

**BEITRÄGE ZUR PHYSIOLOGIE DER
ESSIGSÄURE-BAKTERIEN**

Abhandlung
zur Erlangung des Titels eines Doktors
der Naturwissenschaften
der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZÜRICH

vorgelegt von
BRIGITTE BAECHI
Dipl. Natw. ETH
geboren am 4. April 1947
von Zürich (Kt. Zürich)

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. L. Ettliger, Referent
Prof. Dr. Th. Leisinger, Korreferent

4. ZUSAMMENFASSUNG

4.1. Cytochromdifferenzspektren bei Essigsäurebakterien

In dieser Arbeit wurden die Cytochromdifferenzspektren von 25 Stämmen von Essigsäurebakterien aufgenommen.

Stämme der Gattung Gluconobacter unterschieden sich von solchen der Gattung Acetobacter durch das Fehlen von Cytochrom a_1 .

In der Gattung Acetobacter liess sich die Gruppe Peroxydans durch den Besitz von Cytochrom d von den Gruppen Mesoxydans und Oxydans abtrennen. Eine Ausnahme war Ab. xylinus LBG B 4113 mit dem Besitz eines Cytochroms, das bei 624 nm absorbierte. Zwei nicht mehr überoxidierende Stämme von Ab. xylinus besaßen kein Cytochrom a_1 mehr und hatten gleiche Cytochromdifferenzspektren wie Gluconobacter.

Ab. aceti zeigte in komplexem Medium bei hohen Proteinkonzentrationen eine diffuse Bande von 590-620 nm, die nicht indentifiziert werden konnte.

4.2. Aethanol und Lactat als Energie- und Kohlenstoffquelle von Acetobacter xylinus

LEISINGER (1965) zeigte, dass Wachstum von Ab. xylinus LBG B 4095 auf Aethanol nur in Gegenwart von Hefeextrakt möglich ist. ETTLINGER (1971) wies nach, dass die wachstumsfördernde Wirkung des Hefeextraktes durch eine C-3 Verbindung, Alanin oder Lactat, ersetzt werden kann. In dieser Arbeit wurde die Funktion von Lactat und Aethanol als Kohlenstoff- und Energiequelle dieses Stammes untersucht.

Ab. xylinus ist fähig, in saurem Mineralsalzmedium auf Lactat als einzige Kohlenstoff- und Energiequelle zu wachsen, solange das pH nicht über 6 steigt. Obwohl ruhende Zellen nicht nur Lactat, sondern auch Aethanol vollständig zu CO_2 und H_2O veratmen, kann der verwendete Stamm nicht auf Aethanol als einzige Kohlenstoff- und Energiequelle wachsen (und wahrscheinlich alle Stämme dieser Spezies), da ihm die Enzyme des Glycoxylsäurecyclus fehlen. Neben einer verwertbaren Kohlenstoffquelle wie Lactat kann aber auch Aethanolkohlenstoff in die Zellen eingebaut werden. Aethanol erhöht die Wachstumsgeschwindigkeit und Ausbeute auf Lactat. Dies hängt vermutlich mit einer schnelleren Aufnahme von Lactat sowie einer höheren Einbauquote von Lactat-Kohlenstoff in Gegenwart von Aethanol als zweiter Kohlenstoffquelle zusammen. Da Aethanol nur teilweise durch Acetat ersetzt werden kann, dürfte es auch als zweite Energiequelle eine Rolle spielen.

4.3. Einfluss der Glucose auf Adenylatpool und Energieladung von Acetobacter aceti

Eine Untersuchung des Einflusses von Glucose auf Energieladung und Adenylatpool von Ab. aceti und einer glucosesensitiven Mutante, deren Wachstum durch Glucose gehemmt wird, ergab folgendes:

1. Wildtyp wie glucosesensitive Mutante zeigten nach Erschöpfung der Kohlenstoffquelle im Medium einen raschen, vollständigen Abbau des intracellulären ATP.
2. Beide Stämme waren fähig Glucose aufzunehmen und einzubauen.
3. Glucose allein sowie Glucose in Anwesenheit von Acetat konnten die Energieladung der Zellen nicht auf den im Aethanolmedium beobachteten hohen Wert halten.
4. Im Gegensatz zum Wildtyp erniedrigte Glucose in der Mutante in Abwesenheit von Aethanol den totalen Adenylatpool.

5. Nach der Glucosezugabe zur glucosesensitiven Mutante liessen sich während der Hemmung drei Phasen unterscheiden:
 - Unmittelbar nach der Glucosezugabe erfolgte eine vorübergehende Adenylatpoolerniedrigung, ohne Aenderung der Energieladung.
 - In der zweiten Phase stieg der Adenylatpool wieder auf die der Zelldichte entsprechende Konzentration an. Diese Phase dauerte an, solange Aethanol im Medium vorhanden war.
 - In der dritten Phase trat eine dauernde Adenylatpoolerniedrigung, sowie eine Erniedrigung der Energieladung ein.
6. Während den ersten beiden Phasen der Hemmung wurde kein c-AMP ins Medium ausgeschieden. Der intracelluläre c-AMP Spiegel veränderte sich parallel zur gesamten Adenylatkonzentration.

4.4. Summary

CONTRIBUTIONS TO THE PHYSIOLOGY OF ACETIC ACID BACTERIA

1. Cytochrome difference spectra of acetic acid bacteria

The cytochrome difference spectra of 18 strains of the genus Acetobacter were found to be significantly different from those of 7 strains of the genus Gluconobacter. The Acetobacter strains contained cytochrome a_1 which was lacking in the Gluconobacter strains.

Within the genus Acetobacter, the Peroxydans group of Frateur could be separated through their cytochrome d content from the Oxydans and Mesoxydans group.

2. Ethanol and lactic acid as energy and carbon sources of Acetobacter xylinus

Ethanol and lactic acid were oxidized to completion by resting cells of Acetobacter xylinus. The organism was able to grow on lactic acid as sole carbon source as long as the pH of the medium stayed below 6. Ethanol alone could not support growth, because the enzymes of the glyoxylic acid cycle are missing. Addition of ethanol to lactic acid stimulated growth rate and yield. The growth rate stimulation was due to an increased lactic acid uptake in presence of ethanol. The higher yield on ethanol-lactic acid medium was due to an increased incorporation of carbon from lactic acid and the additional incorporation of carbon from ethanol into cell material.

3. Influence of glucose on adenine nucleotide levels and energy charge in Acetobacter aceti

The influence of glucose on adenine nucleotide levels and energy charge in a growing culture of Acetobacter aceti and a glucose sensitive mutant, whose growth on ethanol is inhibited by glucose, was determined.

1. Both strains showed an abrupt fall of the intracellular ATP after substrate exhaustion.
2. Glucose alone could not maintain the energy charge in either strain at the high value observed during growth on ethanol.
3. Glucose lowered the total adenine nucleotide content in the mutant in the absence of ethanol.
4. During the inhibition of growth by glucose in the glucose sensitive mutant, three phases could be distinguished:
 - a) A first period with a transient decline in the total adenine nucleotide level and no change in the energy charge.
 - b) A recovery of the total adenine nucleotide level to its previous value. This second phase lasted as long as there was ethanol in the medium.
 - c) A third period after ethanol exhaustion characterized by a lower total adenine nucleotide level in the presence of glucose and a lower energy charge.