

БИОХИМИЯ

М. А. Тер-Карпетян, чл.-корресп. АН Армянской ССР,
А. М. Оганджян и Б. А. Акопян

О каталазной активности дрожжевых организмов
(Представлено 22 X 1954)

Каталаза—фермент, содержащийся в большинстве аэробных, во многих факультативных анаэробных микроорганизмах и вообще отсутствующий у строгих анаэробов (^{1,2}).

Установлено изменение каталазной активности у некоторых организмов в зависимости от условий культивирования и степени аэрации. Установлено также, что содержание каталазы значительно повышается у факультативных анаэробов при их развитии в условиях доступа воздуха (³). Особенно интересны факты проявления каталазной активности у строгих анаэробов (*Bac. perfringens*) в процессе их культивирования в аэробных условиях (⁴).

Изменение каталазной активности дрожжевых организмов в зависимости от степени аэробноза мало известно. Эйлер и сотрудники (^{5,6}) показали, что активность верхневых дрожжей превосходит активность низовых дрожжей.

Селибер и Пятова (⁷) показали, что каталазная активность дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, культивированных в жидком пивном сусле, тем выше, чем тоньше слой жидкости, что обуславливается большим доступом воздуха.

Елизарова и Мейсель (⁸) обнаружили, что при аэробном культивировании дрожжей *Endomycetes magnusii* в жидкой среде, лишенной витамина В₁, каталазная активность падает до нуля.

В настоящей работе нами изучена сравнительная каталазная активность дрожжей из рода *Saccharomyces* и *Torulopsis* и изменение ее в различных условиях аэрации культуральной среды.

Методика исследования. В качестве объекта исследования служили дрожжи *Saccharomyces ellipsoideus* и штамм из рода *Torulopsis*, описанный под названием *Torulopsis armeniacae* (⁹) из музейных культур нашей лаборатории. Средой для культивирования служили пивное сусло с концентрацией мальтозы 5%, синтетическая среда с глюкозой и экстрактом солодовых ростков и среда, содержащая этиловый спирт —15%, уксусную кислоту —0,6%, янтарную кислоту —0,2%, лимонную кислоту —0,2% и винную кислоту —0,4%. Кислотность первых двух сред колебалась от pH—4,5—5, а последней —от pH —3—3,5.



Аэробное культивирование производилось на твердой среде с сусло-агаром, в жидкой среде—методом погруженной диспергированной культуры в инокуляторе с пропеллером при обильной аэрации среды⁽¹⁰⁾ и на поверхности жидкой среды, содержащей этиловый спирт и органические кислоты (пленочная культура).

Анаэробное культивирование производилось в стеклянных трубках диаметром в 30 мм и высотой столба в жидкости в 1 м. Такая высота жидкости для культуры, внесенной с нижней стороны трубки, практически создает условия достаточного анаэробноза.

Экспериментальные результаты были оценены следующим образом: размножение дрожжевых клеток методом подсчета в камере Горяева, редуцирующие сахара—микрометодом Феррицианида. Каталазная активность—иодометрически, путем титрования $N/100$ тиосульфата натрия оставшейся перекиси водорода после действия на нее живых и убитых кипячением на водяной бане (контроль) дрожжевых клеток. Разница между двумя титрованиями подсчитывалась по формуле:

$$k = \frac{2.303}{t} \log \frac{c_0}{c} \text{ и } A = \frac{K}{p}, \text{ где}$$

t —время действия каталитической системы в минутах; c_0 и c —концентрации H_2O_2 в начале и в конце действия каталитической системы; p —сухой вес дрожжей в граммах. K —константа скорости реакции распада H_2O_2 ; A —активность.

Ниже приведены результаты наших исследований, часть которых была сообщена ранее⁽¹¹⁾.

1. Каталазная активность дрожжей *Saccharomyces ellipsoideus* и ее изменения. Исследования проводились с культурами, развивающимися на сусло-агаре, на поверхности жидких сред (пленочная культура) и в анаэробных условиях в длинных трубках. Результаты приведены в табл. 1.

Полученные результаты показывают следующее:

а) аэробные культуры на агаре по сравнению с пленочной и анаэробно бродящей культурой имеют более высокую каталазную активность;

б) в условиях анаэробного обмена одновременно с морфофизиологической перестройкой бродящих клеток⁽¹²⁾ происходит падение каталазной активности, иногда до нуля;

в) изменение каталазной активности при разных степенях аэрирования оказалось легко обратимым процессом, поскольку оно колеблется в направлении как угнетения, так и повышения.

2. Каталазная активность дрожжей *Torulopsis armeniaca* и ее изменения. Дрожжи, описанные под названием *Torulopsis armeniaca*, были культивированы как на сусло-агаре, так и в жидкой среде при обильной аэрации и в длинных трубках в условиях анаэробноза.

Результаты исследований приведены в табл. 2.

Полученные результаты показывают следующее:

1. Применяемый штамм *Torulopsis* обладает высокой каталазной активностью.

2. В жидкой аэрированной среде каталазная активность падает в некоторой степени, но все же еще остается высокой.

Таблица 1

Штамм *Saccharomyces ellipsoideus*, температура $-22^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$

Дата опытов	Варианты культур	Сухой вес дрожжей в мг	S ₂ O ₃ -- N/100 при титровании H ₂ O ₂ в мл			К	А
			без дрож.	при действии кипяч. дрож.	при действии свежих дрож.		
3/IV 1952	Исходная культура сусло-агар (1)	15,6	6,35	5,95	5,30	0,0115	0,737
	Пленка из исходной культуры	25,0	6,10	5,85	5,10	0,0059	0,236
	Бродящая культура в сусле из исходной культуры	25,0	6,10	5,80	5,75	0	0
	Пересев на сусло-агар из исходной (2) культуры	17,7	6,04	4,35	3,90	0,0112	0,632
23/IV 1952	Исходная культура сусло-агар (-) оп. 3/IV						
	Пленка из исходной культуры	24,6	5,75	5,50	4,85	0,0124	0,503
	Бродящая культура из исходной культуры	23,1	5,82	5,74	5,10	0,0118	0,498
	Пересев на сусло-агар из пленки оп 3/IV	11,8	6,30	5,55	5,05	0,0928	0,786

3. В жидкой среде, в условиях анаэробного культивирования каталазная активность резко падает, даже до нуля.

Вышеприведенные данные указывают на большую лабильность каталазной активности дрожжевых организмов в зависимости от условий аэробноза или анаэробноза. Активность организмов, приспособленных к более анаэробным условиям жизни (шт. *Saccharomyces*), вообще ниже активности организмов, развивающихся в условиях продолжительного аэробноза (шт. *Torulopsis*).

Нами показано, что в условиях наших опытов падение каталазной активности, в качестве очень раннего признака, сопутствует переходу от аэробного типа жизнедеятельности к анаэробному.

Культивирование на агаре в аэробных условиях оказалось наиболее способствующим повышению каталазной активности дрожжей. Дрожжи из пленочной культуры, где имеется одностороннее соприкосновение с жидкой средой, и из погруженных в жидкой среде

культур даже при обильной аэрации обладают меньшей активностью каталазы.

Наши опыты на штамме из рода *Torulopsis* показывают, что в жидкой аэрированной среде каталазная активность сохраняется в течение нескольких генераций, в то время как в анаэробных условиях

Таблица 2

Штамм *Torulopsis*, температура $-34 \pm 1^{\circ} \text{C}$.

Дата опыта 6/VI-1952	Сухой вес дрожжей в 3 мл мг	S ₂ O ₂ --N/100 при титров. Н ₂ O ₂ мл			К	А	Р.В. среды ‰		Число кле- ток в млн.		генерация
		без дрожжей	при действии ки- пачен. дрожжами	при действии свеж. дрожжами			начало	конец	начало	конец	
Исходный штамм для всех — агар.	13,2	6,40	6,20	3,05	0,0710	5,36					
	Аэробные варианты										
Синтетическая среда + дрожже- вая вода	28	6,40	6,10	3,01	0,0706	2,52	2,0	0,28	20	361	4—5
Синтетическая среда + ростки	30	6,40	6,05	1,42	0,145	4,85	2,0	0,07	20	180	3—4
	Анаэробные варианты										
Синтетическая среда + дрожже- вая вода	15	5,55	5,42	5,35	0	0	5,0	4,46	20	63,5	1
Синтетическая среда + ростки	23	6,45	6,30	6,20	0	0	5,0	0,23	20	43,0	1
Сусло	16	6,45	6,30	6,08	0,0032	0,20	5,0	0,69	20	70,7	1

падение активности начинается с первой генерации. Это свидетельствует, о том, что изменение активности в направлении возбуждения или торможения, связанное со степенью аэрации, механически трудно приписать биосинтезу или разложению каталазы в живой клетке. Повидимому, необходимо учесть возможность перехода этого фермента от активной формы к неактивной и обратно. Эта последняя гипотеза подвергается детальному исследованию в нашей лаборатории.

Институт животноводства
Министерства сельского хозяйства
Армянской ССР

ԴՐՈՓԱՅԻՆ ՕՐԳԱՆԻԶՄՆԵՐԻ ԿԱՌԱՎԱՐԱԿԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ

Կատալազան մի ֆերմենտ է, որը տարածված է անոթ միկրոօրգանիզմներում, ֆա-
կուլտատիվ անաերոբներում և բացառությամբ է խիստ անաերոբների մեջ (1,2):

Կատալազային ակտիվության փոփոխությունը կապված միկրոօրգանիզմների մշակ-
ման պայմաններից և միջավայրի անբացիտային աստիճանից, հաստատված է որոշ օրգա-
նիզմների համար: Հաստատված է նաև, որ կատալազայի սպարունակությունը ֆակուլտա-
տիվ անաերոբ միկրոօրգանիզմների մոտ զգալիորեն աճում է, երբ նրանք զարգանում են
անոթ սպյամաններում (3):

Հատկապես հեռաբրբրական են օդի առկայությամբ կատալազայի ակտիվության
հայտնաբերումը խիստ անաերոբների մոտ (*Bac. perfringens*): Քիչ են հայտնի դրոժային
օրգանիզմների կատալազային ակտիվության փոփոխությունները, կապված աերոբիոդի ա-
ստիճանի հետ (3, 4, 5, 6):

Ցվյալ աշխատանքում մեր կողմից անբացիտային տարրեր աստիճանի պայմաններում
ուսումնասիրվում են *Saccharomyces* և *Torueopsis* ցեղի դրոժների կատալազայի ակտիվու-
թյունը և վերջինի փոփոխությունները:

Մեր հետազոտությունների արդյունքները բերված են 1 և 2 աղյուսակներում,
որոնք ցույց են տալիս հետևյալը՝ *Saccharomyces* դրոժների ուսումնասիրության ղեպ-
քում:

1. Աղարի վրա զարգացած կուլտուրան համեմատած թաղանթային և անաերոբ կուլ-
տուրաների հետ, ունի ավելի բարձր կատալազային ակտիվություն:

2. Անաերոբ պայմաններում խմորվող բջիջների մորֆո-ֆիզիոլոգիական փոփոխու-
թյունների հետ միատեղ գնում է կատալազային ակտիվության անկում, որը երբեմն
հասնում է 0-ի:

3. Կատալազայի ակտիվության փոփոխությունը աերոբիոդի տարրեր աստիճաննե-
րում հեշտ հետադարձվող պրոցես է, քանի որ նա գնում է և ղեպի անկում և ղեպի
բարձրացում:

Torulopsis դրոժների ուսումնասիրության ղեպքում.

1. *Torulopsis*-ի շտամն ունի կատալազային բարձր ակտիվություն: Հեղուկ միջա-
վայրում, ուժեղ անոթ սպյամաններում տեղի է ունենում կատալազայի ակտիվության
թեթև անկում:

2. Հեղուկ միջավայրում անաերոբ պայմաններում տեղի է ունենում կատալազա-
յին ակտիվության մինչև 0-ի անկում:

Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ դրոժային օրգանիզմների կատալազային
ակտիվության լարիլությունը կախված է աերոբիոդի և անաերոբիոդի պայմաններից:

Մեր կողմից ցույց և տրված, որ մեր պայմաններում կատալազայի ակտիվության-
անկման հետ համընթաց տեղի է ունենում նաև բջիջների աերոբ ձևից անաերոբ ձևի
անցումը:

Աղարի վրա դրոժների անոթ մշակման պայմաններում կատալազային ակտիվու-
թյունը հասնում է իր բարձրագույն աստիճանին: Մեր փորձերը *Torulopsis* շտամի վրա
ցույց են տվել, որ հեղուկ միջավայրում, աերոբ պայմաններում կատալազային ակտիվու-
թյունը սահմանվում է մի քանի գեներացիաների ընթացքում, մինչդեռ անաերոբ պայ-
մաններում նրա ակտիվության անկումը տեղի է ունենում մի գեներացիայի ընթաց-
քում: Հետևապես կատալազային, ակտիվության փոփոխությունը ղեկավար է մեխանիզմներ
վերադրել կատալազայի ռիոսինթեզին, կամ քայքայմանը, այլ հարկավոր է հաշվի առնել
նաև այդ ֆերմենտի ակտիվ ձևից ոչ ակտիվ ձևի անցումը և հակառակը: Այդ վերջին
հիստիոնի ուսումնասիրությունը մեզ մոտ շարունակվում է:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

¹ А. Орла-Иензен, Zbt. f. Bakteriол (1907), 18, 211. по Н. von Euler, Chemie der Enzyme (1934), 2, 65. ² А. Клувер, Z. f. Physiol. Chem. (1924), 138, 100. ³ Д. и М. Ривов, Zbt. f. Bakteriол (1907), 1, 44, 295. ⁴ С. Муромцев, Ж. Микробиологии и иммунологии, 7, 1, 53, 1930. ⁵ Г. Эйлер и Г. Финк, Z. Physiol. Chem. (1927), 169, 10. ⁶ Г. Эйлер и Боргеништам, Biochem. Z. (1920), 102, 124. ⁷ Г. Селибер и Ц. Пятова, Изв. Научн. ин-та. им. Лесгафта. 20, 3, 105, 1937. ⁸ С. Елизарова и М. Мейсель, ДАН СССР, 64, 697, 1949. ⁹ Ф. Саруханян, Микробиологический сборник, 1, 97, 1943. ¹⁰ М. А. Тер-Карапетян, Изв. АН АрмССР, 3, 5, 433, 1950. ¹¹ Б. А. Акопян, О некоторых особенностях каталазной активности дрожжей рода *Torulopsis*. Дипл. работа Ерев. гос. унив., 1953. ¹² М. Н. Мейсель, Функциональная морфология дрожжевых организмов, М, 1950.