



## Doctoral Thesis

# Zur Biologie des caldoaktiven asporogenen *Thermus aquaticus*

**Author(s):**

Cometta, Silvano

**Publication Date:**

1982

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000284554> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Zur Biologie des caldoaktiven  
asporogenen Thermus aquaticus

ABHANDLUNG

Zur Erlangung des Titels eines  
Doktors der Naturwissenschaften  
der  
EIDGENOESSISCHEN TECHNISCHEN  
HOCHSCHULE ZUERICH

vorgelegt von  
SILVANO COMETTA  
Dipl. Natw. ETH  
geboren am 9. Oktober 1954  
von Arogno (TI)

Angenommen auf Antrag von  
Prof. Dr. A. Fiechter, Referent  
Prof. Dr. H. Zuber, Korreferent

## ZUSAMMENFASSUNG

=====

Die erfolgreiche Mediumsoptimierung fuer Bacillus caldotenax (KUHN, 1979a) und die darauf erfolgten kinetischen Studien gaben einen tieferen Einblick in die Wachstumskinetik eines thermophilen Sporenbildners. Dieses Bakterium weist jedoch keine fuer thermophile Mikroorganismen extrem hohe optimale und maximale Wachstumstemperaturen auf.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein asporogenes gelbes Bakterium der Gattung Thermus gewaehlt, welches bei hoeheren Temperaturen waechst. Nach einer Mediumsoptimierung fuer Thermus aquaticus, wobei die Pigmentierung jedoch verlorenging, wurde das Wachstumsverhalten in verschiedenen Bioreaktoren und Medien untersucht. Thermus aquaticus zeigte keine Auxotrophie. Es zeigte sich, dass die in der Literatur beschriebenen, in Kolben erreichten maximalen spezifischen Wachstumsraten (BROCK, 1981) bei kontinuierlicher Zuechtung um den Faktor zehn uebertroffen werden konnten ( $\mu_{max} = 3.5 \text{ h}^{-1}$ ). Die Biomassenausbeute ist hingegen wegen extrem niedriger Substratverwertung im Chemostat um den Faktor 2-3 niedriger als in Schuettelkolbenzuechtungen ( $Y = 0.02 \text{ g Biomasse pro g eingesetztes komplexe Substrat bei kontinuierlicher Zuechtung}$ ). Der fuer thermophile Bakterien charakteristische hohe Erhaltungsstoffwechsel konnte bei Thermus aquaticus, zumindest fuer den Sauerstoffverbrauch bestaetigt werden ( $M_o = 16 \text{ mMol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ). Die von BROCK (1981) beschriebenen maximal vertraeglichen Substratkonzentrationen konnten in Kolben um den Faktor 15 gesteigert, und durch die entwickelte Stammerhaltungs- und Ueberimpftechnik konnte die Handhabung von Thermus aquaticus wesentlich erleichtert werden. Auffallend am untersuchten Stamm sind die

populationsdynamisch (moeglicherweise genetisch bedingte) Instabilitaet, der Pigmentverlust, das Austerben bei niedrigen Temperaturen und die unterschiedliche Wachstumseffizienz in Abhaengigkeit von Medium und Reaktortyp.

Um solche bei thermophilen Sporenbildner nur teilweise bekannten Erscheinungen zu ergruenden, wurden in natuerlichen Heisquellengewaesser auf Island aerobe thermophile Bakterien isoliert, taxonomisch bestimmt und untereinander verglichen. Es zeigte sich, dass im selben Biotop eine extrem hohe Variabilitaet an verwandten Mikroorganismen bezueglich ihren biochemischen und morphologischen Merkmalen vorkommt. Diese Vielfalt an Mikroorganismen koennte eine Erklaerung fuer die Veraenderungen des kultivierten Sammlungsstammes sein. Die Eigenart eines natuerlichen thermophilen Standortes koennte hingegen die Erklaerung fuer Wachstumsinsuffizienz in Bioreaktoren geben. Da Bakterien der Gattung Thermus zwar bei hohen Temperaturen wachsen (und somit geeignete Testsysteme zur Abklaerung der thermophilen Grundprobleme sind), aber nur geringen Mengen an thermostabilen Exoenzyme produzieren, werden sie wahrscheinlich (falls nicht genetisch manipuliert) keine interessante industrielle Applikation finden.

## SUMMARY

=====

The successful medium optimization for Bacillus caldotenax (KUHN, 1979a) and the following kinetic studies gave a deeper insight into the growth kinetic of a sporeforming thermophile. This bacterium, compared to other thermophiles, does not show extremely high values for optimal and maximal growth temperatures.

For this work a yellow pigmented non sporulating bacterium of the genus Thermus which grows at higher temperatures was chosen. After a medium optimization for Thermus aquaticus, in which the pigment was lost, the growth behaviour was investigated in different bioreactors with different media. Thermus aquaticus did not show any auxotrophy. It was shown that the value described in the literature (BROCK, 1981) for maximal specific growth rate obtained in flasks could be exceeded by a factor of ten in continuous cultivation ( $\mu_{\max} = 3.5 \text{ h}^{-1}$ ). On the other hand the yield of biomass due to extremely low substrate utilization in the chemostat is lower by a factor of 2-3 from yields in shake flasks ( $Y = 0.02 \text{ g biomass per g supplied complex substrate in continuous cultivation}$ ). The characteristicly high maintenance of thermophilic bacteria could be confirmed at least for oxygen uptake ( $M_o = 16 \text{ mMol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) in Thermus aquaticus. The maximal tolerated substrate concentration described by BROCK (1981) could be raised by a factor of 15 and with the techniques developed for plating and for long term storage of the strain, the handling of Thermus aquaticus was substantially facilitated. Some striking effects of the studied strain are the possibly genetically determined population instability,

the pigment loss, death at low temperatures and the different growth efficiencies depending on medium and on type of reactor.

To elucidate such observations which are only in part known in thermophilic sporeformers, aerobic thermophilic bacteria have been isolated in naturally occurring hot spring waters in Iceland and taxonomically compared. It was shown that in such an ecosystem an extremely high variability of related microorganisms is found, when compared by means of biochemical and morphological characters. This variety of microorganisms could be an explanation for the changes seen in the cultivated collection strain. The peculiarity of the natural thermophilic environment could also be an explanation for growth inefficiency in bioreactors. Since bacteria of the genus Thermus grow at very high temperatures (representing a suitable test system to clarify the basic thermophilic problems) but produce only small amounts of thermostable exoenzymes, they will probably not have interesting industrial applications if not genetically manipulated.