



Doctoral Thesis

Untersuchungen über den Einfluss äusserer Faktoren auf die Ascosporenbildung von *Saccharomyces cerevisiae*

Author(s):

Jäggi, Werner

Publication Date:

1971

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000093411> →

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](#).

Diss. Nr. 4714

Untersuchungen über den Einfluss äusserer Faktoren auf die Ascosporenbildung von *Saccharomyces cerevisiae*

ABHANDLUNG

zur Erlangung
der Würde eines Doktors der Technischen Wissenschaften
der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von

WERNER JÄGGI
dipl. Ing.-Agr. ETH
geboren am 25. April 1935
von Murgenthal (Kt. Aargau)

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. L. Ettliger, Referent
Prof. Dr. Ph. Matile, Korreferent

Juris Druck + Verlag Zürich
1971

ZUSAMMENFASSUNG

Für 2 Stämme von *Saccharomyces cerevisiae* wurden optimale Sporulationsbedingungen in flüssigem Natriumacetat-KCl-Medium ausgearbeitet. Untersuchungen über die Abhängigkeit der Sporulation von einzelnen Faktoren ergaben nicht engbegrenzte Optimalbedingungen, sondern z.T. weite Optimalbereiche. Für die weiteren Untersuchungen wurden daher willkürlich definierte Standardbedingungen festgelegt. Es liessen sich so mit Stamm LBG H 1259 gleiche und mit Stamm LBG H 1303 doppelt so hohe Sporulationsraten wie auf festem Sporulationsmedium erreichen.

Die Bedeutung einzelner Faktoren für die Sporenbildung in Acetatmedien wurde bei Stamm LBG H 1259 mit folgenden Ergebnissen untersucht:

1. Es muss grundsätzlich zwischen exotropher und endotropher Sporulation unterschieden werden. Endotrophe Sporulation in entsalztem Wasser kam nur bei sehr niedriger Zellkonzentration vor (höchster Sporenteil von 73% bei $2 \cdot 10^4$ Zellen/ml), was das Experimentieren erschwerte. Deshalb wurde diese Art der Sporenbildung nicht weiter untersucht. Im folgenden ist unter "Sporulation" hier stets exotrophe Sporulation zu verstehen.
2. In Acetatmedien fand ohne Acetatabbau und Trockensubstanzsynthese keine Sporulation statt. Acetat ist deshalb als Substrat wirksam. Weitere wichtige Faktoren sind Kationen, pH, Zellkonzentration und Belüftung.
3. Vergleichende Versuche mit Kalium-, Natrium-, Ammonium-, Magnesium- und Calciumacetat zeigten, dass die betreffenden Kationen den Acetatabbau, die Acetatverwertung (Oxydation und Trockensubstanzsynthese) und die Sporulation beeinflussen. Bei höheren Konzentrationen als 12,5 mM hemmte Mg^{++} den Acetatabbau und damit auch die Trockensubstanzsynthese und die Sporulation. In Gegenwart von NH_4^+ wurde zwar Acetat abgebaut, aber Trockensubstanzsynthese und Sporulation blieben aus. Bei steigender Natriumacetatkonzentration von 30 - 100 mM nahmen Acetatabbau und Trockensubstanzsynthese zu, der Sporenteil sank jedoch von 60% auf null. In 50 - 250 mM Kaliumacetatlösung stellte sich die höchste Sporulation ein (80 - 90%). In Calciumacetatlösung war der Acetatabbau

etwa doppelt und die Trockensubstanzzunahme beinahe 10mal so hoch wie bei Kaliumacetat, aber die Sporulation nur gering. Durch Kombination verschiedener Kationen mit Kaliumacetat liess sich die Sporulation nicht weiter steigern. Reine Kaliumacetatlösung stellt somit das geeignetste Sporulationsmedium dar.

4. In ungepufferten und gepufferten Acetatmedien stellte sich bei Sporulation unabhängig vom Anfangs-pH immer ein End-pH von ungefähr 9 ein. Der pH-Anstieg während der Sporulation scheint mit dem Acetatabbau in Zusammenhang zu stehen. Die Zusammensetzung der Puffersysteme beeinflusste Acetatabbau, Trockensubstanzsynthese und Sporulation. Mit automatischer pH-Steuerung erwies sich ein konstantes pH zwischen 7,5 und 8,1 für die Sporenbildung als optimal. Im sauren Bereich scheint die Sporulation durch Ausbleiben des Acetatabbaus unterhalb pH 5,3 begrenzt zu sein. Im basischen Bereich nahmen Acetatabbau, Trockensubstanzsynthese und Sporulation von pH 8,1 - 9,5 allmählich ab. Das pH-Optimum für Acetatabbau und Trockensubstanzsynthese lag um 1 - 1,5 pH-Einheiten tiefer als das pH-Optimum für Sporulation.
5. Der Einfluss der Zellkonzentration ist schwer zu deuten. Es wird vermutet, dass bei hohen Zellkonzentrationen ein zu starkes und bei niedrigen Zellkonzentrationen ein zu schwaches Ansteigen des pH für die verminderte Sporulation verantwortlich ist.

Zur Frage, warum von allen Kohlenstoffverbindungen gerade Acetat die Sporenbildung besonders fördert, wurde das Verhalten von Hefezellen in Aethanol- und Dihydroxyacetonmedien mit dem Verhalten in Acetatmedien verglichen:

1. Aethanol und Dihydroxyaceton konnten Acetat als Substrat für die Trockensubstanzsynthese ersetzen, eigneten sich aber weniger gut für die Sporenbildung. Zwar liess sich eine ebenso hohe Sporulation wie mit Acetat erreichen, doch waren die Anteile an 4sporigen Asci nur gering.
2. Wie bei Acetat förderte K^+ die Sporenbildung auch bei Aethanol und Dihydroxyaceton. Ebenfalls wie bei Acetat bewirkten andere Mineralien neben K^+ keine weitere Zunahme der Sporulation. In Aethanolmedien war die Sporulation ohne K^+ nur gering. In Dihydroxyacetonmedien veränderte

sich der Sporenanteil in Gegenwart von K^+ nicht, doch wurden mehr 4sporige Asci gebildet.

3. Bei Zugabe von Lysin zu Dihydroxyaceton verdoppelte sich der Sporenanteil. Dabei scheint die Beeinflussung des pH durch Lysin eine Rolle zu spielen.
4. Wie bei Acetat wurde auch bei Aethanol und Dihydroxyaceton die Sporenbildung durch ein basisches pH begünstigt.
5. In Aethanolmedien fand neben Sporulation auch vegetative Zellvermehrung statt. Mit steigendem pH nahm die vegetative Zellvermehrung ab und der Sporenanteil zu.
6. Im Unterschied zu Acetatmedien, wo das pH während der Inkubation stieg, sank es in Aethanol- und Dihydroxyacetonmedien. Dies zeigt, dass beim Abbau der verschiedenen Substrate unterschiedliche Abbauprodukte ausgeschieden wurden.
7. Analog zu den Ergebnissen mit Acetat wurde mit Aethanol und Dihydroxyaceton ohne Substratabbau und Trockensubstanzsynthese keine Sporulation festgestellt. Diese Prozesse waren jedoch nicht in jedem Fall mit Sporenbildung verbunden, sondern die Faktoren K^+ , Lysin und pH bestimmten das Ausmass der Sporenbildung.