

## Növekedés és anyagcsere összefüggése

### *Ustilago maydis*-nál

## I. Respirálási ciklus köztes anyagainak hatása a populáció növekedésére

SZENDE KÁLMÁN

Magyar Tudományos Akadémia Agrobiológiai Intézet Genetikai Osztálya, Budapest

### Bevezetés

Egy mikroszervezet populációjának növekedése, tehát a sejt-tömeg gyarapodása függvénye a rendelkezésre álló szubsztrátum kezdeti koncentrációjának (9). Természetesen a növekedés függ attól is, hogy a szubsztrátum mennyiben alkalmas táplálék, mennyiben képes a szervezet anyagcsere útjaiba bekapcsolódni és adottságai erre milyenek. A szervezet anyagcsere útjainak középpontja a Krebs-Szent-Györgyi-féle respirálási ciklus, a lebontó és felépítő folyamatok, energiatermelő átalakulások e ciklusban keresztezik egymást. Elsőrendű fontosságú tehát, hogy egy vizsgált szervezetnél a respirálási ciklus működését általánosságban megismerjük és így annak anyagcseréjéről képet nyerjünk. A további vizsgálatok azután már odavezetnek, hogy az egyes szervezetek típuskülönbségeit anyagcseréjükön keresztül magyarázni tudjuk és így anyagcseretípusuk részleteiben is megismerhető legyen.

Vizsgálatainkban egy mikroorganizmus populációjának növekedése, sejt-tömeg gyarapodása észlelésével igyekeztünk megközelíteni az *in vivo* lejátszódó folyamatokat: a respirálási ciklus köztéseinek, mint szubsztrátumoknak, valamint enzimmérgek hatására bekövetkező növekedési változásokból következtettünk a szervezetben lejátszódó részletfolyamatokra. Természetesen ilyen módszerekkel csak megközelíteni lehet a tényleges folyamatokat, azonban a végzett vizsgálatok alapján képet kaptunk a szervezet különleges táplálkozási viszonyairól, valamint az alkalmazott adaptációs módszer segítségével a Krebs—Szent-Györgyi-féle respirálási ciklus működéséről.

### Módszertani rész

A vizsgált szervezet *Ustilago maydis* (DC) Cda., egy élettani vonatkozásaiban kevésbé ismert bazidiumos gomba. A vizsgálatokhoz felhasznált anyag kompolti eredetű, 1951-ben izolált kultúra volt.

A szintetikus alaptápadatban (10) a nitrogén forrás  $\text{NO}_3$  és  $\text{NH}_4$ , a szénforrás a vizsgálat természetétől függő volt. A szénforrásként adott szerves savakat NaOH-val 6,8 pH-ra állítottuk be, ott, hol a vizsgálati feltételek más aciditási viszonyokat nem igényeltek. A vizsgálat mikrofermentorban, egy 50 fordulat/min. sebességgel forgó korongba helyezett kémcsövekben történt. A kémcsöveket a vízszintes helyzettől kis szögben megdőntöttük, hogy biztosítsuk az anyag kellő levegőzését és keverését. A hőmérséklet  $30\text{ }^\circ\text{C}$  volt. Inokulumként 24 órás tenyészetek mosott szuszpenzióját használtuk, melyet vérszejtszámláló kamrával  $2 \times 10^4$  sejt/ml végső sejt-koncentrációra állítottunk be. A sejtszám, illetőleg a sejt-tömeggyarapodást részben vérszejtszámláló kamrában, részben Zeiss-típusú Stufenfotométerben és Lange-féle fotoelektromos koloriméterben mértük, előbbinél a mérés 1 cm rétegvastagságú küvettában, utóbbinál közvetlenül kémcsőben történt.

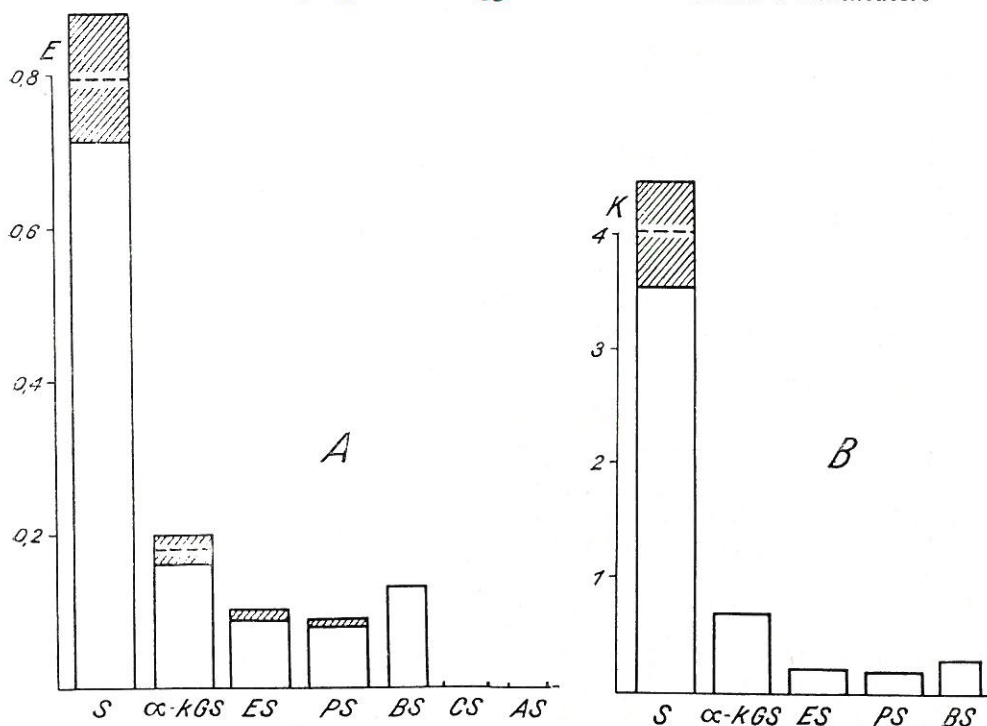
Fotométeres értékelésnél a leolvasás értékeit extinkcióban (E) adjuk meg. A kapott sejtkoncentrációnál az extinkció még lineáris a tényleges sejttömeggyarapodással, amint azt elővizsgálatokkal megállapítottuk. Így tehát a kultúra összes növekedését (G) is extinkció értékekben fejeztük ki ott, hol szükséges volt és hasonlóan a sejtkoncentráció növekedésének gyorsaságát, tehát a növekedési sebességet (R) is. Felhasználtuk még a késlekedési fázis (»lagfázis«) tartamot ( $T_1$ ) is. Mindezen értékek kiszámításánál Monod (9) ezirányú összefoglaló munkáját használtuk fel.

### Kísérleti rész

#### Az *U. maydis* általános táplálkozási igényei

Elővizsgálatok alapján megállapítottuk, hogy a szervezetnek különleges táplálkozási igényei nincsenek. Elemnyomoldatnak (Bo, Fe, Zn, Mn, Mo, Cu) élesztő kivonatnak és kazein-hidrolizátumnak lényeges hatása nincs. Szénforrásait illetően szacharóz-, glukóz-, és fruktózára azonos erős növekedéssel reagál, glicerinnre, etilalkoholra gyengébb a sejtszám szaporulat, metilalkoholon, borkősavon, oxálsavon egyáltalán nem növekedik. Szervetlen nitrogén forrásokból  $\text{NH}_4$ -t és  $\text{NO}_3$ -t egyformán jól értékesíti,  $\text{NO}_2$  nitrogént már gyengébben.

#### A Krebs—Szent-Györgyi ciklus egyes közteseinek hatása a növekedésre



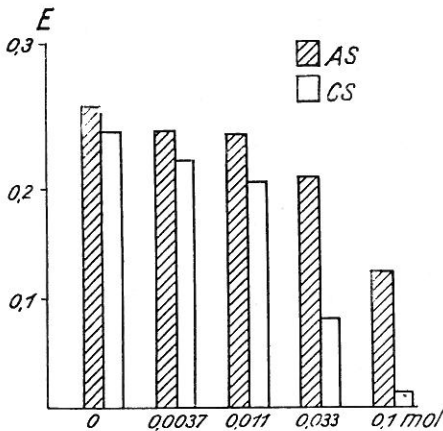
I. ábra

A: *U. maydis* összes növekedése (G) és B: növekedési koefficiense (K) három különböző időben beállított növekedési vizsgálatnál változó szervessav szénforrások esetében. Szénforrás koncentráció (C): szacharóz (S) 0,02 mol; szerves savak: α-keto-glutársav (α-kGS), ecetsav (ES), piroszőlősav (PS), borostyánkősav (BS), citromsav (CS), almasav (AS) 0,05 mol. pH 6,8. Mérve Lange-fotométerben kémesőben. G értékeket extinkcióban (E) adjuk meg

A három kísérleti sorozat eredményei alapján megállapítható, hogy a gomba növekedéséhez a ciklus rendelkezésre álló köztéseiből piroszőlő-, ecet-,  $\alpha$ -ketoglutár- és borostyánkősavat hasznosítja, a citrom- és almasavat viszont nem. Az utóbbi két sav alkalmazásakor még 120 óra múlva sem jelentkezik növekedés.

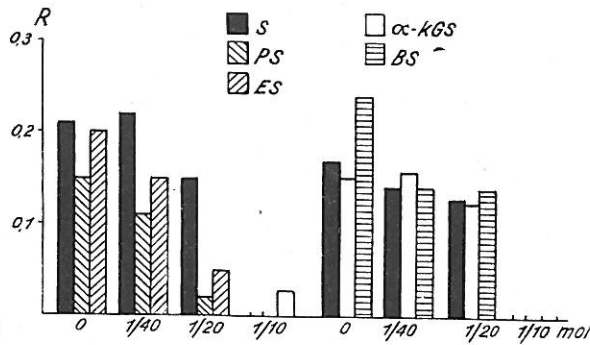
*A citrom- és almasav felvételével kapcsolatos vizsgálatok*

A disszociált savak nehezebben permeálnak és mivel élesztő esetében bebizonyították, hogy egyes savak értékesülése permeálási kérdés csupán (7), feltételeztük, hogy jelen esetben is a két sav értékesülését befolyásolhatjuk disszociáltsági fokuk megváltoztatásával. A 4,8–7,4 pH határok között beállított kísérletek azonban negatív eredménnyel jártak. Minthogy 4,8 pH alatt a szervezet kielégítő növekedést nem adott és a fenti pH-nál citromsav esetében mintegy 2% sav van csupán disszociálatlan állapotban, nem lehet határozott választ kapni arra, hogy a két sav értékesülését nem a permeálási viszonyok akadályozzák.



2. ábra

Kevert szénforrások hatása az *U. maydis* összes növekedésére. Szénforrás koncentráció: szacharóz (S) 0,02 mol; alma- (AS) és citromsav (CS) változó. pH 6,8. Mérve Stufen-fotométerben 1 cm rétegvastagságnál. Az értékeket 24 órás növekedés után extinkcióban (E) adjuk meg.



3. ábra

NaF hatása *U. maydis* növekedésére változó szénforrások és változó F koncentráció esetében (Jelzések: azonosak az 1. ábrán alkalmazottakkal). Mérve Lange-fotométerben kémcsőben. Az értékeket növekedési sebességben (R) adjuk meg.

Állati szövetekben a Mg és Mn ionok a citromsav értékesülésénél kompetíciót mutatnak (3). Ennek megfelelően a Mg, valamint Mn és Ca ionokat különböző kombinációkban adtuk, azonban növekedés itt sem jelentkezett.

Tájékoztató vizsgálatok szerint a savak és szacharóz együtt adva a növekedést gátolták a szacharózos kontrol növekedési értékeivel szemben. A gátlás mértékének megállapítására citrom, illetőleg almasavat szacharózzal együtt adtunk szénforrásként. A savakat változó koncentrációban kevertük az állandó koncentrációjú szacharózhoz.

A savak koncentrációjának fokozásával csökken a szacharózos növekedés. A citromsav már  $1,2 \times 10^{-3}$  mol koncentrációban is gátol, 0,03, illetőleg 0,1 mol koncentrációban gátló hatása az almasavénál kifejezettebb.

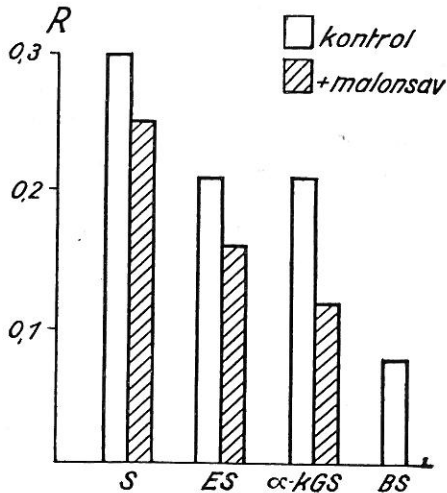
## Respirálási enzimmérgek hatása a növekedésre

KCN  $10^{-3}$  mol koncentrációban 93%-kal gátolja a növekedést, toluidinkék, mint H-akceptor festék, bár egymagában is gátol, a CN gátlását csökkenti, ez az

erős gátlás egyrészt gyors permeálásra, másrészt arra mutat, hogy a mérge a végoxidációban az elektron szállítás akadályozásával a növekedést is gátolja.

NaF különböző koncentrációinál (1/10—1/40 mol) legkisebb gátlás szacharoz szubsztrátum esetében jelentkezik, legerősebb viszont piroszölősav, illetőleg ecetsav adásakor.

Malonsav csak nagy koncentrációban gátló hatású. 1/40 mol koncentrációban viszont határozott serkentés észlelhető. A vizsgált különböző szénforrások esetében szacharozon a legkisebb (17%), viszont borostyánkősav adásakor a legnagyobb a malonsavas gátlás (100%).



4. ábra

0,2 mol malonsav hatása U. maydis növekedésére változó szénforrások esetében. Szénforrások koncentrációja: szacharóz 0,02 mol, savak 0,05 mol. pH 6,8. Mérve Lange fotométerben kémcsőben. Értékeket növekedési sebességben (R) adjuk meg

egy szervezet a környezet kényszerítő hatására új anyagokat képes asszimilálni, tehát új enzimszisztemeket alakít ki. A környezet hatására kialakuló új enzimszisztemek tanulmányozásának B a c h is nagy jelentőséget tulajdonít. Adaptív enzimek vizsgálatának módszerével, a szimultán adaptálással történt az egyes anyagcsere-folyamatok tisztázása. A módszer elméleti alapja K a r s t r ö m-nek az az elgondolása, hogy egy bizonyos szubsztrátumra adaptált sejtek ezzel az elsődleges adaptálással egyidejűleg az anyagcsere folyamat további lépéseire is adaptálódnak (12, 13). Ezt a szimultán adaptálást a terminális oxidálás tisztázására is többen alkalmazták (1, 2, 4, 5); az adaptáltság mértékét Warburg-technikával állapították meg. Jelen esetben, kiindulva abból, hogy a szervezet adaptálódásának időtartama alatt enzim szintézis játszódik le, M o n o d nyomán a szervezet adaptálódásának mértékéül a növekedés úgynevezett késlekedési fázisának megrövidülését vettük.

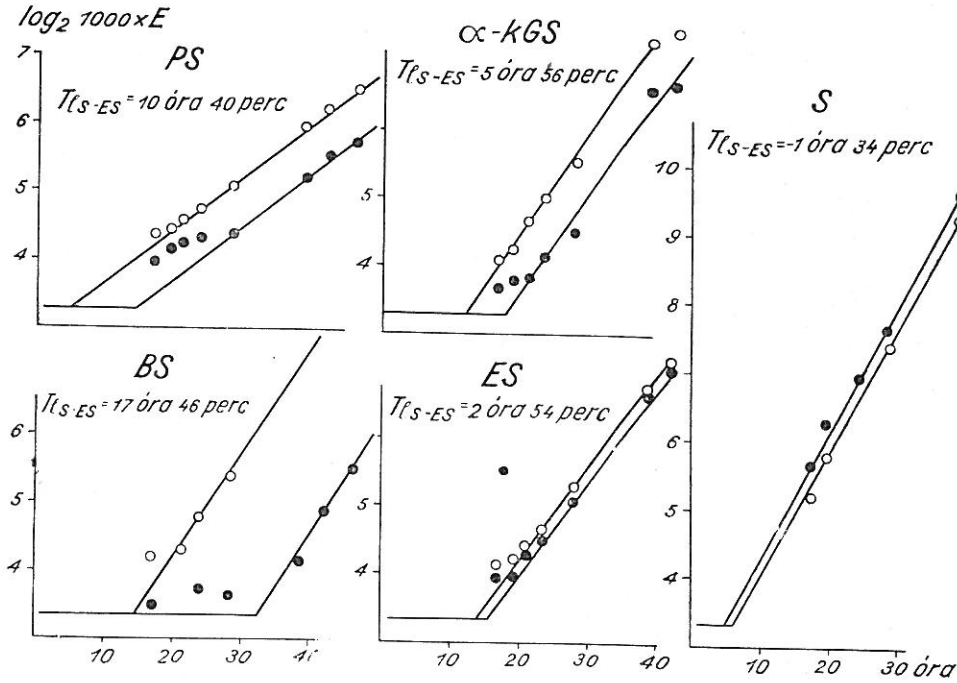
A szervezetet megismételt átoltásokkal ecetsav szénforrásra adaptáltuk. A vizsgálatokhoz az élettani különbségek kiküszöbölésére a szacharózban nőtt sejtekből 24-, az ecetsavban nevelkedettekből 36 órás tenyészetből vettük az inokulumot, amikor mindkettő aktív növekedésben a logaritmusos fázis második felében volt.

Az ecetsavra adaptált sejteknél a késlekedési fázis megrövidülések jelentősek a legtöbb esetben, de minden vizsgált szubsztrátumon kisebb-nagyobb mér-

## Szimultán adaptálási vizsgálatok

A szervezet növekedése a benne le-  
játszódó anyagcsere-folyamatok egy meg-  
jelenési formája. A szervessav anyagcsere  
egyes lépései megközelítésére 1947 óta  
elterjedten használt szimultán adaptálás  
módszerét alkalmaztuk. Az enzim adaptá-  
lás vizsgálatának fontosságát kiemelve  
K r i c m a n (6) arra mutat rá, hogy

tékben jelentkeznek. Ez arra mutat, hogy ecetsavra adaptáláskor szimultán adaptálódás következik be a ciklus alkalmazott savaira is. Kifejezett és erős ez borostyánkősav és piroszőlősav esetében, megfordított szacharózon, ami »deadaptálódnak«, a szacharóz értékesítő készség csökkenésének felel meg.



5. ábra

Ecetsavra adaptált (10. átoltás) és szacharózon nevelkedett *U. maydis* növekedési görbéi változó, a Krebs—Szent-Györgyi ciklus közteseit alkotó szénforrásokon. Mérve Lange-fotométerben. Értékek  $\log_2 1000 \times E$ -ben.  $T_{1S-ES}$  = késlekedési fázis megrövidülések órákban, az ecetsavon (o-o-o) és szacharózon (•-•-•) nevelkedett sejtek  $T_1$  értékeinek összevetéséből.

### Kísérleti eredmények kiértékelése

Az *U. maydis* (DC) Cda. táplálkozása alapján chemoorganotroph szervezet, azaz növekedése külső organikus energiaforrásokon alapul és minden lényeges, szervezetének szükséges anyagát szintetizálni képes (16). A sejtömeg gyarapodás szénforrásokként adott egyes szervessavak jelenlétében is bekövetkezik, azonban a vizsgált Krebs—Szent-Györgyi-féle ciklus köztesei közül a citrom- és almasavat nem hasznosítja. A szubsztrátum hasznosulásokról sok esetben az a vélemény, hogy permeálási kérdés, mivel a nem disszociált savak általában jobban értékesülnek. Jelen esetben a kísérleti módszer nehézségei nem tették lehetővé a kérdés ily módon történő tisztázását.

Cianid gátló hatása a növekedésre már kis koncentrációban is megnyilvánul. Mivel egy H-akceptorral a gátlás csökkenthető, feltehető, hogy a növekedő szervezetben is elsősorban a citokróm-citokróm-oxidáz rendszert gátolja.

Fluorid szerves savakat tartalmazó közegben erősen gátolja a növekedést a szacharózon növekvő sejtekkel szemben. Mivel a fluorid az enzimszisztemek



működését több helyen állíthatja le (8, 11, 15) a növekedésben megnyilvánuló gátlás pontos helye alig állapítható meg. Talán az, hogy a gátlás a ciklus tagjai jelenlétében erősebb, arra enged következtetni, hogy a végoxidálásban a dehidrogenáz-citokróm rendszer vagy talán az oxidációval kapcsolt foszforilezést gátolja.

Malonsav gátló hatása csak nagy koncentrációban jelentkezik, ami általános jelenség intakt szervezeteknél. Nagy koncentrációban nem is specifikus enzimmérég, mert gátolja a szervezet foszfatait, amint ezt *E. coli* M.-nál kimutatták (14).

A szervezet végoxidálására következtetni lehet a szimultán adaptálási vizsgálatokból. Az ecetsavra adaptálás után egyes savak jelenlétében bekövetkezett késlekedési fázis megrövidülések arra mutatnak, hogy a Krebs—Szent-Györgyi-féle ciklus alkalmazott köztesei a szervezet anyagcserejének útjába esnek. Tekintettel arra, hogy ez a megrövidülés  $\alpha$ -keto-glutársav jelenlétében is bekövetkezik, feltehető, hogy *U. maydis*-ban az oxidálás útja a teljes tricarboxilsav-ciklus és nem a Thunberg—Knoop kondenzációban lerövidített dicarboxilsav ciklus.

Köszönetemet fejezem ki dr. Györfly Barnának, az intézet igazgatójának irányításáért és mindenkor támogatásáért, valamint az intézet minden egyes dolgozójának segítségéért és munkám iránti érdeklődéséért.

### Összefoglalás

Egy *U. maydis* izolátumnak anyagcserejét és végoxidációjának menetét közelítettük meg a szervezet növekedésében megnyilvánuló változások alapján.

1. Táplálék igényét tekintve a gomba chemoorganotroph. A Krebs—Szent-Györgyi-féle ciklus savai közül növekedéséhez piroszőlő-, borostyánkő-,  $\alpha$ -keto-glutársavat, valamint ecetsavat értékesíti szénforrásként, alma- és citromsavat nem. Citrom- és almasav koncentrációjuktól függően szacharózzal keverten gátolják a szacharóz értékesülésének növekedésben kifejeződő hatását. Ez a gátlás már  $1,2 \times 10^{-3}$  mol citromsav koncentrációnál jelentkezik.

2. Enzimmérgek (CN, F, malonsav) gátló hatásának helyét nem tudtuk megállapítani.

3. Ecetsav szénforrásra adaptálással egyidejűleg piroszőlő-,  $\alpha$ -keto-glutár- és borostyánkősavra is adaptálódik a szervezet, ebből arra lehet következtetni, hogy az oxidálás iránya a teljes Krebs—Szent-Györgyi-féle trikarboxilsav ciklus.

Érkezett: 1953. július 31.

### Irodalom

1. Ajl, S. J.: J. Bact., **59**, 499, 1950.
2. Campbell, J. J. R., Norris, F. C. & Stokes, F. N.: J. Biol. Chem. **190**, 853, 1951.
3. Hartmann, W. J. & Kalnitsky, G.: Arch. Biochem. **26**, 6, 1950.
4. Karlson, J. L. & Barker, H. A.: J. Biol. Chem. **175**, 913, 1948.
5. Kramer, N. & Doetsch, R. N.: Arch. Biochem. **29**, 187, 1950.
6. Kricman, M. G.: Mikrobiológia, **21**, 480, 1952.
7. Martius, C. & Lynen, F.: Adv. Enzymology, **10**, 167, 1950.
8. Massart, L. & Dufait, R.: Enzimológia, **6**, 282, 1938. cit. Massart, L.: Enzyme inhibitors. Sumner, J. B. & Myrbäck, K.: The Enzymes, I. 1. 307, 1950.
9. Monod, J.: Ann. Rev. Microbiol. **3**, 371, 1949.
10. Perkins, D. D.: Genetics, **34**, 607, 1949.
11. Runnström et al.: Arkiv. Kem. **13a**, No. 22, 1940. cit. Massart, L.: Enzyme inhibitors. Sumner, J. B. & Myrbäck, K.: The Enzymes, I. 1. 307, 1950.

12. Stanier, R. J.: J. Bact. 54. 339, 1947.
13. Stanier, R. J.: Ann. Rev. Microbiol. 5. 35, 1951.
14. Szulmajster, J.: Biochim. Biophys. Acta. 5. 513, 1950.
15. Warburg, O. & Christian, W.: Biochem. Z. 310. 348, 1942. cit. Massart, L.: Enzyme inhibitors. Sumner, J. B. & Myrbäck, K.: The Enzymes, I. 1. 307, 1950.
16. Cold Spring Harb. Symp. on Quant. Biol. 11. 302, 1946.

## СВЯЗЬ МЕЖДУ РОСТОМ И ОБМЕНОМ ВЕЩЕСТВ У *USTILAGO MAYDIS*

### 1. ВЛИЯНИЕ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ВЕЩЕСТВ ЦИКЛА РЕСПИРАЦИИ НА РОСТ ПОПУЛЯЦИИ

К. Сенде.

Отдел Генетики Агробиологического Института Академии Наук Венгрии, Будапешт

#### Выводы

Автором сделаны выводы из роста клеточной массы *Ustilago maydis* под влиянием промежуточных веществ цикла Krebs-Сент-Дерди как источников углерода, и ферментативных ядов, а также из исследований по симультанной адаптации, — в отношении отдельных этапов процессов обмена веществ *in vivo*, в первую очередь в отношении хода конечного окисления. Методической и теоретической основой служила обобщающая работа Монод-а (9).

При использовании кислот цикла респирации было установлено, что лимонная и яблочная кислоты непригодны для субстратов при изменении условий диссоциации или устранении ионов, конкурирующих использованием. В том случае, когда вышеуказанные две кислоты были даны совместно с сахарозой, они даже тормозили использование последней — особенно лимонная кислота, влияние которой на рост появлялось уже при концентрации  $1,2 \cdot 10^{-3}$  мол лимонной кислоты. Причина этого специфического поведения является объектом дальнейших исследований.

Из ферментативных ядов *in vivo* доступно было место воздействия CN: под влиянием, толудициной синей краски как акцептора H уменьшается торможение CN и, таким образом, допустимо, что с торможением последней доставки электронов сокращается также и рост Фторид не является специфической, а малоновая кислота также нет — в применяемой и еще тормозящей концентрации (0,2 мол).

Направление конечного окисления было установлено методом симультанной адаптации. Для определения степени адаптации служил не более широко применяемый метод Варбурга, а сокращение продолжительности фазы «лаг» на основе МОНОД-а. Полученные сокращения  $T_1$  четко выражено появились в первую очередь при пирро виноградной, янтарной и кето-глутаровой кислотах. Итак можно допустить, что все эти три кислоты являются промежуточными звеньями в процессе конечного окисления, представляющей таким образом полный цикл трехосновной карбоновой кислоты по Krebs-Сент-Дерди.

Рис. 1. А: общий рост (G) *U. maydis* и В: коэффициент роста (K) его же, в трех исследованиях роста, поставленных в различные сроки и при разных органических кислотах в качестве источников углерода. Концентрации источников углерода (C): сахароза (S) — 0,02 мол; органические кислоты:  $\alpha$ -кетоглутаровая кислота ( $\alpha$ -kGS) уксусная кислота (ES), пирро виноградная кислота (PS), янтарная кислота (BS), лимонная кислота (CS), яблочная кислота (AS) — 0,05 мол. Величина pH — 6,8. Измерено фотометром Ланге, в пробирках. Величины даны в экстинкции (E).

Рис. 2. Влияние смешанных источников углерода на общий рост *U. maydis*. Концентрации источников углерода: сахароза (S) — 0,02 мол; яблочная (AS) и лимонная (CS) кислоты — неодинаковые. Величина pH — 6,8. Измерено штуфен-фотометром, при толщине слоя в 1 см. Величины даны после роста за 24 часа в экстинкции (E).

Рис. 3. Влияние NaF на рост *U. maydis* при различных источниках углерода и изменяющейся концентрации F. (Условные знаки: см. рис. 1.) Измерено фотометром Ланге, в пробирках. Величины даны в динамике роста (R).

Рис. 4. Влияние 0,2 мол малоновой кислоты на рост *U. maydis*, при различных источниках углерода. Концентрации источников углерода: сахароза — 0,02 мол, кислоты — 0,05 мол. Величины pH — 6,8. Измерено фотометром Ланге, в пробирках. Величины даны в динамике роста (R).

Рис. 5. Кривые роста *U. maydis*, адаптированного на уксусную кислоту (10-я переливка) и выращенного на сахарозе, при различных источниках углерода, представляющих промежуточные звенья цикла Кребс-Сент-Дерди. Измерено фотометром Ланге. Величины даны в  $\log 2 1000 E$ . TIS-ES = сокращения фаза запоздания (в часах) из сопоставления величин  $T_1$  по клеткам, выращенным на уксусной кислоте (0-0-0) и сахарозе (●-●-●).

## Growth Relations in the Metabolism of *Ustilago maydis*. I. The Effects of Respiratory Intermediates on the Growth

K. SZENDE

Institute for Agrobiological of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest

### Summary

The growth characteristics of *Ustilago maydis* with the intermediate acids of the Krebs—Szent-Györgyi cycle as the sole source of carbon have been studied. Furthermore we have investigated the effects of some enzyme inhibitors on growth and the terminal respiratory patterns using the method of simultaneous adaptation. The strain examined was able to grow all the substrates tested. The strain failed however to metabolise citric and malic acid even not in the case when either the pH was lowered altering the conditions of dissociation or the ions were eliminated which may result a competition in the consumption of these acids.

The growth of the organism ceases when these acids were added in the presence of saccharose. The effect was greater with citric acid even in a concentration of  $1,2 \times 10^{-3}$  M. The cause of this behaviour is object of further studies.

The growth of the cells was inhibited strongly by CN, this inhibition was decreased in the presence of toluidin blue. From these results it is suggested that the growth is inhibited blocking the terminal electron transport.

The inhibition caused by *F* and malonic acid (0,2 M.) is not specific.

The direction of terminal respiratory patterns was examined with the application the method of simultaneous adaptation. The measure of adaptation according to MONOD was the shortening of the lagphase. This was significant when the cells were adapted to acetic-acid and grown with pyruvic-, succinic- and  $\alpha$ -keto glutaric acid. Since  $\alpha$ -keto-glutaric acid is a turning point in the Krebs—Szent-Györgyi tricarboxylic-acid cycle it would seen that the whole cycle is operating in the cells of *Ustilago maydis*.

*Fig. 1.* *Ustilago maydis* (A) growth, (B) coefficient of growth in three different experiments on different carbon sources. The concentration of carbon sources (C): saccharose (S) 0,02 M;  $\alpha$ -keto-glutaric ( $\alpha$ -kGS), acetic-(ES), pyruvic-(PS), succinic-(BS), citric-(CS) and malic acid (AS) 0,05 M. Initial pH 6,8. The data of growth (G) expressed in extinction. (Lange-photoelectric colorimeter, adapted to test tubes.)

*Fig. 2.* The effect of mixed carbon sources on the growth of organism during 24 hrs. Saccharose (S) 0,02 M. citric-(CS) and malic acid (AS) in varying concentrations. Initial pH 6,8. Data expressed in extinction. (Zeiss-Stufen photometer.)

*Fig. 3.* Effect of NaF on the growth with different carbon sources and with different *F* concentrations. The data expressed in growth rate (R).

*Fig. 4.* Effect of 0,2 M. malonic acid (MoS) on growth with different carbon sources. Saccharose 0,02 M. Organic acids 0,05 M. pH 6,8. Data expressed in growth rate (R).

*Fig. 5.* Simultaneous adaptation. Growth curves of cells transferred from medium with saccharose (S) and acetic acid (ES) respectively, to media with various intermediates of the Krebs—Szent-Györgyi cycle. Data expressed in  $\log 2 1000 \times E$ . TIS-ES = shortening of the lag-phase between cells grown with saccharose (●-●-●) and cells adapted to acetic acid (0-0-0).