УДК 547.466.582.283.23

СИНТЕЗ ПРОЛИНОКСИДАЗЫ У *SACCHAROMYCES VINI*: РЕГУЛЯЦИЯ ВВЕДЕНИЕМ РЕПРЕССИРУЮЩЕГО ФАКТОРА

Э. А. МАНТАШЯН

Экспоненциально выращенные на синтетической среде дрожжи вида *Saccharomyces vini* обладают выраженной пролиноксидазной активностью, индуцируемой пролином, и, не менее эффективно, орнитинном. Получены данные, свидетельствующие о подавлении синтеза пролиноксидазы аммонием.

Ключевые слова: дрожжи, азотный обмен, пролиноксидаза.

Окисление пролина, осуществляемое с помощью пролиноксидазы—первого фермента на пути деградации этой аминокислоты,—связано с превращением пролина в глутамат, и у разнообразных биологических систем оно осуществляется через образование пирролин-5-карбоксилата и превращение последнего в глутамат. Этот путь был обнаружен в растениях [6], у бактерий [3], мышей и человека [12]. Для *E. coli*, *Klebsiella aerogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Candida albicans* он четко описан как в intactных клетках, так и на частично очищенных препаратах [4, 7, 9, 10].

Нами сообщалось, что дрожжи вида *Sacch. vini*, культивируемые *in vitro* с пролином в качестве единственного источника азота и находящиеся в экспоненциальной фазе роста, обладают пролиноксидазной активностью. Увеличение активности последней зависело от концентрации пролина и носило линейный характер [1].

Относительно возможного влияния других источников азота на активность пролиноксидазы в литературе имеется крайне мало сведений. Брандريس и Магазаник получили данные о возможном индуцировании пролиндеградирующих ферментов аргинином и орнитинном у *Sacch. cerev*. Величина этой активности, обнаруженной в дрожжах при росте на аргинине или орнитине, была ниже, чем при росте на пролине, но достаточно высокой по сравнению с таковой неиндуцированной культуры [4].

У *Bacillus subtilis* при росте на аргинине, орнитине, пролине и аммонии пролиноксидазная активность наблюдалась лишь при росте на пролине, в то время как пирролин-5-карбоксилат-дегидрогеназа индуцировалась как пролином, так и (хотя и значительно слабее) аргинином и орнитинном [9].

Активность ферментов окисления пролина в пекарских дрожжах зависела от природы источника азота в ростовой среде и имела минимальную величину при использовании мочевины или аммония. Смесь мочевины + пролин обеспечивала 70% от максимальной активности, а аммоний + пролин—лишь 30%. Авторы пришли к выводу, что аммоний репрессирует пролинпермеазу дрожжей и тем самым—транспорт проли-

на в клетку, что ведет к снижению уровня пролиноксидазной активности [9].

Согласно литературным данным, аммоний репрессирует транспорт не только пролина, но и некоторых других аминокислот [8, 11, 13]. Подавление синтеза многих ферментов азотного катаболизма аммонием продемонстрировано на примере глутаматдегидрогеназы, треониндегидрогеназы, аргиназы, аллантоиназы, уреамидолазы и др. [5].

Целью настоящей работы явилось изучение индуцированного синтеза и репрессии пролиноксидазы в условиях, когда возможным индуктором выступали такие источники азота, как пролин, орнитин и их смесь, а репрессирующим фактором — ионы аммония.

Материал и методика. Объектом исследования служили интактные дрожжевые клетки вида *Sacch. vini* расы Кахури-7. Выращивание, состав среды, ход анализа велись по ранее описанной методике [1].

Получение индуцированной культуры осуществлялось следующим образом. Экспоненциально выращенные клетки (16 ч) тщательно отмывали от культуральной жидкости, ресуспендировали в свежей среде Ридер, содержащей в качестве источника азота либо аминокислоту, либо сульфат аммония в дозах, эквивалентных по азоту (мг на 100 мл): сульфат аммония—235; пролин—410; орнитин—301; пролин+орнитин—205+150. Дрожжи вновь подвергали аэрированию в течение 60 мин. По истечении указанного срока клетки отделяли центрифугированием, дважды промывали холодной водой, калий-фосфатным буфером 0,062 М рН 7,1, ресуспендировали в определенном объеме того же буфера и вводили в реакционную смесь, состав которой был описан ранее [2]. Время инкубации—2 ч в открытых сосудиках при постоянном перемешивании реакционной смеси. Остановка реакции—95%-ным охлажденным этанолом. И контрольные пробы последний приливали немедленно после внесения всех компонентов реакционной смеси. Пробы переносили на лед и через 3 мин центрифугировали при 5000 об/мин 10 мин. Активность пролиноксидазы определяли по убыли пролина реакционной смеси и выражали в микромолях израсходованного пролина на 100 мг абсолютно сухих дрожжей.

Результаты и обсуждение. Данные, представленные в табл. 1, показывают, что пролиноксидазы индуцируется пролином, но не менее эффективным индуктором выступает и орнитин. Уровень активности фермента при использовании комбинации пролин—орнитин составляет ве-

Таблица 1
Активность пролиноксидазы в культуре *Sacch. vini*, мкМоль пролина/100 мг дрожжей

Источники азота	Пролиноксидазы
NH_4^+	0
NH_4^+ + пролин	0
Орнитин	4,31
Орнитин + пролин	4,00
Пролин	4,40

личию, близкую к активности первых двух. В среде, содержащей аммоний или аммоний+пролин, активность отсутствует. Это, вероятно, является следствием репрессии пролиноксидазы аммонием.

В следующей серии экспериментов изучалось репрессирующее действие ионов аммония, взятых в различных концентрациях.

Таблица 2

Влияние ионов аммония на пролиноксидазную активность дрожжей *Sacch. vini*, мкМоль пролина/100 мг дрожжей

Источники азота		NH ₄ ⁺ мМоль	Пролиноксидаза	% репрессии
пролин	орнитин			
+	+	—	5,43	
+	+	0,001	4,34	20
+	+	0,005	4,30	20
+	+	0,010	4,15	23
+	+	0,030	2,04	62
+	+	0,060	1,97	63
+	+	0,100	0,85	84

Таблица 3

Влияние ионов аммония на пролиноксидазную активность дрожжей *Sacch. vini*, мкМоль пролина/100 мг дрожжей

Источники азота		NH ₄ ⁺ мМоль	Пролиноксидаза	% репрессии
пролин	орнитин			
+	+	—	6,49	
+	+	0,010	5,05	22
+	+	0,030	3,36	48
+	+	0,050	2,64	59
+	+	0,070	2,76	58
+	+	0,090	3,24	50
+	+	0,150	2,41	63

Таблица 4

Влияние ионов аммония на пролиноксидазную активность дрожжей *Sacch. vini*, мкМоль пролина/100 мг дрожжей

Источники азота		NH ₄ ⁺ мМоль	Пролиноксидаза	% репрессии
пролин	орнитин			
+	—	—	3,20	
+	+	—	3,63	
+	+	—	4,13	
+	+	0,100	1,37	65
+	+	0,200	0,32	92
+	+	0,300	0	100
+	+	0,400	0	100
+	+	0,500	0	100

Как показывают представленные данные, степень окисления пролина полностью отражает природу избранного источника азота. В литературе не описан факт индукции пролиноксидазы орнитинем у винных дрожжей, однако можно предположить, что универсальный механизм трансаминирования орнитина, ведущий к образованию пирролин-5-карбоксамата, а от него к пролину, приводит к увеличению внутриклеточного пролина, что, в свою очередь, способствует увеличению пролиноксидазной активности.

Косвенно это подтверждается нашими неопубликованными данными, согласно которым при росте дрожжей на экзогенном орнитине в условиях получения индуцированной культуры величина внутриклеточного аминокислотного пула не уступала таковой при росте как на экзогенном пролине, так и на смеси пролин+орнитин.

Как видим, пролиноксидазная активность может быть снижена или полностью снята по мере возрастания концентрации ионов аммония. Нам удалось показать репрессию на 20% при низких концентрациях аммония и на 80—90% при внесении 0,1—0,5 мМоль аммония.

Ереванский государственный университет,
проблемная лаборатория сравнительной и эволюционной биохимии

Поступило 16.V 1983 г.

ՊՐՈԼԻՆՕՔՍԻԴԱԶԱԻ ՍԻՆԹԵԶԸ SACCHAROMYCES VINI
ԽՐՈՐԱՆԿԵՐՈՒՄ ԵՎ ՆՐԱ ԿԱՐԳԱՎՈՐՈՒՄԸ ՌԵՊՐԵՍՈՐ
ԳՐՐԾՈՆԻ ՆԵՐՄՈՒԾՄԱՐԸ

Է. Ա. ՄԱՆՏԱՇԻԱՆ

ՄինՔնտիկ միջավայրում աճեցված Լքսպոնենցիալ Ֆազայում գտնվող *Saccharomyces vini* խմորասնկերն օժտված են արտահայտված պրոլինօքսիդազային ակտիվությամբ, որն ինդուկցվում է պրոլինով և ոչ պակաս չափով՝ օրնիտինով:

Ստացված արվյալները վկայում են, որ պրոլինօքսիդազային ակտիվությունն ընկճվում է ամոնիակի իոններով:

SYNTHESIS OF PROLINE OXIDASE IN *SACCHAROMYCES VINI*:
REGULATION BY THE INTRODUCTION OF REPRESSING FACTOR

E. A. MANTACHIAN

Wild type strains of *Saccharomyces vini*, exponentially grown in synthetic medium, possess expressed activity of proline oxidase under the induction by proline and ornithine. The obtained data testify to the suppression of proline oxidase activity by ammonia.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Манташян Э. А. Биолог. ж. Армения, 32, 8, 1979.
2. Манташян Э. А. Биология, межвуз. сб. научн. тр., вып. 1, 1979.

3. Adams E. and Frank L. Ann. rev. biochem., 49, 1905, 1980.
4. Brandriss M. C. and Magasanik B. J. of Bacteriol., 140, 2, 499, 1979.
5. Duhois E. Revue des fermentations et des industries alimentaires, 34, 2, 46, 1979.
6. Elthon T. E. and Stewart C. R. Plant Physiol., 67, 780, 1981.
7. Frank L. and Ryhlicki P. Archives of Biochem. and Biophys., 95, 441, 1961.
8. Grenson M., Ilou C. and Crabeel M. J. Bacteriol., 103, 770, 1970.
9. Hauwer G., Lavallo R. et Wiame J. M. Biochim. Biophys. Acta, 81, 257, 1964.
10. Jayakumar A., Singh M. and Prasad R. Biochim. Biophys. Acta, 595, 114, 1979.
11. Kuznar J., Schwencke J. and Magana-Schwencke N. Biochim. Biophys. Acta, 318, 273, 1973.
12. Meister A. Biochemistry of amino acids, New-York, 1965.
13. Schwencke J. and Magana-Schwencke N. Biochim. Biophys. Acta, 173, 302, 1969.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVII, № 1, 1984

УДК 631.811.98:631.6

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ТУР НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ, ВОЗДЕЛЫВАЕМОЙ НА МЕЛИОРИРОВАННЫХ ПОЧВАХ СОДОВОГО ЗАСОЛЕНИЯ

Г. П. ПЕТРОСЯН, С. М. АРАЗЯН

Установлено, что опрыскивание посевов озимой пшеницы хлорхлоридом тур и начале выхода растений в трубку в условиях орошения и особенно при поливе дождеванием предотвращает полегание хлебов и обеспечивает повышение урожая зерна.

Ключевые слова: почвы мелиорированные, озимая пшеница, тур, полив дождеванием.

При формировании урожая озимой пшеницы в условиях повышенной влажности в результате полегания растений снижаются урожайность и хлебопекарные качества зерна. Полегание хлебов более ощутимо при поливе дождеванием. По результатам исследований, проведенных в 1976—1979 гг. на мелиорированных почвах, у сорта озимой пшеницы Кангун 20 при поливе дождеванием в зависимости от времени и степени полеганности потери зерна составили 20—35%.

Полегание зерновых успешно предотвращается при опрыскивании посевов ретордантом роста—хлорхлоридом тур. Однако действие на продуктивность озимой пшеницы, возделываемой на мелиорированных почвах содового засоления, в условиях орошения дождеванием не изучено.

Материал и методика. Исследования по определению эффективности воздействия препарата тур на продуктивность озимой пшеницы сортов Аврора и Кангун 20 проводились в 1981—1982 гг. при поливе изпуском по полосам и дождеванием на территории Ерасхаунской мелиоративной станции Института почвоведения и агрохимии МСХ АрмССР.

Почва экспериментального участка представлена мелиорированным содовым солонцом-солянком с среднесуглинистым механическим составом. Слабоминерализованные грунтовые воды залегают на глубине 3,0 м, содержание солей не превышает 1,5—2,0 г/л. Сумма легкорастворимых солей в метровой толще варьирует в пределах