

Diss. Nr. 3991

Über Diauxie im Hefewachstum

ABHANDLUNG

zur Erlangung der Würde eines Doktors der Naturwissenschaften

der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von

LUKAS RUDOLF MÄDER

dipl. Naturwissenschaftler ETH
geboren am 17. November 1931
von Zürich

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

Juris Druck + Verlag, Zürich
1967

6. ZUSAMMENFASSUNG

Das Wachstumsverhalten der Hefe wurde nach verschiedenen Gesichtspunkten im Hinblick auf eine Erklärung der Diauxie untersucht.

Die kritische Gegenüberstellung zweier Methoden zur Gewinnung von Wachstumskurven hat gezeigt, dass die Zunahme der Zellenzahl nicht zu allen Zeiten proportional zur Zunahme der Zelltrockensubstanz verläuft. Obschon sich mit Hilfe der Trübungsmessung bei Wachstum auf Glucose eine Diauxie nachweisen liess, darf diese Methode unter den besonderen Umständen des Hefewachstums nur mit Vorbehalt angewandt werden.

Die Nährstoffansprüche der Hefe unter Berücksichtigung des Diauxie-Wachstums wurden untersucht. Eine durch die Mineralstoffkomponente des synthetischen Mediums nach Maxon und Johnson (1953) beobachtete Verminderung des Totalen Wachstums konnte durch ein verändertes Kalium - Ammoniumverhältnis und durch Elimination der Natriumionen überwunden werden. Für das Wachstum auf Aethanol wurde ein pH - Optimum von 4,5 ermittelt.

Veraschter Hefeextrakt und die Spurenelemente erfüllten in einem synthetischen Medium gleichwertige Funktionen. Die Versuche, aufgrund der Wirkungsweise einzelner Vitamine und Aminosäuren Einblick in den Stoffwechsel des Glucose- oder Aethanolabbaues zu erlangen, zeigten keine eindeutigen Ergebnisse. Im Laufe der Versuche wurde festgestellt, dass in Gegenwart von Alkohol oder Glucose von der Hefe Aminosäuren in beträchtlichem Umfange als zusätzliche Energiequellen genutzt werden. Ein maximales Wachstum mit Aethanol als einziger Kohlenstoffquelle erfordert ein komplexeres Medium, als dies für ein Wachstum auf Glucose notwendig ist.

Das Phänomen der Diauxie ist nicht nur bei ausschliesslicher Ernährung mit Glucose zu beobachten, sondern es tritt auch bei einer gemischten Glucose - Aethanol Ernährung auf. Unter diesen Umständen findet keine gleichzeitige Assimilation der beiden Kohlenstoffquellen statt. Wird der Anteil der Glucose im Medium sehr klein gehalten ($< 0,30$ g/l), so werden beide Energieträger gleichzeitig assimiliert, und es tritt keine Aethanolbildung mehr auf.

Die Umstellung auf ein rein aerobes Wachstum, wie dies die zweite Phase darstellt, erfordert einen Umbau des Enzymmusters und äussert sich im Wachstum durch eine ausgeprägte Lagphase.

Die Aktivität der Schlüsselenzyme des Glyoxylsäurecyclus wurde an Zellextrakten unter verschiedenen Bedingungen untersucht. Bei ruhenden Zellen war für

die Isocitratase und die Malatsynthetase eine Aktivität nachzuweisen. Durch Glucose wurde unmittelbar nur die Isocitratase gänzlich inaktiviert, wogegen für die Malatsynthetase die gleichen Werte wie bei ruhenden Zellen gemessen wurden. Beide Enzyme erreichten ihre maximale Aktivität in der Alkoholphase. Gegenüber ruhenden Zellen erfuhr die Isocitratase eine 2,8-fache Aktivitätssteigerung; die Malatsynthetase eine 2,4-fache. Durch Inkubation zellfreier Extrakte mit Phosphoenolbrenztraubensäure gelang es, eine maximale Hemmung der Isocitratase von 47 - 50 % zu erreichen. Alkoholernährung induziert die Enzyme des Glyoxylsäurecyclus; durch Glucose wird nur die Isocitratase reprimiert.

Die morphologischen Untersuchungen der Feinstruktur der Zellen erlaubten eine Differenzierung der einzelnen Wachstumsphasen. In der Glucosephase dominieren Zellen mit ausgesprochen grosslumigen Vakuolen. Die Möglichkeit eines Zusammenhanges mit der während dieser Phase stattfindenden Aethanolproduktion und den perforierten Vakuolen wurde diskutiert.

In den Zellen aller untersuchten Proben waren Mitochondrien zu erkennen, deren Anzahl, Grösse und Struktur mit der Atmungstätigkeit in Beziehung gebracht wurde. Die Zellen der Aethanolphase bilden einen speziellen Typ von Mitochondrien aus, der mit dem rein oxydativen Stoffwechsel dieser Phase erklärt wurde.