

Studien zur Biochemie der Leuchtbakterien

II. Der Einfluß von Zuckern mit NaCl auf das Leuchten

Von

FRANZ FUHRMANN

Aus dem Biochemischen Institut der Technischen Hochschule in Graz

(Mit 5 Textfiguren)

(Vorgelegt in der Sitzung am 28. April 1932)

Über den Einfluß von Kohlehydraten und einfachen Zuckern auf das Leuchten von Bakterien liegen wohl Mitteilungen über qualitative Versuche vor, während solche quantitativer Natur zu fehlen scheinen. Ohne im besonderen auf die bezügliche Literatur einzugehen, sei nur erwähnt, daß schon seit langer Zeit Leuchtbakterien bekannt sind, die bei ihrem Wachstum Monosaccharide unter Gasbildung vergären¹. Besonders BELJERINCK² und seine Mitarbeiter haben sich mit den Fragen der Wirkung von Zuckern auf die Lichtbildung durch verschiedene Leuchtbakterien befaßt und sie mit Hilfe der bekannten „Auxanogramme“ zu lösen versucht. Im wesentlichen ergaben sich dabei für die verschiedenen Leuchtbakterien Unterschiede in der Zuckerwirkung selbst und in der Möglichkeit der Vergärung von Mono- und Disacchariden. Auch wird ein Unterschied zwischen sogenannten „Lichtnährmitteln“ und „plastischen Nährstoffen“ aufgezeigt.

Im folgenden sollen Versuche mitgeteilt werden, die zwecks Feststellung der Wirkung verschiedener Konzentrationen der Monosaccharide *d-Glukose*, *d-Galaktose* und *d-Fruktose* und der Disaccharide *Saccharose*, *Maltose* und *Laktose* bei annähernd neutraler Reaktion der sonst gleich zusammengesetzten Nährlösung angestellt wurden.

Versuchstechnik.

Hinsichtlich der Versuchstechnik sei im wesentlichen auf

¹ K. B. LEHMANN, Studien über *Bacterium phosphorescens* Fischer, Zentralbl. f. Bakt., I. Abt., 5, 1889, S. 705.

² M. W. BELJERINCK, Sur l'aliment photogène et l'aliment plastique des bacteries lumineuses, Arch. Neerland. d. Scien. Ex. et natur., Haarlem, 24, 1891, S. 369.

die frühere Mitteilung³ hingewiesen. Ergänzend bemerke ich, daß die Belichtungen bei diesen Versuchsreihen länger gewählt wurden, um sich auch bei den schwächer leuchtenden Kulturen noch möglichst im geraden Ast der Schwärzungskurve zu bewegen. Dafür konnte man die Entwicklungszeit der Plattenstreifen auf durchwegs zwei Minuten herunterdrücken. Dadurch sind vorteilhafterweise Entwicklungsschleierbildungen vollkommen vermieden.

Als Bakterienmaterial dienten für die vorliegenden Versuche Kulturen einer Spielart des *Photobacillus radians*, die eine geringere Bewegungsfähigkeit und ein kürzeres Schwärmstadium aufweist, ihr NaCl-Optimum um 0·5 normal besitzt und beim Wachstum keine 7·2 übersteigenden p_{H} -Werte auftreten läßt. Auch zeigt sie eine sehr weitgehende *Microaerophilie*, denn sie leuchtet noch lange bei 0-Spannungen, unter denen das Licht von *Photobacillus radians* längst erloschen ist. Da sich ihre übrigen morphologischen und kulturellen Eigenschaften mit jenen der erstbeschriebenen Art decken, sei sie *Photobacillus radians a* benannt.

Von den angewendeten Zuckern wurden zweifach molare Lösungen benutzt, die für jede Versuchsreihe frisch bereitete wurden. Die „Stammbouillon“ hatte stets die gleiche Zusammensetzung, so daß in den einzelnen Kulturen nur der Zuckergehalt verschieden war. Alle Proben wurden bei 18° C gehalten, welche Temperatur sich im optimalen Bereich befindet.

Monosaccharid-Versuche.

Für diese Versuchsreihen wurden die Aldosen *d*-Glukose und *d*-Galaktose und die Ketose *d*-Fruktose verwendet. Um Umlagerungen des Traubenzuckers bzw. der Lävulose nach LOBRY DE BRUYN und VAN ECKENSTEIN⁴ nach Möglichkeit zu vermeiden, mußte die freie OH-Ionenzahl möglichst niedrig gehalten, mit anderen Worten im oder nahe am Neutralpunkt gearbeitet werden. Daher bewegen sich die p_{H} -Werte bei diesen Versuchen zwischen 7 und 7·1. Bei den Glukoseversuchen durfte nicht vergessen werden, den Anteil des dissoziierten Traubenzuckers an

³ F. FUHRMANN, Monatsh. Chem. 60, 1932, S. 69, bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien (IIb) 141, 1932, S. 69.

⁴ LOBRY DE BRUYN und ECKENSTEIN VAN ALB., Rec. trav. chim. 14, 1897, S. 213.

der Menge der freien H-Ionen zu berücksichtigen, der allerdings nur gering ist. Um Veränderungen der verwendeten Monosen weitestgehend zu verhindern, wurden die Zeiten für die fraktionierte Sterilisation im strömenden Dampf nach dem Zusatz der Zucker auf nur 8' heruntergedrückt, was besonders für die später zu erörternden Disaccharidreihen wichtig war.

Tabelle 1.
0.25 *n*-NaCl-Hexosen-Versuchsreihe.

Nr. d. Kultur	Zuckerart	Zucker- gehalt		Anfangs- p_{H}	p_{H} nach Stunden			Leuchtgrade nach Stunden				
		molar	%		18	36	60	18	24	36	48	60
1	—	—	—	7.0	7.0	7.0	7.0	5.8	9.3	10.2	10.4	10.3
2	<i>d</i> -Glukose	0.005	0.09	7.0	6.7	6.1	5.9	6.2	9.9	7.8	6.8	5.3
3		0.025	0.45	7.0	6.7	6.1	5.7	3.4	6.5	3.2	2.1	2.0
4		0.050	0.90	7.0	6.8	6.1	5.7	3.6	6.5	3.7	3.4	2.1
5		0.075	1.35	7.0	6.8	6.2	5.8	3.6	7.3	6.5	5.8	4.8
6		0.100	1.80	7.0	6.9	6.2	5.8	2.6	6.3	5.4	4.9	3.1
7		<i>d</i> -Fruktose	0.005	0.09	7.0	6.6	6.3	5.8	nicht meßbar	7.5	9.5	9.9
8	0.025		0.45	7.0	6.5	6.4	5.8	5.6		6.6	7.2	7.5
9	0.050		0.90	7.0	6.5	6.5	5.7	2.5		4.2	5.2	6.3
10	0.075		1.35	7.0	6.5	6.5	5.7	0.8		2.6	2.2	3.4
11	0.100		1.80	7.0	6.5	6.5	5.7	0.1		0.2	0.2	0.3
12	<i>d</i> -Galaktose	0.005	0.09	7.0	7.0	6.9	6.9	nicht meßbar	10.1	10.3	10.3	10.4
13		0.025	0.45	7.0	7.0	6.9	6.6		3.2	4.3	4.3	4.6
14		0.050	0.90	7.0	7.0	6.5	6.2		2.4	0.2	0.1	—
15		0.075	1.35	7.0	6.9	6.3	6.3		0.4	0.1	—	—
16		0.100	1.80	7.0	6.9	6.3	6.2		—	—	—	—

Um einigermaßen die Salzwirkung in ihrer Beziehung zum Zuckereinfluß auf das Leuchten zu erfassen, wurden Versuchsreihen mit 0.25 und 0.5 mol. NaCl nebeneinandergestellt, wobei die letztere Konzentration den optimalen Salzbedingungen am nächsten kommt.

In der Tabelle 1 sind nun die Versuchsergebnisse mit den drei genannten Hexosen zusammengestellt. Daraus ist ersicht-

lich, daß im allgemeinen die versuchten Zuckergaben selbst in kleinsten Dosen (Kultur Nr. 2, 7 und 12) die Lichtentwicklung *nicht* wesentlich fördern. Den Leuchthöchstwert zeigen nur die zuckerfreie Kontrollkultur (Nr. 1) und die Galaktosekultur (Nr. 12). Bei den höheren Zuckerkonzentrationen treten allerdings tiefgehende Verschiedenheiten in der Zuckerwirkung selbst auf, welche sich in allen Fällen in einer Verminderung der Lichtbildung ausdrücken.

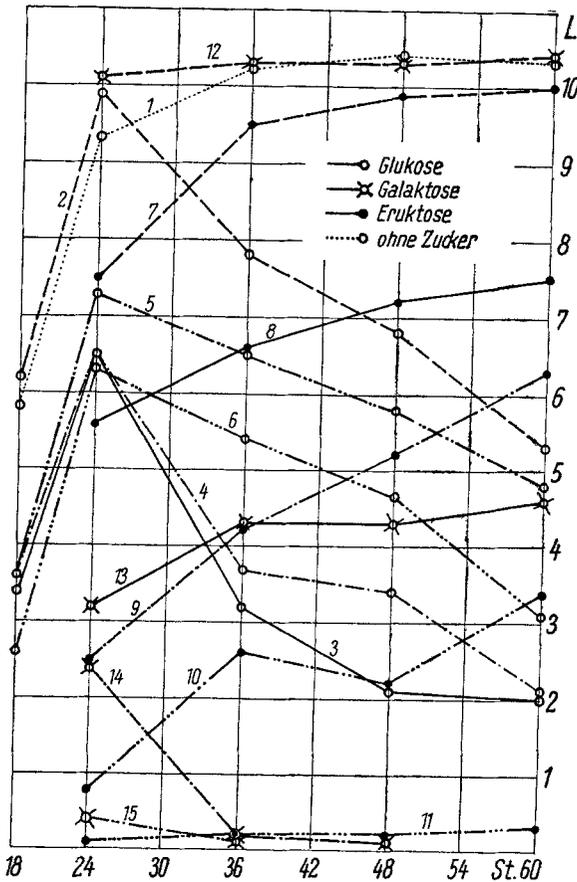


Fig. 1.

Aus der graphischen Darstellung der Figur 1 gehen diese Erscheinungen besonders deutlich hervor. In derselben trägt die Ordinate die Leuchtgrade nach Tabelle 1, während die Abszisse die Marken der zugeordneten Wachstumszeiten enthält.

Die punktierte Linie entspricht der zuckerfreien Kontrollkultur. Sie zeigt das Leuchtmaximum nach einem Wachstum von 48 Stunden und die Tendenz, in den ersten Zeiten steil anzusteigen und später sich sanft erhebend und senkend zu verlaufen.

Im besonderen ist für die *Glukosewirkung* die Erscheinung *typisch*, daß bei allen versuchten Konzentrationen das Leuchtmaximum innerhalb von 24 Stunden erreicht wird. Von diesem Zeitpunkt ab fällt die Leuchtstärke rasch und ausgiebig (Schaulinien 2—6 der Fig. 1). Das Leuchtmaximum deckt sich mit der *kleinsten* Glukosezugabe. Die verschiedenen Konzentrationen der *Galaktose* wirken sich anders und sehr eindeutig aus. Ein sehr kleiner Zusatz dieses Zuckers von nur 0·005 molar (12 der Fig. 1) hemmt allerdings in den ersten Stunden das Leuchten, welches aber trotzdem nach 24 Stunden sogar stärker auftritt als in der Kontrollkultur ohne Zucker (1 der Fig. 1). Bei der nächsthöheren Galaktosekonzentration von 0·025 molar erscheint die Lichtproduktion im ganzen vermindert und steigt nur allmählich in den weiteren Wachstumszeiten etwas an, ohne aber die Stärke jener der Kultur 12 auch nur annähernd zu erreichen. Die noch höhere Konzentration (14) bewirkt nach 24 Stunden ein tiefes Maximum und von da weg einen steilen Abfall, während 15 überhaupt nur sehr geringes Leuchten aufweist. *Über 0·075 molare Galaktosemengen hemmen die Leuchtfunktion vollends.*

Die *Fruktose* steht in ihrer Wirkung etwa zwischen jener der Glukose und Galaktose, wenn sie sich auch mehr auf die Seite der Galaktose neigt. Stets werden die Leuchtmaxima zeitlich hinausgerückt. Unverkennbar ist die Bremswirkung in den ersten 18 Stunden der Züchtung, dann, wenigstens bei kleineren Gaben, eine starke Förderung, auf die ein langsamer, aber ziemlich stetiger Anstieg des Leuchtens erfolgt.

Beobachtet man die zeitlichen Änderungen der *Reaktion* des Nährsubstrates in diesen Versuchsreihen, findet man bei den Kulturen mit Glukose und Fruktose in der *Säurebildung* eine gewisse *Ähnlichkeit*. Jedenfalls werden diese beiden Hexosen stärker angegriffen als Galaktose, ohne daß man einen tiefgehenden Abbau derselben nachweisen kann. Die erhaltenen p_{H} -Werte deuten darauf hin, daß bis zu jenen von 5·7 die Säurewirkung den Leuchtprozeß nur wenig zu beeinflussen scheint, vielmehr eine *kombinierte Säure-Zucker-Wirkung* vorliegt, sowohl hin-

sichtlich der Konzentration dieser Saccharide als auch ihrer Eigenart. Es drückt sich dies besonders bei *Galaktoseversuchen* aus, die klar aufzeigen, daß selbst bei großen Dosen ein mit geringer Säurebildung verbundenes Wachstum *ohne* Leuchten auftritt, eine

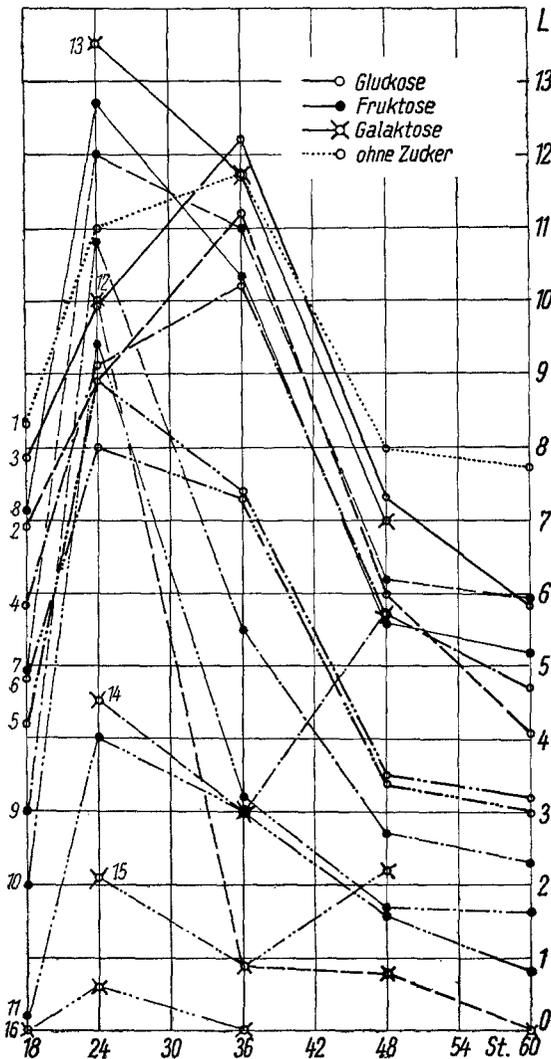


Fig. 2.

gute Lichterzeugung jedoch nur bei sehr geringen Galaktosemengen in der Kultur zu erhalten ist.

Stellt man den Ergebnissen dieser Versuchsreihen solche gegenüber, die aus Versuchen mit annähernd *optimalem NaCl*-

Gehalt hervorgehen, bemerkt man auffallende Unterschiede, die sich auch schon bei den zuckerfreien Kontrollproben zeigen. Tabelle 2 enthält die bezüglichen Daten der Hexosenversuchsreihe mit einem 0.5 mol. NaCl-Gehalt, während die Figur 2 die graphische Darstellung dieser Versuchsergebnisse aufzeigt.

Tabelle 2.
0.5 *n*-NaCl-Hexosen-Versuchsreihe.

Nr. d. Kultur	Zuckerart	Zucker- gehalt		Anfangs- p_H	p_H nach Stunden			Leuchtgrade nach Stunden				
		molar	%		18	36	60	18	24	36	48	60
1	—	—	—	7.1	7.1	7.1	7.1	8.3	11.0	11.7	8.0	7.7
2	<i>d</i> -Glukose	0.005	0.09	7.1	7.1	6.2	6.1	6.9	8.9	11.2	6.0	4.1
3		0.025	0.45	7.1	7.1	6.3	5.9	7.8	9.9	12.2	7.3	5.8
4		0.050	0.90	7.1	7.1	6.3	5.7	5.8	9.1	10.2	5.7	4.7
5		0.075	1.35	7.1	7.1	6.3	5.7	4.2	8.9	7.4	3.5	3.2
6		0.100	1.80	7.1	7.1	6.3	5.8	4.8	8.0	7.3	3.4	3.0
7	<i>d</i> -Fruktose	0.005	0.09	7.1	7.1	6.7	5.8	5.9	12.0	11.0	6.2	5.9
8		0.025	0.45	7.1	7.0	6.7	5.7	7.2	12.7	10.3	5.6	5.2
9		0.050	0.90	7.1	7.0	6.6	5.8	3.0	10.8	5.5	2.7	2.3
10		0.075	1.35	7.1	7.0	6.5	5.8	2.0	9.4	3.2	1.7	1.6
11		0.100	1.80	7.1	7.0	6.3	5.9	0.2	4.0	3.0	1.6	0.8
12	<i>d</i> -Galaktose	0.005	0.09	7.1	7.0	6.9	6.8	—	10.0	0.9	0.8	—
13		0.025	0.45	7.1	6.9	6.8	6.5	—	13.5	11.7	7.0	unmeßbar
14		0.050	0.90	7.1	7.0	6.9	6.1	—	4.5	3.0	5.7	—
15		0.075	1.35	7.1	7.0	6.9	6.0	—	2.1	0.9	2.2	—
16		0.100	1.80	7.1	7.0	6.9	5.9	—	0.6	—	—	—

Im allgemeinen läßt sich erkennen, daß infolge der höheren Salzkonzentration auch höhere Leuchtmaxima entstehen und daß das Zurückgehen des Leuchtens viel rascher erfolgt als bei kleinen NaCl-Gaben. Bei vermehrtem Salzgehalt erweisen sich etwas vergrößerte Zuckergaben als günstig (Kultur Nr. 3, 8 und 13), wobei sich in den dabei auftretenden p_H -Werten keine wesentlichen Unterschiede ergeben. In den Glukosekulturen mit kleinen und mittleren Zuckerkonzentrationen werden die Höchstwerte des

Leuchtens erst nach 36 Stunden erreicht, während dies bei den Fruktose- und Galaktoseproben schon nach 24 Stunden eintritt.

Wenn sich auch die beiden Aldosen *d*-Glukose und *d*-Galaktose strukturell nahestehen, weist ihr sehr verschiedenes Verhalten beim Leuchtprozeß doch auf tiefgehende Unterschiede derselben hin. Die Ketose *d*-Fruktose zeigt in ihrer Wirkungsweise gegenüber jener der Galaktose eine gewisse Ähnlichkeit. Beachtet man die aus der Säurebildung erschließbare Angreifbarkeit der verglichenen Zucker, läßt sich ungezwungen der Schluß ziehen, daß unsere Leuchtbakterie keine weitgehende enzymatische Spaltung der versuchten Hexosen herbeiführt. Es scheint vielmehr, daß gerade nur so viel davon intrazellulär aufgespalten wird, als dem Bedarf des Protoplasmas entspricht. Größere Zuckerkonzentrationen dürften sich in erster Linie in einer Störung der osmotischen Zellverhältnisse auswirken, was bei gleichzeitigem Salzangel besonders in den Vordergrund tritt.

Disaccharid-Versuche.

Die Disaccharid-Versuche wurden in analoger Weise wie die soeben geschilderten Monosaccharid-Experimente unter Verwendung von *Saccharose*, *Laktose* und *Maltose* durchgeführt. Da aus den schon in der ersten Mitteilung (l. c.) dargelegten Gründen nur mit molaren bzw. äquivalenten Mengen angestellte Untersuchungen vergleichsfähig sind, wurden in den folgenden Proben ebenfalls alle Konzentrationen auf das Molgewicht bezogen. Weiters konnte festgestellt werden, daß die vorsichtig durchgeführte Sterilisation der disaccharidhaltigen Nährlösungen zu keiner hydrolytischen Spaltung der Zucker geführt hat.

Die Tabelle 3 enthält die Ergebnisse einer Reihe mit *Saccharose* und *Laktose* angestellter Versuche, bei denen der NaCl-Gehalt der Nährlösungen 0.25 norm. (= mol.) betrug. Gegenüber den bei den Monosaccharid-Versuchen eingetragenen Leuchtgraden erscheinen dieselben hier deshalb niedriger, weil nur die halbe Belichtungszeit angewendet wurde, um bei den Leuchtmaxima eine Überstrahlung zu vermeiden. Die Zusammenstellung läßt sofort erkennen, daß beide Zucker in den Anfangszeiten bei jeder der angewendeten Mengen äußerst stimulierend auf das Leuchten wirken. Dies zeigt jede einzelne Probe und das Auftreten der Maxima nach 18stündiger Kultur. Bei der Saccharose steigt die Wirkung in dieser Zeit bis zur Konzentra-

tion von 0.075 mol. (Kultur Nr. 5), wo unter den gegebenen Bedingungen das Leuchtmaximum zu finden ist. Nach 18 Stunden nimmt das Leuchten langsam und stetig ab.

Die Laktose wirkt auf das Leuchten im allgemeinen gleich, unterscheidet sich aber doch im besonderen, denn das Leucht optimum weist die Kultur mit 0.025 mol. Milchzucker auf (Kultur Nr. 8). Es erreicht aber nicht die Größe desjenigen bei Saccharose (4.7 gegenüber 7.1).

Tabelle 3.
0.25 *n*-NaCl-Disaccharid-Versuchsreihe.

Nr. d. Kultur	Zuckerart	Zucker- gehalt		Anfangs- p_H	p_H nach Stunden			Leuchtgrade nach Stunden			
		molar	%		18	36	48	18	24	36	48
1	—	—	—	7.0	7.0	7.0	7.0	4.1	4.6	4.8	5.0
2	Saccharose	0.005	0.17	7.0	6.9	6.9	6.9	5.1	5.0	3.9	3.4
3		0.025	0.85	7.0	6.9	6.9	6.9	5.4	5.2	4.3	4.1
4		0.050	1.70	7.0	6.9	6.9	6.9	6.3	5.9	4.5	4.4
5		0.075	2.55	7.0	7.0	7.0	7.0	7.1	6.6	5.6	5.3
6		0.100	3.40	7.0	7.0	7.0	7.0	5.8	5.6	5.0	4.8
7		Laktose	0.005	0.17	7.0	7.0	7.0	7.0	3.2	2.7	2.4
8	0.025		0.85	7.0	7.0	7.0	7.0	4.7	3.6	3.4	3.1
9	0.050		1.70	7.0	7.0	7.0	7.0	3.9	3.7	3.0	2.8
10	0.075		2.55	7.0	7.0	7.0	7.0	2.9	2.5	2.2	2.2
11	0.200		3.40	7.0	7.0	7.0	7.0	2.7	2.0	1.9	1.7

Die graphische Auswertung der zahlenmäßigen Ergebnisse in der Fig. 3 zeigt diese Verhältnisse äußerst klar. Alle Schaulinien zeigen im Verlauf die gleiche Grundtendenz, vom 18stündigen Optimum oder Maximum ab zu fallen, wobei der Abstieg in den folgenden Stunden im allgemeinen um so steiler erfolgt, je größer das jeweilige Maximum ist. Es findet also geradezu eine Umkehrung des Leuchtverlaufes gegenüber jenem ohne Zuckerzusatz statt, wie es die punktierte Verlaufslinie der zuckerfreien Kontrollprobe (Nr. 1) dartut. Es scheint bei der *Saccharose* der Fall so zu liegen, daß Mengen von 0.005 bis 0.1 mol. für

den Leuchtprozeß förderlich sind, wobei eine unmittelbare Verwendung dieses Zuckers im Stoffwechsel ohne tiefgehende Spaltung größerer Mengen erfolgt. Die Leuchtmaxima sind durchwegs größer als ohne Rohrzuckerzusatz. Auf das Ausfallen tiefer Abbauvorgänge ist aus dem minimalen Absinken der p_H -Werte zu schließen.

Der Verlauf der Laktosekurven (Fig. 3) und die Lage ihrer Leuchtgradpunkte zeigt, daß hier das Leuchtmaximum der zuckerfreien Kulturen überhaupt nicht erreicht wird. Die Laktose hemmt

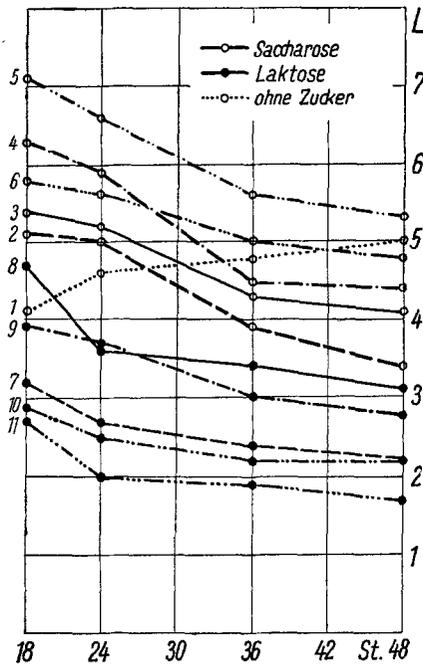


Fig. 3.

somit im allgemeinen den Leuchtprozeß und wirkt höchstens bei sehr kleiner Gabe (Nr. 8, 0.025 mol.) in den ersten 18 Stunden der Zucht stimulierend. Die Anfangs- p_H -Werte haben sich in keiner Weise geändert und während der ganzen Beobachtungsdauer ihre Höhe beibehalten.

Völlig anders gestaltet sich die Versuchsreihe mit Rohr- und Milchzucker bei der Erhöhung des NaCl-Gehaltes auf 0.5 molar. In der Tabelle 4 sind die bezüglichen zahlenmäßigen Ergebnisse zusammengefaßt.

Tabelle 4.
0·5 n-NaCl-Disaccharid-Versuchsreihe.

Nr. d. Kultur	Zuckerart	Zucker- gehalt		Anfangs- p_H	p_H nach Stunden			Leuchtgrade nach Stunden			
		molar	%		18	36	48	18	24	36	48
1	—	—	—	7·1	7·1	7·1	7·1	7·9	8·7	7·3	6·4
2	Saccharose	0·005	0·17	7·1	7·1	7·1	7·1	7·6	8·3	8·1	6·5
3		0·025	0·85	7·1	7·1	7·1	7·1	8·0	8·7	8·2	7·0
4		0·050	1·70	7·1	7·1	7·1	7·1	7·6	8·4	8·1	6·5
5		0·075	2·55	7·1	7·1	7·1	7·1	7·0	8·3	8·3	6·7
6		0·100	3·40	7·1	7·1	7·1	7·1	6·7	8·0	8·4	7·4
7		Laktose	0·005	0·17	7·1	7·1	7·1	7·1	5·5	8·3	7·5
8	0·025		0·85	7·1	7·1	7·1	7·1	7·4	9·4	6·5	6·2
9	0·050		1·70	7·1	7·1	7·1	7·1	6·4	9·0	6·7	6·2
10	0·075		2·55	7·1	7·1	7·1	7·1	5·4	8·9	6·5	5·2
11	0·100		3·40	7·1	7·1	7·1	7·1	6·4	6·7	6·5	4·5

Die entsprechend $p_H = 7·1$ gewählte Wasserstoffionenmenge wurde während der ganzen Zuchtdauer *nicht* verändert. Eine Förderung des Leuchtprozesses durch Rohrzucker ist auch nicht zu bemerken, denn das erreichte Maximum stimmt mit jenem der zuckerfreien Kontrollkultur überein (Nr. 1 8·7; Nr. 3 8·7). Es ist nur das jeweilige Maximum zeitlich von 18 auf 24 Stunden und darüber verschoben.

Bei dem im optimalen Bereich liegenden Kochsalzgehalt von 0·5 mol. wirkt sich dagegen der Laktosezusatz wesentlich anders aus. Hier erhöhen Milchzuckergaben im Bereich von 0·025 bis 0·075 mol. nicht unbedeutend die Lichtbildung, wie es die Kulturen Nr. 8—10 gegenüber der zuckerfreien Probe Nr. 1 zeigen.

Die graphische Darstellung der Fig. 4 dieser Versuche läßt die Unterschiede besonders deutlich hervortreten. Die obere, den Rohrzuckerversuchen zugeordnete Linienschar zeigt im wesentlichen den gleichartigen, durch die Saccharosekonzentrationen kaum beeinflussten Verlauf des Leuchtens, während die unteren Schauplinien die einschneidende Wirkung der Milchzuckermengen auf den Leuchtprozeß aufzeigen.

Die Verwendung der annähernd optimalen Salzkonzentration zeitigt eine das Leuchten fördernde Wirkung mittlerer Laktosemengen, die sich bei niedriger NaCl-Konzentration geradezu als hemmend erwiesen haben (Fig. 3, Schaulinien 8—11). Wieder umgekehrt erscheint hier jede Rohrzuckerwirkung ausgeschaltet, während sich bei 0·25 mol. Kochsalzgehalt dieselbe wenigstens gering geäußert hat (Fig. 3, Kurve 2—6).

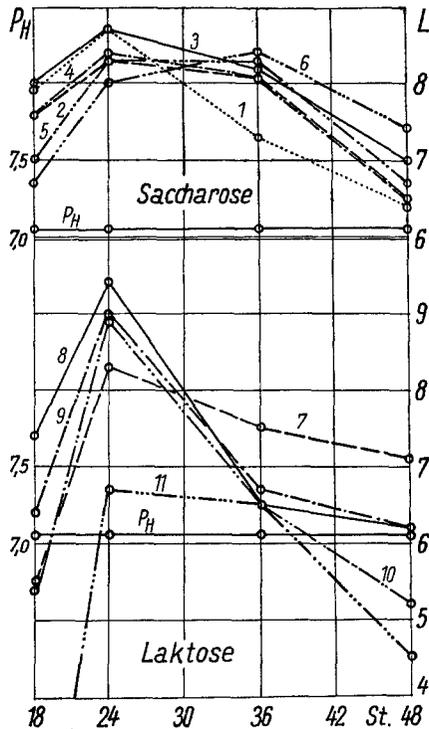


Fig. 4.

Trotz dieser auffallenden Laktosewirkung findet dabei keine Reaktionsänderung des Nährsubstrates statt, denn die Anfangs- p_H -Werte wurden die ganze Versuchsdauer über nicht verschoben.

Wenn sich über diese Erscheinungen zurzeit auch kein abschließendes Urteil abgeben läßt, so ist man doch zur Annahme berechtigt, daß Disaccharide von unserer Leuchtbakterienart in ihrem Stoffwechsel ausgenutzt werden können, wenn bestimmte Salzkonzentrationsbedingungen erfüllt sind. Die bereits begonnenen Kohlendioxyd-Sauerstoffbilanz-Versuche, über die eine der nächsten Mitteilungen eingehend berichten soll, werden vielleicht

die Möglichkeit bieten, auch in diesen Belangen ein klares Bild zu erhalten.

Gegenüber dem Rohr- und Milchzucker nimmt die *Maltose* in bezug auf ihren Einfluß auf den Leuchtprozeß eine gesonderte Stellung ein. Es darf dies schon deshalb nicht wundernehmen, da dieselbe in der gesamten belebten Natur als Umwandlungsprodukt der Stärke und des Glykogens die denkbar weiteste Verbreitung findet. Sie wird ja auch von den meisten darauf untersuchten Mikroorganismen leicht angegriffen und ihr Spaltungsprodukt Glukose weitestgehend abgebaut und umgewandelt.

Tabelle 5.
Maltose-Versuchsreihe.

Nr. d. Kultur	NaCl-Gehalt	Maltose-gehalt		Anfangs- p_H	p_H nach Stunden					Leuchtgrade nach Stunden				
		molar	%		18	36	48	60	72	18	24	36	48	60
1	0.5 molar	0	0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.7	7.9	8.0	7.9	7.6
2		0.005	0.17	7.0	7.0	6.1	6.0	5.9	5.7	7.7	8.1	8.4	8.7	7.1
3		0.025	0.85	7.0	6.9	6.3	6.2	6.0	5.7	2.6	2.7	6.5	6.2	4.9
4		0.050	1.70	7.0	6.9	6.4	6.3	6.1	5.8	—	0.2	2.0	2.2	2.2
5		0.075	2.55	7.0	6.9	6.5	6.4	6.2	5.9	—	0.1	1.7	1.0	0.2
6		0.100	3.40	7.0	6.9	6.7	6.5	6.3	6.0	—	—	3.4	1.1	0.3
7	0.25 molar	0	0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	8.0	7.9	7.8	8.0
8		0.005	0.17	7.0	6.9	6.1	—	5.7	—	—	9.6	6.4	4.5	2.8
9		0.025	0.85	7.0	6.9	6.3	—	5.9	—	Spur	2.2	1.2	0.6	0.2
10		0.050	1.70	7.0	7.0	6.4	—	5.9	—	Spur	1.7	0.5	0.3	0
11		0.075	2.55	7.0	7.0	6.5	—	6.1	—	0	Spur			0
12		0.100	3.40	7.0	7.0	6.6	—	6.2	—	0	0	0	0	0

In der Tabelle 5 sind die mit Maltose erhaltenen Versuchsergebnisse zusammengestellt. Im allgemeinen läßt sich daraus erkennen, daß *sehr kleine Zusätze von Malzzucker die Lichtentwicklung begünstigen*, während sich Mengen über 0.005 mol. bereits ausgiebig hemmend in den Kulturen auswirken. Es scheint, daß die Maltose wenig abhängig von der Salzkonzentration sowohl unmittelbar im Stoffwechsel verbraucht als auch in nicht zu vernachlässigender Menge noch gespalten und unter Säure-

bildung zerlegt wird. Weiters erscheint bewiesen, daß die größeren Maltosedosen weniger in das Wachstum dieser Bakterienart hemmend eingreifen als in die Lichtproduktion.

Die Besonderheiten im einzelnen läßt die graphische Darstellung der Fig. 5 scharf hervortreten. So sehen wir im Verlauf der Kurven 1 (ohne Zucker) und 2 (mit 0·005 mol. Maltose) keinen wesentlichen Unterschied, abgesehen von den auch nur wenig erhöhten Leuchtgraden der letzteren. In beiden Kulturen

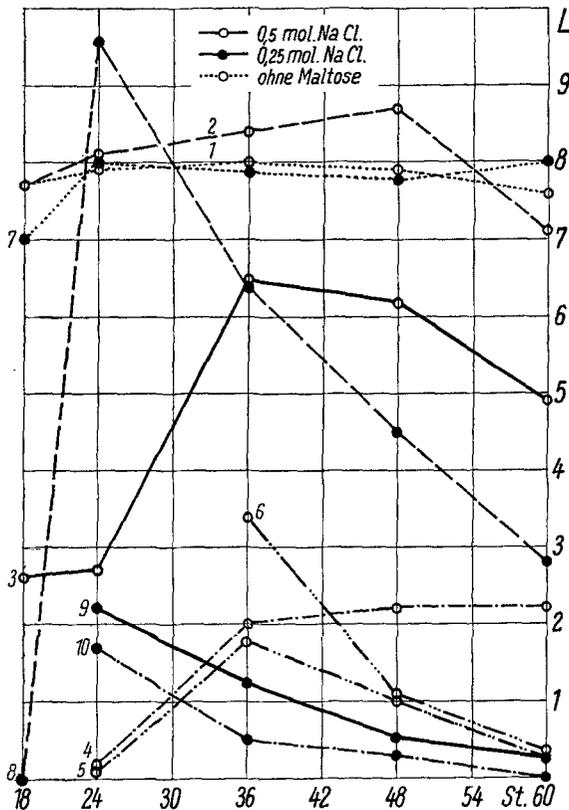


Fig. 5.

herrschte eine NaCl-Konzentration von 0·5 mol., also eine optimale. Verringert man diese auf 0·25 mol., ändert sich der Leuchtverlauf sowohl zeitlich als quantitativ, denn der hohe, überhaupt maximale Anstieg des Leuchtens in den ersten 24 Stunden ist außerordentlich steil und die erreichte Lichtstärke sehr groß. Darauf erfolgt ein ebenfalls steiler Abfall. Besonders auffallend sind die

Verlaufsunterschiede bei den Schaulinien 3 (0.5 mol. NaCl) und 9 (0.25 mol. NaCl). Obwohl die verwendete Maltosemenge von 0.025 mol. die Leuchtfähigkeit an sich schon beeinträchtigt, findet im ersteren Fall immerhin noch ein verhältnismäßig steiler Anstieg des Leuchtens statt, dem ein sanfter Abfall folgt, während bei der verringerten Salzkonzentration nach 24 Stunden ein *niederes* Maximum mit flachem Abfall sichtbar wird. Bei den noch größeren Maltosegaben treten die Hemmungserscheinungen schon sehr in den Vordergrund, wobei die Regel zu herrschen scheint, daß bei vermehrter Salzkonzentration auch eine größere Menge Maltose beim Leuchten eben noch ertragen wird.

Wenn man die in der Tabelle 5 aufgeführten p_{H} -Werte einer Betrachtung unterzieht, findet man im allgemeinen ein langsames Fallen derselben im Verlaufe der Zucht, wobei sich die niedrigsten Zahlen, gleichbedeutend mit der stärksten Säuerung, in jenen Proben einstellen, in denen gutes Leuchten herrscht. Es findet aber auch in jenen Kulturen (Nr. 11 und 12) statt, in denen überhaupt keine Lichtentwicklung zu beobachten war. Es ist somit die Annahme auszuschließen, daß die sich einstellende saure Reaktion etwa das Leuchten verhindert. Das hemmende Agens ist vielmehr die Maltose selbst in der betreffenden hohen Konzentration, wobei es keineswegs unmöglich erscheint, daß die Abbauprodukte der Maltosebruchstücke die geringe Säuerungszunahme verursachen, die wir bei den Kulturen Nr. 11 und 12 sehen.

Zum Schlusse sei noch einigen Erwägungen Raum gegeben. Man könnte der Meinung sein, daß das stärkere oder schwächere Leuchten eine Funktion der Zahl der in den bestimmten Zeiten gewachsenen und im leuchtenden Entwicklungszustand befindlichen Bakterien sei. Unter dieser Annahme liefen schließlich alle vorbeschriebenen Versuche darauf hinaus, das Wachstum selbst durch Zuckerzusätze verschiedener Menge beeinflusst zu haben. Die Maltoseversuche sprechen aber ganz und gar dagegen, denn wir fanden auch ohne Leuchten ein sehr gutes Wachstum, das dem der gut leuchtenden Kulturen in keiner Weise nachstand. Wir sind vielmehr der Ansicht, daß für die Abbau- und Aufbauvorgänge im Stoffwechsel eine Art Doppelgeleisigkeit herrscht, bei der das eine oder andere Geleise beeinflussbar besonders frequentiert wird. Dafür scheinen neben gewissen Salzen auch die versuchten Zucker wirkungsvoll und richtunggebend zu sein.

Zusammenfassung.

Unter den beschriebenen Versuchsbedingungen bewirken Zugaben der Hexosen *Glukose*, *Fruktose* und *Galaktose* keine nennenswerte Steigerung des Leuchtvermögens, vielmehr hemmen die beiden ersteren geradezu, einerlei, ob der Salzgehalt optimal oder geringer ist.

Bei 0·5 NaCl-Gehalt wird vornehmlich in den ersten Wachstumszeiten bis 24 Stunden ein starker Impuls auf die Leuchtfunktion ausgeübt, besonders bei der Galaktose und Fruktose, sofern nur kleine Zugaben verwendet werden. Glukose wirkt in solchen kleinen Dosen wesentlich langsamer, da in diesem Falle die Leuchtmaxima wie bei den anderen Hexosen unter Benutzung größerer Mengen erst nach 36 Stunden erreicht werden.

Auf Grund der beobachteten Säurebildung muß angenommen werden, daß die *Galaktose* am wenigsten angegriffen wird, ob wohl sie bei der Salzkonzentration 0·5 mol. und einer Menge von 0·025 mol. das höchste Leuchtmaximum aller Versuche dieser Reihen zur Folge hat.

Große Dosen der genannten Zucker hemmen oder unterdrücken das Leuchten vollends, ohne gleichzeitig das Wachstum aufzuheben.

Im allgemeinen führen bei der Anwesenheit der angewendeten Hexosen die höheren Salzmengen zu größeren Leuchtmaxima, von denen dann der Leuchtabfall rasch erfolgt.

Rohrzucker und *Laktose* wirken in allen versuchten Mengen in den ersten Wachstumszeiten auf den Leuchtprozeß sehr anregend, wenn auch bei der Laktose die Leuchtmaxima niedriger sind als bei der Saccharose.

Bei 0·25 mol. NaCl-Gehalt hemmt jede Laktosegabe den Leuchtprozeß mehr oder weniger, denn in allen Fällen sind die erreichten Maxima niedriger als in der zuckerfreien Kontrollkultur.

Bei einem optimalen NaCl-Gehalt von 0·5 mol. sind Rohrzuckergaben ohne nennenswerten Einfluß auf das Leuchten, während analoge Milchzuckermengen mittlerer Größe sehr fördernd auf die Lichtbildung wirken.

Bei beiden Disacchariden vermißt man in den Kulturen jede nennenswerte Säuerung, die bei optimalem Salzgehalt überhaupt fehlt.

Rohrzucker und Milchzucker scheinen, in den fördernden Konzentrationen verwendet, in einer gerade den Bedarf deckenden Quantität im Stoffwechsel verwendet zu werden, ohne daß darüber hinausgehende Mengen enzymatisch gespalten oder abgebaut werden.

Sehr kleine Zusätze von *Maltose* fördern die Lichtentwicklung. Dabei erscheint die Größe der Vermehrung kaum oder überhaupt nicht betroffen, denn die sich in den infolge großer Zuckergaben *nicht* leuchtenden Kulturen einstellenden Trübungen gleichen jenen der gut oder nur mäßig leuchtenden Proben.

Bei weit unter dem Optimum liegender Salzkonzentration äußert sich die lichtfördernde Wirkung kleiner Maltosegaben in einem besonders steilen Anstieg des Leuchtens zu einem hohen Maximum in den ersten 24 Stunden, dem sich ein sehr steiler Rückgang der Leuchtfähigkeit anschließt.

Ein optimaler Salzgehalt kompensiert einigermaßen teilweise die hemmende Wirkung größerer Maltosezusätze auf die Lichtproduktion, während in diesen Fällen keine Wachstumsstörung in Erscheinung tritt.
