltmikrobiologie 2 Gesundheit

• infektiös? lebensfähig? tot?

Mikrobielle Indikatoren hingegen sind einfach zu analysieren.

Mikrobielle Indikatoren:

- Verschmutzungsinidkatoren
 - ▶ Mikrobielle fäkale Verschmutzung
 - ► Indexindikatoren
 - ► Indikatoren für Infektionsrisiken
- Behandlungsindikatoren
 - ► Reduktion
 - ► Desinfektion

Der wohl bekannteste Fäkalindikator ist der E. coli.

Quantitative molekulare Diagnostik:(DNA/RNA Analyse)

- 1. Probennahme
- 2. Anreicherung
- 3. Extraktion
- 4. Lagerung
- 5. Quantifizierung
- fast jedes DNA/RNA Target ist quantifizierbar
- Probenlagerung (-80°C) notwendig
- Hybridsysteme existieren
- meist keine Info zu infektiös, lebend oder tot

2.3.5 Vorgabe der Qualitätsziele

Indirekter Dosis-Wirkungs Zusammenhang

QMRA MISSING

2.4 Vergleich chemischer und mikrobiologischer Gefährdungen

Intoxikation Schädigung durch chemische Substanz

Infektion Schädigung durch infektiösen Erreger

Krankheit Krankheitssymptome bei Wirt

Vergleich:

- chemisch
 - Moleküle, $> 10^{10} 10^{12}$ Moleküle, chronisch, biotransformation
- · mikrobiologisch
 - ightharpoonup Zellen, akut und Einzelevent, Immunreaktion

3 Methoden in der Umweltmikrobiologie



3.1 Mikroskopie

"Das Sichtbar machen des Kleinen - Die Mikroskopie"

Das Auge sieht Sachen bis 20-50 μ m. Bakterien sind meist viel kleiner (0.03 - 1 μ m).

3.1.1 Lichtmikroskop

Vergrößerung gemäß den Gesetzen der Optik unter Ausnutzung von Lichtbrechung an Glaslinsen.

- Einfache Mikroskopie: nur einzelnes optisches System (Wie eine Lupe).
- Zusammengesetzte Mikroskope: zwei oder mehr optische Systeme. Objektiv erzeugt vergrößertes Bild, welches von Okular nochmals vergrößert wird.

Gebräulichste Mikroskopieverfahren:

- Hellfeldmikroskopie:
 - ▶ Licht fällt durch Objekt
 - Objekt benötigt oft vorherige Einfärbung.
- Dunkelfeldmikroskopie
 - ${\scriptstyle \blacktriangleright}$ zentraler Lichtbereich wird abgedeckt
 - · Randstrahlen gelangen ins Objektiv
 - ▶ durch Streuung erscheint Objekt hell vor dunklem Hintergrund
- Phasenkontrastmikroskopie
 - ▶ Licht wird gespalten
 - Hintergrundlicht kommt direkt in Objektiv während Objektlicht durch Objekt muss
- Fluoreszenzmikroskopie
 - Fluoreszenzlicht muss vorhanden sein oder Farbstoff hinzugefügt werden
 - Sperrfilter blockiert das Anrege Licht und lässt nur Fluoreszenzlicht ins Objektiv
- Konfokale Mikroskopie
 - ▶ fokusiertes Laserlicht beleuchtet Objekt
 - Objektiv erfasst nur Licht aus dem Fokus
 - ▶ 3D-Bilder durch Schichtaufnahme
- Elektronenmikroskopie (1 Mio Vergrößerung)
 - ${\color{red} \bullet} \ \, {\rm Transmissionselektronenmikroskopie}$
 - Elektronenstrahl durch Objekt
 - zeigt das innere des Objektes
 - Rasterelektronenmikroskopie
 - Elektronenstrahl reflektiert an mit M
teall bedampfter Oberfläche
 - ► Oberflächen erkennbar

3.2 Arbeiten im Labor

3.2.1 Gute Laborpraxis

Laborsicherheit wird in der Verordnung für biologische Arbeitsstoffe 1998 geregelt.

- Laborklasse (L1-L4)
- Hygiene, Expositionsvermeidung
- Arbeitsschutz
- Mitarbeiter Schulung

Laborsicherheitsstufen:

- S1 greinges Risiko für Beschäftigte, geringes Risiko für Bevölkerung
 - Händewaschen

- · Arbeitsflächen desinfizieren
- S2 mäßiges Risiko für Beschäftigte, geringes Risiko für Bevölkerung
 - Nur befugtes Personal
 - Arbeit an Sicherheitswerkbänken
- S3 hohes Risiko für Beschäftigte, geringes Risiko für Bevölkerung
 - Schleuseneingang
 - ▶ Müll und Abwasser sterilisation
 - Schutzausrüstung
 - ▶ Gefilterte Luft und Notstrom
- S4 hohes Risiko für Beschäftigte, unvorhersehbares Risiko für Bevölkerung
 - Überdruckanzug
 - ▶ Unterdruck im Labor
 - fest installierte Handschuhe
 - ▶ Gasdichte Sicherheitswerkbänken

Sterilisation: Verfahren um Gegenstände von MO (einschließlich ihrer Ruhestadien) zu befreien. Meist nur eine Reduktion um einige 10-er Potenzen möglich.

- Sterilisation ein Keim bei 10⁶ desinfizierten Einheiten
- Desinfizieren reduktion, sodass keine Infektion zu erwarten wäre (5 Zehnerpotenzen)
- Antiseptik: Antimikrobielle Präparate an Eintrittstellen

Log-Reduktionsstufen

$$-\log_{10}\left(\frac{\text{nach Desinf.}}{\text{vor Desinf.}}\right) \tag{1}$$

Sterilisationsverfahren:

- Physikalisch
 - ► Dampsterilisation (Denaturierung von Proteinen)
 - ► Heißluftsterilisation (weniger effizient wegen geringerer Wärmeleitfähigkeit)
 - Strahlensterilisation (ionisierende Strahlung)
- Chemisch
 - ► Nassantiseptik (mit Fluiden)
 - ► Trockenantiseptik (mit Gasen wie Ozon, Wasserstoffperoxid, Formaldehyd)

3.2.2 Kultivierung von MO

Nährmedien und Kultivierung:

- Flüssigmedien (Agar Agar)
 - ▶ Anreicherung von MO
- Festmedien (Agar Agar)
 - isolierung von MO (und Untersuchung der Eigenschaften)

Grundsätliche Zusammensetzung eines Nährmediums:

- Wasser
- Energiequelle (organische Verbindungen, aber auch Schwefelverbindungen)
- Kohlenstoffquelle (für heterotrophe Organismen meist Kohlenhydrate)
- Salze (Makroelemente wie Stickstoff, Phosphor und Schwefel)
- pH-Puffer (Verhindert Verändrung des pH-Wert)

Arten der Kulturmedien nach Funktion:

- Universalmedien
- Selektivmedien -um bestimmte MO zu kultivieren
- Differentialmedien
 - Indikatormedium, Farbstoffe die diagnostisch wirken

Anreicherungskultur: Wachstumsbedingungen sind für einen MO oder MO-Gruppe günstiger als für andere. Das Ziel ist die Anreicherung eines Mikroorganismus oder einer bestimmten Gruppe.

Reinkultur: Wachstum eines Klons von einem bestimmten Organismus unter Ausschluss jeglicher individuen anderer Arten oder Stämme von Organismen.

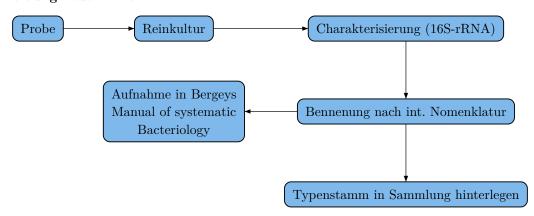
- Verdünnungsreihe
- Dreizehn-Strich-Methode

3.2.3 Klassifizieren von MO

Organismen werden in Gruppen (Taxa) eingeteilt. Die grundlegenste Einteilung erfolgt nach Domänen und die feinste die nach Gattung und Arten. Die Namen sind binomial und setzen sich aus Gattungsname und Art-bezeichnenden Zusatz zusammen. Es sind zuerzeit mehr als 10.000 Bakterien und Archaen als valide Arten beschreiben.

Vorraussetzung für die Klassifizierung ist eine Reinkultur (aus einer Zelle).

Beschreibung neuer Arten:



Kriterien zur Klassifizierung einer Reinkultur:

- Morphologie
 - ► Kolonieform /-farbe, Zellform, Beweglichkeit
- Physiologie
 - Verwertung von Substraten, Analyse von Gärprodukten, Temperaturgrenzen, Säuren und Salz Toleranz
- Biochemische und molekularbiologische Kriterien
 - ► Enzymaktivität, Cytochromen,...

Analytical Profile Index Test:

Ein Schnellbestimmungssystem zur Identifizierung von Bakterien. Kombiniert mehrere Tests zur Überprüfung biochemischer Merkmale. Biochemische Merkmale als Zahlencode dargestellt. Das numerische Profil wird mit Datenbank abgeglichen.

PCR und Sequenzierung:

Vervielfachung ("Amplifizierung") eines kleinen Teils des erbgutes. Detektion und Identifikation der vervielfachten Produkte (mittels Gelelektrophorese).

MISSING

Sequenzanalyse BLAST:

Basic Local Alignment Search Tool. Vergeleich der experimentell ermittelten DNA

MISSING

Sequenzanalyse Verwandtschaftsbestimmung:

Die ideale Zielsequenz, das Gen der ribosomalen 16S-RNA (Länge etwa 1500 Basenpaare), hat sich über Zeit nur sehr langsam verändert. Daher ist es ideal für die Analyse von Verwandtschaftsbeziehungen. Aus der Anzahl der Mutationen ergibt sich ein evolutionärer Abstand. Mit Hilfe von Computerprogrammen kann man aus den Abständen einen Stammbaum erstellen. Die Verzweigungen sind nicht durch fossile Funde belegt und haben keine zeitliche Dimension.

Umweltmikrobiologie:

Ist die Ökölogie der MO, ihre Beziehung zueinander und zu ihrer Umwelt. Sie befasst sich mit Eukaryota, Archaea und Bacteria sowie mit Viren.

- abiotische Faktoren (Temperatur, Salz, pH-Wert, Sauerstoffgehalt, ...)
- biotische Faktoren (Beziehung zu intraspezifischen und interspezifischen Organismen)

Ökologische Niesche:

Ist jener n-dimensionale Raum von Umweltfaktoren, in denen Leben für einen Organismus möglich ist.

Beispiele für interspezifische Wechselwirkungen:

- Räuber-Beute
- Antibiose
- Parasitismus
- Kommensialismus oder Probiose
- Symbiose oder Mutualismus

Anwendungsgebiete Umweltmikrobiologie:

- Abwasserreinigung
- Sanierung von Gewässern
- Böden
- Verwertung von Biomüll

4 Diversität von MO

MO haben ein geringes Ausmaß (μm Bereich) und zeichnen sich durch ihre Einzelligkeit aus.

Man kann folgende Gruppen unterscheiden:

- Bakterien (vollständige MO)
- Archaea (vollständige MO)
- Eukaryoten (mehrere Gruppen sind teil der MO)
- Viren (keine echten MO, da kein eigener Stoffwechsel)

Artkonzept bei prokaryotischen Arten:

- monophyletischer und genomisch kohärenter Cluster von Einzelorganismen.
- paarweise genomische DNA-DNA Hybridisierung
- hohe phänotypische Konsistenz

Artdefinition bei Bakterien:

- Bakterien Arten sind oft schwer zu unterscheiden
- phänologische Ähnlichkeit
- Genaustausch auch über Artgrenzen hinaus
- Defintion einer Bakterienart
 - → Phylogenetische Verwandtschaft (beistzen gleichen Kerngenpool)
 - ▶ Phänologische Ähnlichkeit (gleiche Merkmale und gleich Ökologische Niesche)

4.1 Prokaryonten (Bakterien und Archae)

4.1.1 Aufbau einer Bakterienzelle

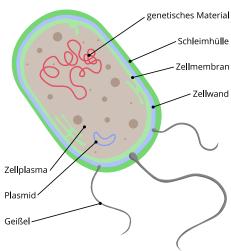


Abb. 6: Aufbau einer Bakterienzelle

Weiters unterscheidet man ihre Formen nach Kokken, Bazillen, Knospenden Bakterien und ander Formen.

4.1.2 Drei älteste Bakteriengruppen

Aquificae, Thermodesulfobacteria und Thermotogae. Diese sind im allgemeinen sehr Hitzebeständig, haben eine genetische Verwandtschaft zu Archaeae und Leben in extremen Habitaten. $\bf 3$ Familien \rightarrow 19 Gattungen

Tab. 1: Eigenschaften der drei ältesten Bakteriengruppen.

	Aquificae	Thermotogae	Thermodesulfo- bacteria
Temperatur	$> 80^{\circ}C$	$\approx 80^{\circ}C$	$\approx 70^{\circ}C$
Sauerstoff	mikroaerophil	anaerob	strikt anaerob
Energie	chemolithotroph	chemoorga- notroph	Sulfatreduzierer

4.1.3 Chloroflexi

i Chloroflexi

3 Familien \rightarrow 6 Gattungen

Schlüsselgattungen:

- Chloroflexus
- Heliothrix
- Oscillochloris

Kennzeichen dieser Gruppe:

- Älteste photosynthetische Entwicklungslinie
- Leben in heißen Quellen
- Bilden dicke Bakterienmatten

Eine schwefelfreie grüne Bakterie. **3 Familien** \rightarrow **6 Gattungen**. Ist die älteste photosynthetische Entwicklungslinie. Sie leben in heißen Quellen und bilden dicke Bakterienmatten.

- sind Gram-negativ
- bilden fädige Zellketten
- betreiben Photosynthese
- Wachstum ist photoheterotroph sowie photoautotroph möglich

4.1.4 Phylum: Deinococcus-Thermus

i Deinococcus-Thermus

2 Familien \rightarrow 6 Gattungen

Schlüsselgattungen:

- Deinococcus
- Thermus

Kennzeichen dieser Gruppe:

- Leben in heißen Quellen
- Besitzen eine mehrschichtige Zellwand

2 Familien \rightarrow 6 Gattungen; sind nicht thermophil, sind resistent gegen hohe Intensitäten ionisierender Strahlung, mehrschichtige Zellwand, mehrere DNA-Reparatursysteme und vierfaches Nukleoid. Schlüsselgattung Thermus hingegen ist thermophil, aerob, chemoorganotroph und hat eine hitzestabile DNA Polymerase.

4.1.5 Phylum: Spirochaeta

i Spirochaeta

3 Familien \rightarrow 13 Gattungen

Schlüsselgattungen:

- Spirochaeta
- Treponema
- Cristispira
- Leptospira
- Borrelia

Humanpathogene:

- Borrelia burgdorferi (Borreliose)
- Treponema pallidum (Syphilis)
- Leptospira-Arten

Spiralige Form, morphologisch einzigartig, beweglich durch Endoflagellen.

4.1.6 Phylum: Chlorobi (grüne Schwefelbakterien)

i Chlorobi

1 Familien \rightarrow 6 Gattungen

Schlüsselgattungen:

- Chlorobium
- Prosthecochloris
- Chlorochromatium

Kennzeichen dieser Gruppe:

- Leben planktonisch in ${\bf Seen}$
- Besitzen Gasvakuolen
- Strikt anaerob
- Obligate phototroph

MISSING

4.1.7 Phylum: Flavobacteria & Bacteroidetes

i Flavobacteria & Bacteroidetes

4 Familien \rightarrow 28 Gattungen

Schlüsselgattungen:

- Bacteroides
- Rickenalla
- Prevotella
- Flavobacteria

Kennzeichen dieser Gruppe:

- Gram-negativ (meist stäbchenförmig)
- im Verdauungstrakt von Menschen (bis zu 10^{11} Zellen pro g Stuhl)
- opportunistische Krankheitserreger
- Nachweis von fäkalen Verschmutzungen

4.1.8 Phylum: Chlamydiae

i Chlamydiae

4 Familien \rightarrow 7 Gattungen

Schlüsselgattungen:

• Chlamydia

Gram-negativ, geringste physiologische Fähigkeiten in Gruppe der Bakterien.

Humanpathogene:

- Chlamydia trachomatis (Augen, Genitalbereich)
- Chlamydia psittaci (Psittakose)
- Chlamydia pneumoniae (Atemwege)

4.1.9 Phylum: Cyanobacteria

i Cyanobacteria

7 Familien \rightarrow 54 Gattungen

Schlüsselgattungen:

- Synechococcus
- Oscillatoria (Spirulina Nahrungsergänzungsmittel)
- Nostoc (in Süßwasser)

4.1.10 Phylum: Firmicutes & Actinobacteria

i Firmicutes

33 Familien $\rightarrow >232$ Gattungen

Humanpathogene:

- Bacillus
- Clostridium
- Listeria
- Staphylococcus

Allgemein:

- Gram-positiv
- meist chemoorganotroph
- teilweise pathogen
- ökolog., techn. & medizin. Bedeutung

i Actinobacteria

44 Familien $\rightarrow >170$ Gattungen

Humanpathogene:

- Mycobacterium (Tuberkulose, Lepra)
- Corynebacterium (Diphtherie)

Allgemein:

- meist Stäbchen oder filamentös
- Bildung von Endo- und Exosporen
- wichtige Antibiotika Resource
- vorwiegend in Boden und Gewässern

4.1.11 Phylum: Proteobacteria

i Proteobacteria

84 Klassen $\rightarrow >$ 530 Gattungen

Humanpathogene:

- Escherichia coli
- Salmonella
- Vibrio cholerae
- Helicobacter pylori

Allgemein:

- größte und vielfältigste Gruppe
- Gram-negativ
- Peptidoglykan-Schicht
- Lipopolysaccharidemembran (zweite Membran)
- medizin., industrielle und landwirtschaftliche Bedeutung

4.2 Archaea

4.2.1 Phylum: Crenarchaeota

i Crenarchaeota

Schlüsselgattungen:

- Sulfolobus
- Acidianus
- Thermoproteus
- Pyrodictium
- Pyroclobus

MISSING

4.2.2 Phylum: Euryarchaeota

i Euryarchaeota

Schlüsselgattungen:

• Halobacterium

MISSING

4.3 Viren

4.3.1 Allgemeine Kennzeichen von Viren

- biologische Objekte an der Grenze des Lebendigen
- obligat parasitisch
- kein eigener Stoffwechsel
- Virusvermehrung erfolgt in Wirtszelle

Aufbau von Viren:

- außerhalb von Zellen Virionen genannt
- virals Genom im Zentrum
- Capsid umgibt Erbgut
- Lipidmembran bei behüllten Viren

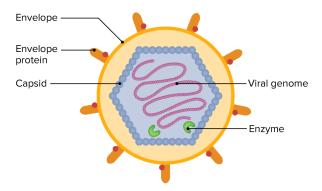


Abb. 7: Aufbau eines Viruses

4.3.2 Das Capsid

Das Capsid bildet die **äußerste Schicht** bei unbehüllten Viren. Es hat die Funktion, das **Genom zu schützen** und stellt bei unbehüllten Viren den Kontakt zu Wirtszelle her und befördert das Genom in die Zelle.

4.3.3 Die Virus-Hülle

Falls vorhanden, dann eine doppelschichtige Membran.

- Lippiddoppelschicht: stammt von Plasmamembran der Wirtszelle.
- Virale Membranproteine: gro0e Anzahl, verdrängen wirtseigene Membranproteine
- Funktion: Schutz, Bindung an Wirtszelle, Fusionierung mit Plasmsmembran, Bildung neuer Varianten durch mutierte Hüllproteine

Umweltmikrobiologie 4 Diversität von MO

4.3.4 Virusklassifizierung

Tab. 2: Baltimore Klassifikation von Viren

Gruppe	Eigenschaften	mRNA Produktion
I	Doppelstrang DNA	mRNA direkt von DNA Vorlage geschrieben
II	Einzelstrang DNA	DNA zuerst in doppelstrang Form bevor zu RNA übersetzt
III	Doppelstrang RNA	mRNA übersetzt von RNA Genom
IV	Einzelstrang RNA $(+)$	Genomfunktion als mRNA
V	Einzelstrang RNA (-)	mRNW von RNA Genom abgeleitet
VI		
VII		

4.3.5 Vermehrung von Viren

- 1. Anlagerung (an Wirtszelle)
- 2. Eindringen
- 3. Uncoating (Freisetzung des Genoms)
- 4. Vermehrung des Genoms im Zytoplasma oder Zellkern
- 5. Zusammenbau
- 6. Freisetzung

4.3.6 Spezialfälle von Viren

- Risenviren
- Prionen (infektiöse Proteine, unempfindlich gg. UV-Strahlung und Hitze)
- Viroide (kurzer RNA Strang, keine Proteine oder Lipide)
- Defekte Viren

4.4 Eukaryonten (Algen, Protozoen, Pilze)

4.4.1 Protozoen

Kennzeichen von Protozoa:

- eukaryotischer Zellbau (meist einzellig)
- freilebend und parasitär
- meist feuchte Habitate
- $\bullet\,$ Lebensweise: heterotroph, autotroph, mixotroph, aerob oder anaerob
- Vermehrung asexuell und sexuell

Klassifikation tierischer Protisten:

Class	Characteristic	Example
Flagellates	motile, one or more flagella	Giardia
Ciliates	motile, covered in many short cilia	Paramecium
Amoebae	motile, move with cytoplasmic extensions	Amoeba
Sporozoa	adult is not motile; many are parasites; some form spores	Toxoplasma, Plasmodium

Fortbewegung bei Protozoa:

- Flagellen (Schwanz) rotierende Bewegung
- Cilien (Haar) schlagende Bewegung

4.4.2 Schleimpilze

Charakeristika:

- Polyphyletische Gruppe
- Heterotrophe Lebensweise
- Habitat: feuchte Umgebung (Boden, Gras, ...)
- Vermehrung: asexuell und sexuell (Sporen in Sporangien)
- keine Zellwand in vegetativer Lebensphase
- ähneln sowohl Protozoen als auch Pilzen

Dictyostelimycota - zelluläre Schleimpilze:

- Bildung eines Pseudoplasmodiums (keine Verschmelzung der Einzelzellen)
- Ernährung phagothroph (Bakterien)
- Beispielgattung Dictyostelium

Myxomycota - plasmodiale Schleimpilze:

- Bilden echtes Plasmodium (Verschmelzung der Einzelzellen)
- Ernährung phagothroph (Bakterien)
- Beispielgattung Physarum

4.4.3 Algen

Allgemein:

- einzellig oder mehrzellig
- autotroph
- manche besitzen Flagellen
- Zellwände aus Cellulose, teilweise Pektin
- feuchte Habitate (wasserlebende und terrestrische Spezies)
- Fortpflanzung: asexuell und sexuell, teilweise im Generationenwechsel

Algen sind keine einheitliche Gruppe von Organismen. Sieben Abteilungen von weitläufig verwandten Organismen werden als Algen bezeichnet. Die wichtigsten 3 werden hier vorgestellt:

i Euglenophyta

- ursprünglichste Abteilung der Algen
- Einzellig
- autotroph oder heterotroph
- 1-3 Flagellen
- pulsierende Vakuole (zur Osmoregulation)
- Photorezeptor
- keine Zellwand stattdessen Membran
- Reservestoffe Kohlenhydrate
- hauptsächlich im Süßwasser
- Fortpflanzung: asexuell

i Pyrrophyta - Dinoflagellaten

- Einzellig
- autotroph und heterotroph
- 2 Flagellen
- Zellwand aus Cellulose

- Reservestoffe Stärke
- Fortpflanzung: asexuell
- Habitat: hauptsächlich Salzwasser, manche Süßwasser
- einige sind biolumineszent
- manche sind giftig (Alexandrium, Gambierdiscus, Dinophysis)

i Chlorophyta - Grünalge

- größte Gruppe der Algen
- Einzellig auch Koloniebildend
- autotroph z.T. parasitär
- Zellwand innen Cellulose aussen Pektin
- Reservestoffe Stärke
- Fortpflanzung: asexuell und sexuell
- Habitat: hauptsächlich Süßwasser, einige Salzwasser und feuchte Erde

4.4.4 Pilze

Morphologie von Pilzen:

- Hyphe (Grundelement von filamentösen Pilzen)
- Myzel (Geflecht von Hyphen)
- Pilzthallus (Gesamtheit des Myzels, aka. Pilzkolonie)
- Hefe (Grundelement von einzelligen Pilzen)

Dimorphe Formen können zwischen filamentösem und einzelligem Wachstum wechseln.

Ökologie von Pilzen:

- Pilze als Destruenten
- Flechten (Symbiose zwischen Pilzen und Algen)
- Mycorrhiza (Symbiose zwischen Pilzen und Pflanzen)

5 Nährstoffkreislauf und Microbial loop

5.1 Kreisläufe

5.1.1 Kurzgeschlossener Nährstoffkreislauf

- Nährstoffe zu Großteil in der Biomasse gespeichert nicht in Boden
- 80% der toten Biomasse wird wieder aufgenommen
- 20% gehen verloren
- keine Senken (Speicher)

5.1.2 Gebrochener Nährstoffkreislauf

- tote Biomasse wird nur langsam abgebaut
- Nährstoffe speichen sich in Senken

Metabolismus chemische Umwandlungen von Substanzen in Lebewesen

Katabolismus Abbau von Stoffwechselprodukten (Energiegewinnung)

Anabolismus Aufbau von Stoffwechselprodukten (Energieverbrauch)

Dissimilation Abbau von Stoffen zur Energiegewinnung (Atmung, anaerobe und aerobe)

Assimilation Aufbau körpereigener Stoffe aus Nährstoffen

5.2 Kohlenstoffkreislauf

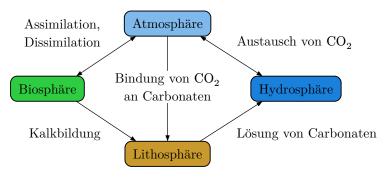
Gesamtheit aller Auf-, Um- und Abbauprozesse, durch die Kohlenstoff und seine Derivate umgesetzt werden. Vorwiegend in Form von CO_2 . Ist verbunden mit dem Sauerstoffkreislauf und dem Energiekreislauf.

Die wichtigsten Wege der Zirkulation sind

- Assimilation ($CO_2 \longrightarrow org. C$)

Die wichtigsten C Senken sind:

- Sedimente in der Tiefsee
- Fossile Brennstoffe
- Karbonate (i.d. Hydro-, Bio- und Lithosphäre)



MO als Destruenten schließen den Kohlenstoffkreislauf ab.

5.3 Stickstoffkreislauf

MISSING				
5.4 Phosphorkreislauf				
	MISSING			

5.5 Schwefelkreislauf

- Hauptquellen für Einschleußung in Stoffwechsel sind lösliche Mineralien (So_4^{2-} aus $CaSO_4$, $MgSO_4$).
- Wichtig im Energiestoffwechsel von MO
- Anaerob $\mathrm{H}_2\mathrm{S}$ mit Eisen zu unlöslichem Eisensulfid

5.6 Microbial loop

Der Microbial Loop beschreibt die Rückführung gelöster organischer Substanz (DOM) in aquatische Nahrungsnetze durch die Aufnahme von heterotrophen Bakterien, die wiederum von Flagellaten und Zooplankton gefressen werden. Dadurch wird organischer Kohlenstoff, der sonst verloren ginge, in die höhere trophische Ebene integriert und für das gesamte Ökosystem nutzbar gemacht.

DOM Dissolved Organic Matter

POM Particulate Organic Matter

- DOM wird durch Exsudation oder Autolyse freigesetzt und von Bakterien aufgenommen.
- POM wird durch Exoenzyme in DOM umgewandelt.
- DOM und POM dienen als Nahrungsquelle für Flagellaten und Zooplankton.
- Organische Substanz gelangt so zurück in die Haupt-Nahrungsketten des Gewässers.

6 Kometabolismus, Abbau und Transformation

6.1 Abbau & Transformation

6.1.1 Abbaubarkeit

Abbau ist ein Prozess bei dem org. Chemikalien biologisch und deren Enzyme zersetzt werden. Im Idealfall Abbau bis zur Mineralisierung (anorg. Stoffe). Abbau kann auch in stabilen Transformationsprodukten stehen bleiben. Es gibt drei Stufen:

- Umwandlung in ATP (Adenosintriphosphat)
- Citratzyklus zur Bildung zentraler Intermediate unter ATP Verbrauch
- Ausscheidung Stoffwechselprodukte

Weiters unterscheidet man zwischen folgenden Abbaubarkeiten:

- Bio. leicht abbaubar
- Bio. schwer abbaubar
- Persistente Stoffe / refraktäre Stoffe

Ein **Metabolit** ist zwischen Substrat (Ausgang) und Produkt (Ende), also ein Intermediat. Diese müssen in Folgereaktionen eintreten können und haben eine begrenzte Halbwertszeit.

Ein **Sekundärmetabolit** ist meistens nicht essentiell für Organismen und wird oft als Stoffwechselprodukt ausgeschieden.

Transformationsprodukte

Transformationsprodukte??

6.1.2 Kometabolismus

Durch **Synergismus**, also dem Teilabbau von Stoffen durch viele MO, werden gemeinschaftlich Kontaminenten mieralisiert.

Bei der Kometabolisierung wird der Abbau von Kontaminenten durch zugabe von Nährstoffen oder Substrate ermöglicht. Der Kontaminent reagiert dann sozusagen mit.

6.2 Wachstum und Wachstumskinetik

Generationszeit Zeitraum, in dem eine Population ihre Zellzahl verdoppelt

Verdopplungszeit Zeitraum für die Verdopplung der Zellmasse

Teilungsrate Anzahl der Zellteilungen pro Zeiteinheit

Wachstumsrate Zunahme der Zellzahl pro Zeiteinheit

Spezifische Wachstumsrate Wachstumsrateunter Limitierung durch ein Substrat

Maximale spez. Wachstumsrate Wachstumsrate unter optimalen Bedingungen

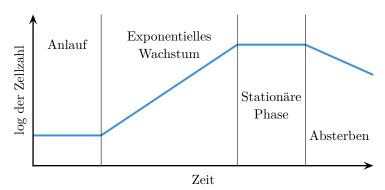


Abb. 9: Phasen des Wachstums

- Anlauf Phase (Zeit der Anpassung an Umweltbedingungen bis zu max. Vermehrungsrate)
- Exponentielle Phase (konstante minimale Generationszeit)
- Stationäre Phase (Absterberate und Wachstumsrate im Gleichgewicht)
- Absterbe Phase

Beispiel

Wachstum einer MO-Population. Mit $c_0=100$ Bakterien. Diese wachsen pro Zeit um 5%. Daher ist a=1.05.

$$f(t) = c_0 \cdot a^t \tag{2}$$

Wie viele Bakterien sind nach 5 Stunden da?

$$f(5) = 100 \cdot 1.05^5 = 127.6 \tag{3}$$

Wann hat sich die Bakterienzahl verdoppelt?

$$c_0 \cdot a^t = 2 \cdot c_0 \to t = \frac{\log(2)}{\log(a)}$$

$$t = 14.2 \text{h}$$
 (4)

Michaelis Menten Gelichung:

$$v = \frac{v_{\text{max}} \cdot [S]}{K_M + [S]} \tag{5}$$

Die Michaelis Menten Konstante K_M ist die Substratkonzentration, bei der die Reaktionsgeschwindigkeit v die Hälfte der maximalen Geschwindigkeit v_{max} beträgt.

$$K_M \to \frac{1}{2} \cdot v_{\text{max}}$$
 (6)

$$\mu = \mu_{\text{max}} \cdot \frac{S}{S + K_{\text{S max}}} [\text{mg/l}]$$
 (7)

MISSING

6.3 Temperaturabhängigkeit biologischer Prozesse

6.3.1 Temperatur / RGT-Regel

Die Reaktion-Geschwindigkeit-Temperatur-Regel (RGT-Regel) besagt, dass eine Erhöhung der Temperatur um 10 °C eine Verdopplung der Reaktionsgeschwindigkeit zur Folge hat.

$$\theta_{1^{\circ}C} = \sqrt[\tau_2 - \tau_1]{\frac{\tau_2}{\tau_1}} \tag{8}$$

Sind die Raten τ_i bekannt für zwei Temperaturen T_i , so kann der Faktor θ für Veränderung errechnet werden.

6.4 CSB und Redfield Stöchiometrie

CSB als Basis von Massenbilanzen in Systemen mit mikrobiellen Prozessen!

Element	MG	CSB
С	12	$32 \mathrm{g} \ \mathrm{CSB/Mol} \ \mathrm{C}$
Н	1	$8 \mathrm{g} \ \mathrm{CSB/Mol} \ \mathrm{H}$
O	16	-16g CSB/Mol O
N	14	-24g CSB/Mol N
S	32	$48 {\rm g~CSB/Mol~S}$
P	31	$48 \mathrm{g} \ \mathrm{CSB/Mol} \ \mathrm{P}$



CSB Berechnung: (CH_2O)

- 1 Mol C · 32g CSB/Mol C \longrightarrow 32g O_2
- 2 Mol H · 8
g CSB/Mol H —> 16
g $\ {\rm O_2}$
- 1 Mol O · -16g CSB/Mol O \longrightarrow -16g O₂

6.5 Zellertrag/Yield

Yield bezeichnet die Biomasseausbeute bezogen auf das verbrauchte Substrat.

$$Y_{\rm X/S} = \frac{X - X_0}{S_0 - S} \tag{9}$$

MISSING

7 Anwendungsbeipiele

7.1 Mineralölkohlenwasserstoffe

7.2 Bodensanierung

- in situ
 - ▶ Behandlung des (un-)gesättigten Untergrundes ohne Aushub kontaminierten Materials.
- \bullet on site
 - Behandlung des ausgekofferten Bodenmaterials oder des abgepumpten Grundwassers außerhalb des Untergrundes, jedoch am Standort der Kontamination
- off site
 - ${\color{blue} \bullet}$ Behandlung in einer zentralen Anlage an einem anderen Standort

7.3 Abwasserreinigung

Einige Folien fehlen hier noch.

8 Altfragen

? Frage 1

Was ist die Bedeutung von Phosphor in der Umweltmikrobiologie?

Phosphor ist wichtigstes wachstumslimitierendes Substrat. Es spielt eine zentrale Rolle beim Energiestoffwechsel (ATP) und ist Bestandteil der DNA und der Zellmembran. Phosphat (PO_4^{3-}) ist dabei die relevanteste Form.

Frage 2

Beschreiben Sie den aeroben Abbau von aromatischen Kohlenwasserstoffen.

Metabolisierung in 3 Stufen, wobei das Grundmuster des aeroben abbaus bei monocyklischen Aromaten, Phenolen und Carbonsäuren und des letzten Ringes beim Abbau von PAK gleich ist.

- 1. Benzolring, unter Verbrauch von Sauerstoff in Brenzkatechin, umgewandelt, das zwei benachbarte Hydroxylgruppen enthält.
- 2. Ring des Brenzkatechins wird unter Verbrauch von Sauerstoff zwischen den beiden Hydroxylgruppen oder zwischen einer OH-Gruppe und einem C-Atom gespalten.
- 3. Die offenkettigen Verbindungen werden weiter in Säuren und Aldehyde gespalten, die in den Stoffwechsel eingeschleust werden.

? Frage 3

Was ist die Definition für *Hazard* laut WHO?

Biologische, chemische, physikalische oder radiologische Agenzien, die das Potenzial haben Schaden zu verursachen. (WHO 2006)

? Frage 4

Beschreiben Sie die Mechanismen der mikrobiellen Korrosion von Stahl.

MISSING

? Frage 5

Welche sind die drei Hauptübertragungswege von Infektionserkrankungen?

- Person zu Person (direkt, indirekt, airborne)
- Vehikel basierend (waterborne, foodborne, airborne, soilborne)
- Vektor basierend (anthropods/insects)

? Frage 6

Was ist μ_{\max} und K_s in der Wachstumskinetik?

 K_s ist die Sättigungskonstante, Nährstoffkonzentration bei $\mu=0.5\cdot\mu_{\rm max} \quad [{\rm mg\ /l}]$ $\mu_{\rm max}$ ist die maximale Wachstumsrate (Zunahme der Zellzahl/-masse pro Zeiteinheit)

Umweltmikrobiologie 8 Altfragen

$$\mu = \mu_{\text{max}} \frac{S}{S + K_{S_{max}}} \tag{10}$$

? Frage 7

Beschreiben Sie die Unterschiede zwischen kontinuierlicher Fermentation und Belebungsbecken?

Kontinuierliche Fermentation: Ein vollständig durchmischtes Becken, dem kontinuierlich Abwasser (Nährlösung) zufließt. Dort wachsen MO die das zugeführte Substrat verbrauchen und das System wieder verlassen. Gleichgewichtszustand, d.h. Konzentration im Ablauf bleibt gleich. Ist qR (Wachstumsrate der MO) größer als μ_{max} dann werden MO ausgewaschen. Bei $0 < qR < \mu_{max}$ ist das System selbstregulierend.

Belebungsbecken: Beim Belebungsbecken wird qR und μ_{max} entkoppelt, damit das Volumen des Beckens und die erforderliche Verweilzeit klein gehalten werden. Dies geschieht durch eine Rückführung der MO aus dem Ablauf einer kont. Fermentation in den belüfteten Reaktor. In der Praxis erfolgt das durch Abtrennung der Biomasse im Nachklärbecken oder auch Membranfiltration.

? Frage 8

Charakterisieren Sie die Grün Alge.

Grünalge: (450 Gattungen, >7500 Arten)

- größte Gruppe innerhalb der Algen
- Einzellig, auch koloniebildende Formen
- Lebensweise autotroph (z.T. parasitär auf Landpflanzen)
- Reservestoffe: Stärke gespeichert in Pyrenoiden
- Beweglichkeit: manche Arten 1-2 Flagellen
- Zellwand: innere Lage Zellulose, äußere Lage Pektin
- Habitat: Süßwasser, einige marin, terrestrisch in feuchter Umgebung
- Fortpflanzug: asexuell und sexuell

? Frage 9

Beschreiben Sie die Unterschiede zwichen Katabolismus und Anabolismus.

Katabolismus: Abbau von Stoffwechselprodukten von komplexen zu einfachen Molekülen. Energiefreisetzende (exergone) Stoffumsetzungen. Dient zur Energiegewinnung, Lieferung von Baustoffen und der Entgiftung.

Anabolismus: Ist die Gesamtheit der energieverbrauchenden (endergonen) Stoffumsetzungen und gleichzeitg der aufbauenden Stoffwechselreaktionen.

? Frage 10

Erklären Sie Viroid, defekte Viren und Prionen.

Viroide: kurzer, zu einem Ring geschlossener RNA Einzelstrang (250-400 Basen). Freie DNA, keine Proteine oder Lipide. Replikation in Pflanzenzellen.

defekte Viren: Nicht im Besitz aller Gene für einen vollständigen Infektionszyklus. Benötigen Helfervirus. Konkurenz um Replikationsapparat, Hüllproteine und Capsidproteine.

Prionen: Infektiöse Proteine (falsch gefaltet). Verursachen spongiforme Enzephalopathien. Beispiel:

Creutzfeld-Jakob, BSE, Scarpie. Unempfindlich gegenüber UV- und Gammastrahlen, Hitze und Desinfektionsmittel.

? Frage 11

Größenordnung (in Mikrometern): Viren, Bakterien, Pilze, Algen

- Viren: $0,02-0,5\mu m$ • Bakterien: $0,2-5\mu m$ • Pilze (Hefe): $4-8\mu m$
- Algen:
 - Grünalge $1-10\mu m$
 - andere $2-200\mu m$
- Amöben: $100-800\mu m$

? Frage 12

Wie kann man Mikroorganismen klassifizieren? Welche Kriterien stehen zur Verfügung und warum werden gerade diese Kriterien verwendet?

? Frage 13

Vorkommen von Prokaryoten und Größenordnung vom Gesamtvorkommen

? Frage 14

Grünalgen: Charakteristika und wofür werden sie genutzt?

- größte Gruppe der Algen
- Einzellig, auch koloniebildende Formen
- Lebensweise autotroph (z.T. parasitär)
- Reservestoffe: Stärke
- Fortpflanzug: asexuell und sexuell
- Habitat: Süßwasser, einige marin und terrestrisch
- Zellwand aussen Cellulose, innen Pektin

? Frage 15

Pilze: Rolle im Ökosystem und Bedeutung für Menschen

- Pilze als Destruenten
- Flechten (Algen + Pilze)
- Mykorrhiza (Pflanzen + Pilze)
- Bedeutung für den Menschen:
 - ► Lebensmittel (Pilze, Bier, Brot, Hefe)
 - Antibiotika
 - ► Biotechnologie

UMWELTMIKROBIOLOGIE 8 ALTFRAGEN

Frage 16

3 älteste Bakterienarten aufzählen und beschreiben

Alle drei Gruppen sind im Allgemeinen sehr Hitzebeständig und sind mit Archeen verwandt.

- Aquificae (> $80^{\circ}C$, mikroaerophil, chemolithotroph)
- Thermotogae ($\approx 80^{\circ}C$, anaerob, chemoorganotroph)
- Thermodesulfobacteria ($\approx 70^{\circ}C$, strikt anaerob, Sulfatreduzierer)

? Frage 17

Firmicutes beschreiben

Siehe auch Abschnitt 4.1

- 33 Familien, >232 Gattungen
- Gram positiv
- meist chemoorganotroph
- teilweise pathogen (Bacillus, Clostridium, Listeria)
- ökol., techn. und medizinisch wichtig

? Frage 18

Beschreiben Sie die Eigenschaften von Archaea und Eubacteria und ihre Unterschiede.

Archaea: Eigenschaften und Unterschiede zu Eubacteria

Gemeinsamkeiten:

- Bakterien und Archeen sind 2/3 der Gruppen der MO
- Einzeller
- prokaryotischer Zellbau

Unterschiede:

- Bakterien kompexe Struktur, Archeen einfach
- verschiedene Stoffwechselwege
- Archeen können t.w. Methan synthesieren
- Archeen haben nicht zwingend eine Zellwand
- ullet viele Archeen sind extremophil
- keine Pathogene Archeen bekannt (? sus)

? Frage 19

Wie vermehrt sich ein Virus?

Siehe auch Abschnitt 4.3.5

- 1. Anlagerung
- 2. Eindringen
- 3. Uncoating
- 4. Vermehrung
- 5. Zusammenbau
- 6. Freisetzung

Frage 20

4 Arten der Vireninfektion

- Lytische Infektion Tod der Wirtszelle
- Persistierenden Infektion Viren bleiben lange in der Zelle
- Latente Infektion Viren präsent aber keine Symptome
- Transformation der Zelle Entstehung von Tumorezellen

? Frage 21

Welche Sicherheitsstufe braucht man im Umgang mit HI-Viren? Welche Sicherheitsvorschriften sind zu treffen?

Stufe 3 Hohes Risiko für Beschäftigte, geringes Risiko für die Bevölkerung. (Organismen die über Atemwege infizieren; z.B. Bacillus anthracis, Mycobacterium tuberculosis, HIV, SARS, Tollwut)

Vorschriften:

- Hände waschen
- Arbeitsflächen desinfizieren
- Zugang nur für Befugte
- Arbeit an Sicherheitsbänken
- Schutzimpfung empfohlen
- filternde Lüftungsanlage, Notstrom
- Autoklaven, Zugang über Schleußen
- Müll und Abwasser sterilisieren
- Schutzausrüstung tragen

? Frage 22

Aufbau von Viren Warum sind Viren keine Organismen (4 Gründe)

Siehe Abschnitt 4.3

- außerhalb der Zelle Virionen genannt
- virales Genom im Zentrum
- Capsid umgibt Erbgut
- Lipidmembran bei behüllten Viren

Viren sind keine Organismen weil:

- kein eigener Metabolismus
- Wirtszelle für Replikation notwendig
- Bewegung erfolgt nur passiv
- keine Reizbarkeit

Frage 23

Baltimore Klassifizierung von Viren

Siehe Tab. 2 in Abschnitt 4.3. Unterteilung in 7 Klassen anhand des Virusgenoms.

- Klassen 1-3 sind DNA-Viren
- Klassen 4-7 sind RNA-Viren

UMWELTMIKROBIOLOGIE 8 ALTFRAGEN

Viren besitzen Nukleinsäuren in Form von DNA oder RNA. Je nachdem, ob diese einzel- oder doppelsträngig vorliegt und anhand ihrer Polarität werden sieben Klassen unterschieden.

? Frage 24

Was versteht man unter dem Yield-Koeffizient und was sagt dieser aus?

Der Yield-Koeffizient (Y) oder auch Ausbeute-Koeffizient bezeichnet die Biomasseausbeute (Zuwachs an Biomasse, X) bezogen auf das verbrauchte Substrat (S)

$$Y = \frac{X}{S} \tag{11}$$

Der Rest (1-Y) wird zum Teil in nutzbare Energie als ATP und zum Teil in nicht nutzbare Energie (Wärme) übergeführt.

? Frage 25

Definition: Anreicherungskultur und Reinkultur

Anreicherungskultur: Wachstumsbedingungen, für einen Mikroorganismus oder eine Gruppe günstiger als für andere.

Ziel: Anreicherung eines Organismus oder einer bestimmten Gruppe

Reinkultur: Wachstum eines Klons von einem bestimmten Organismus unter Ausschluss jeglicher Individuen anderer Arten oder Stämme von Organismen erfordert Sicherstellung, dass die Kultur aus einer einzigen Zelle hervorgegangen ist

? Frage 26

Schritte der Anzüchtung einer Kolonie

? Frage 27

Zusammenhang: Wachstumsrate – Verdopplungszeit

Die Verdopplungszeit hängt von der Wachstumsrate ab. Je höher die Wachstumsrate, desto kürzer die Verdopplungszeit. Ist die Wachstumsrate bekannt, kann man die Verdopplungsrate berechnen und andersherum.

$$t_{\text{Verdopplung}} = \frac{\log(2)}{\log(a)}$$
 (12)

$$f(t) = c_0 \cdot a^t \tag{13}$$

? Frage 28

Sterilisation in der Praxis

Sterilisation kann zu 100% nicht erreicht werden. Daher eine Reduktion vermehrungsfähigen MO um bestimmten Faktor. Steril bedeutet 10^{-6} MO pro Fläche. Desinfektion bedeutet eine Reduktion der MO, sodass keine Infektion mehr erfolgen kann (5 Zehnerpotenzen).

? Frage 29

Chemische Desinfektionsverfahren

Reduktionsstufen bei der Desinfektion: gibt es eine allgemein gültige Regelung?

Siehe Abschnitt 1.2

- physikalische Verfahren
 - Dampfsterilisation
 - ▶ Heißluftsterilisation
 - ► Strahlungssterilisation
 - ► Plasmasterilisation
 - Sterilfiltration
- chemische Verfahren
 - ► Nassantiseptik (Fluide)
 - ▶ Trockenantiseptik (Gase)

Reduktionsstufen: Die Reduktionsstufen werden oft als Log-Reduktionsstufen angegeben. Eine log-Stufe bedeutet die Reduktion um eine 10er Potenz. Die zu erreichenden Reduktionsstufen können je nach Zielvorgaben unterschiedlich sein. Seifen haben ca. 2 log-Stufen. Medizinisch steril heißt log 7.

Sterilisieren: 10⁶
Desinfizieren: 10⁵

? Frage 30

Heißluft/Dampfsterilisationsverfahren

Sind physikalische Sterilisationsverfahren

Heißluftsterilisation (trockene Hitze):

- Oxidation intrazellulärer Zellbestandteile
- weniger effizient (geringe Wärmeleitfähigkeit trockener Luft)
- längere Einwirkdauer (bei 160-180°C für 30 120 Minuten)

Dampfsterilisation (feuchte Hitze):

- Denaturierung von Proteinen
- Temperatur und Dauer hängen mit Resistenz der MO zusammen
- 120°C, 2 bar, 20 Minuten

? Frage 31

Erklären von PCR (inklusive Teilschritte)

PCR-Polymerase Kettenreaktion: Polymerasen sind in allen Lebewesen vorkommende Enzyme. Ihre Funktion ist notwendig für die Vermehrung der Erbinformation.

Vervielfachung eines kleinen Teils des Erbgutes. Anschließend Detektion und Identifikation der vervielfachten Produkte

• Denaturierung: Aufspaltung der Doppelstrang-DNA in zwei Einzelstränge bei 90°C

Umweltmikrobiologie 8 Altfragen

- Primerhybridisierung: Freie Primer docken bei 60°C an die Einzelstränge an
- Amplifikation: Die Polimerase lagert bei 70°C am Ende der Primer die passenden Nukleotidbausteine an
- Nun hat man zwei Doppelstränge und die PCR beginnt von vorne.

? Frage 32

Arten der biologischen Abbaubarkeit

Abbau ist ein Prozess, bei dem organische Chemikalien, durch Lebewesen oder Enzyme zersetzt werden.

- Biologisch leicht Abbaubar
 - Enzymsystem vorhanden
 - Hoher Energiegewinn und Benefit für Baustoffwechsel
 - ▶ Geringer Aufwand für Nutzung
- · Biologisch schwer Abbaubar
 - ▶ zB. wegen geringer Konzentration, nur geringe Energieausbeute möglich.
 - Etablierung eines zielgerichteten Enzymsystems nicht möglich oder energetisch aufwendig.
 - · Abbau durch Co-Metabolismus (für Zellen nutzloser Abbau der zufällig passiert).
- persistente Stoffe
 - Inert, werden biologisch nicht abgebaut
 - Primärangriff oft chemisch/physikalisch

? Frage 33

Aufbau Belebtschlammflocke

Zusammenschluss aus:

- MO (Bakterien, Protozoen)
- "tote Partikel" (Detritus, anorganische Stoffe)
- Enzyme (organische Stoffe, die biochemische Reaktionen ermöglichen)
- Extrazelluläre Polymere Substanzen (EPS)

? Frage 34

Wodurch unterscheidet sich eine kontinuierliche Fermentation grundlegend vom Konzept des Belebungsverfahrens in der Abwasserreinigung? Führen Sie die Auswirkungen des Unterschieds kurz aus

Kontinuierliche Fermentation: Ein vollständig durchmischtes Becken, dem kontinuierlich Abwasser (Nährlösung) zufließt. Dort wachsen MO die das zugeführte Substrat verbrauchen und das System wieder verlassen. Gleichgewichtszustand, d.h. Konzentration im Ablauf bleibt gleich. Ist qR (Wachstumsrate der MO) größer als μ_{max} dann werden MO ausgewaschen. Bei $0 < qR < \mu_{max}$ ist das System selbstregulierend.

Belebungsbecken: Beim Belebungsbecken wird qR und μ_{max} entkoppelt, damit das Volumen des Beckens und die erforderliche Verweilzeit klein gehalten werden. Dies geschieht durch eine Rückführung der MO aus dem Ablauf einer kont. Fermentation in den belüfteten Reaktor. In der Praxis erfolgt das durch Abtrennung der Biomasse im Nachklärbecken oder auch Membranfiltration.

? Frage 35

Was sind die Unterschiede zwischen einem GAK-Filter (granulierter Aktivkohle) und einem BAK-Filter (biologisch aktivierte Aktivkohle). Diskutieren Sie kurz die Bedeutung der Unterschiede.

Aktivkohle kann in granulierter Form, in Pellets, in Körnern, etc. vorkommen. Aktivkohle wird bei der Abwasserreinigung und Trinkwasseraufbereitung verwendet.

Aktivkohle zur Adsorption von organischer Stoffen (Organische Stoffe werden an der Oberfläche der Aktivkohle angelagert)

GAK Granuläre Aktivkohle , Nur adsorptive Prozesse

BAK biologisch aktivierte Aktivkohle, Adsorptive und biologische Prozesse

? Frage 36

Biologische Nitratreduktion in Trinkwasseraufbereitung

MISSING

? Frage 37

Beschreiben Sie kurz mittels Skizze das "Schwanenhalsexperiment" von Pasteur. Was wurde damit widerlegt?

Pasteur goss eine nicht sterile Flüssigkeit in einen Kolben und dessen hals in einer Flamme zu einem Schwanenhals aus. Die Flüssigkeit wurde durch starkes Erhitzen sterilisiert und die Luft aus dem offenen Ende gequetscht. In der Biegung des Halses waren Staub und Mikroorganismen gefangen. Während die Flüssigkeit abkühlte, konnte kein Wachstum von Mikroorganismen festgestellt werden. Erst als der Kolben gekippt wurde, so dass die Flüssigkeit mit den Mikroorganismen und dem Staub in Kontakt kam, konnte nach kurzer Zeit Wachstum in der Flüssigkeit festgestellt werden. Er widerlegte damit die Urzeugertheorie.

? Frage 38

Bedeutungen von Mikroorganismen für Umwelt

- dominante Lebensform auf Planeten
- Evolution des Lebens vorallem mikrobiell
- überall besiedelt, auch extrem Habitate
- essentiell für Gesundheit (Darmbiom)
- biologische Abbauprozesse
- Pathogenität

? Frage 39

4 Phasen des Wachstums von Mikroorganismen

Siehe Abschnitt 6.2

UMWELTMIKROBIOLOGIE 8 ALTFRAGEN

? Frage 40

Charakteristika des mikrobiellen Lebens

- Metabolismus
- Wachstum/Replikation
- Evolution
- Kommunikation
- Mobilität
- Differenzierung
- genetischer Austausch

? Frage 41

Anwendungsgebiete der Umweltmikrobiologie (mind. 3)

- Medizin (Insulin, Antibiotika)
- Lebensmittel (Fermentation, Gährung, Pilze)
- Industrie (Biokraftstoffe, Abwasserreinigung)

? Frage 42

Arbeitsordnung mit biologischen Stoffen

? Frage 43

Nennen sie drei gebräuchliche Mikroskopieverfahren und beschreiben sie diese

? Frage 44

RGT-Regel

? Frage 45

Ökologische Nische

? Frage 46

Annahmen für die Erstellung eines phylogenetischen Stammbaums

? Frage 47

Synergismus

? Frage 48

Water borne/based/vektor based erklären

? Frage 49

Definition Intoxikation

? Frage 50

Definition Infektion

? Frage 51

Was bedeutet Zoonose? (max. 3 Sätze)

? Frage 52

Wie brechen Krankheiten beim Menschen aus?

? Frage 53

Geben Sie die 3 Möglichkeiten an, wie die Entstehung von Krankheitserregern bzw. Pathogenität beim Menschen erklärt werden kann (max. 2 Sätze pro Möglichkeit)

? Frage 54

Für Wasser assoziierte Krankheiten

? Frage 55

Wofür werden Screening-Tests und Kläranlagen-Simulationstests eingesetzt. Einsatzbereich und Unterschiede

? Frage 56

Kurzgeschlossener und gebrochener Nährstoffkreislauf

? Frage 57

Biologischer Kohlenstoff-, Stickstoff-, Phosphor- und Schwefel-Kreislauf Wie stellt man das "moderne" Bild des mikrobiellen N-Kreislaufs von Ammonium bis hin zum molekularen Stickstoff (N2) dar? Skizzieren und beschreiben sie die einzelnen Schritte

? Frage 58

Definition: Dessimilation & Assimilation

UMWELTMIKROBIOLOGIE 8 ALTFRAGEN

? Frage 59

Erklären Sie kurz die Begriffe Katabolismus und Anabolismus und geben Sie jeweils Beispiele.

? Frage 60

Was sind die wichtigsten C-Senken/Reservoirs?

? Frage 61

Erklären von abiotisch/biotisch + Beispiel

? Frage 62

Skizzieren sie die Grundlegende Überlegung hinter der Monod Kinetik und diskutieren sie kurz diese Grafik

? Frage 63

CSB von CH_3COOH bestimmen

? Frage 64

Definition Anammox, Deammonifikation

? Frage 65

Bedeutung von Phosphor für die Zelle

? Frage 66

Beschreiben Sie den "Microbial-Loop" am Bsp. Eines kippenden Sees

? Frage 67

Rechenbsp Wachstum & Verdopplung

? Frage 68

Rechenbsp limitierender Faktor