

В. С. ШАПОВ и А. М. ВИТРИНСКАЯ

**О ПОДАВЛЕНИИ КИСЛОРОДОМ ВОЗДУХА БРОДИЛЬНОЙ
СПОСОБНОСТИ У *TORULA UTILIS***

(Представлено академиком Б. Л. Исаченко 22 V 1948)

Пастер, обнаружив подавление брожения в присутствии кислорода воздуха (эффект Пастера), открыл по существу новую биологическую функцию кислорода — воздействие его на самый характер и направленность процессов обмена веществ.

Сейчас имеются все основания полагать, что окислительным превращениям с участием кислорода воздуха могут подвергаться не только субстраты, но и молекулы самих ферментов, результатом чего в ряде случаев является обратимое изменение их активности, которое наступает в присутствии кислорода и исчезает после его устранения. Из этих наблюдений возникает новый аспект в понимании сущности влияния кислорода на обмен веществ клетки. Кислород выступает не только как участник, как необходимое условие для осуществления дыхания, но и как физиологический регулятор клеточного метаболизма⁽¹⁾. Это положение могло получить дополнительные обоснования, если бы удалось выявить возможность длительного необратимого инактивирующего воздействия кислорода на ферментативные системы цельных неповрежденных клеток, иными словами, получить стойкие для данной генерации изменения активности ферментов.

В этом отношении нам показались обнадеживающими опыты И. Буромского⁽²⁾, который воспитывал дрожжи на минеральной среде с добавлением в качестве источника углерода органических кислот вместо сахара. Отсутствие субстрата для ферментов зимазного комплекса во время выращивания приводило к утрате у таких дрожжей самой способности сбраживать сахар.

Мы поставили себе целью достигнуть того же результата принципиально иным путем, а именно: заставить дрожжевую клетку потерять бродильную способность, не лишая ее привычного физиологического субстрата — сахара.

Мы исходили при этом из следующих соображений. Клетка, обладающая 100% пастеровским эффектом и выращенная в условиях предельной аэрации*, не будет иметь возможность сбраживать сахар среды благодаря полному подавлению брожения кислородом воздуха. Иными словами, окружающий клетку сахарный раствор станет фактически недоступным для сбраживания, что будет в определенном отношении равнозначно его отсутствию. В результате бродильная способность клетки должна либо полностью исчезнуть, либо в значительной мере понизиться.

* Тонкой пленкой на сусло-агаре в чашках Петри;

В качестве объекта были избраны „дикие дрожжи“ *Torula utilis*, обладающие ярко выраженным пастеровским эффектом и в то же время высоко пластичные. Нами была использована музейная культура *T. utilis**. Опытная культура выводилась из одной клетки, выделенной из музейной культуры.

Методика. Чистая культура *Torula utilis* с косо́го сусло-агара высевалась в пробирку с жидким суслom (4° Боме). Через сутки содержимое пробирки взбалтывалось, суспензия рассевалась на чашки Петри (по 2 капли в чашку) с сусло-агаром. Одна серия чашек помещалась в вакуум-эксикатор, который после эвакуации, для создания анаэробных условий, заполнялся либо углекислотой, либо смесью азота (95%) и углекислоты (5%), и выдерживалась в термостате при 28°С в течение 48 час. Другая серия чашек оставлялась на воздухе такое же время при той же температуре. Первая серия служила контролем. Перед опытом дрожжи трехкратно промывались водопроводной водой и после centrifугирования отпрессовывались на фильтре. Из них готовилась 0,5% суспензия на фосфатном буфере (рН = 6,45), содержащая 2% глюкозы.

О бродильной способности дрожжей судили по анаэробному брожению, которое измерялось в респирометре Варбурга (28°) в атмосфере CO₂ или N₂. Дыхание измерялось в том же приборе. Величины дыхания и анаэробного брожения обозначались в общепринятых единицах, соответственно Q_{O₂} и Q^{CO₂}_{CO₂} или Q^{N₂}_{CO₂}.

Изучение обмена полученных клеток подтвердило наши предположения (табл. 1).

Таблица 1
Анаэробное брожение

Даты опытов	Q _{CO₂}		Q ^{N₂} _{CO₂}	
	Условия выращивания			
	в CO ₂	в воздухе	в N ₂	в воздухе
14 VI 1947	174	23	—	—
5 II 1948	103	0	—	—
9 IV 1948	—	—	290	22
16 IV 1948	—	—	272	0

У дрожжей, выращенных при максимальной аэрации, бродильная способность оказывалась либо резко подавленной по сравнению с контрольными, культивированными в атмосфере углекислоты, либо исчезала вовсе. В последнем случае возникал, следовательно, новый физиологический тип клеток, обладающих совершенно несвойственным дрожжам односторонним—окислительным обменом, т. е. клетки, только дышащие, но не бродящие.

Вместе с тем, по интенсивности дыхания они не отличались сколько-нибудь существенно от контрольных (табл. 2).

Таким образом, кислород воздуха оказался в наших опытах фактором, оказывающим глубокое и длительное воздействие на характер обмена последующих генераций, на состояние их ферментных связей.

Для подхода к механизму явления важно было выяснить, закрепляются ли наследственно возникшие физиологические изменения или можно по желанию управлять обменом последующих генераций и, создавая противоположные прежним условия аэрации, получить новые физиологические типы клеток, отличающиеся от исходных. В следующей серии опытов мы предприняли „перекрест“, т. е. из дрожжей аэробных, выращенных на воздухе, получали двухсуточную культуру, выдерживая их в атмосфере углекислоты, и, наоборот, ана-

* Коллекция кафедры микробиологии Ленинградского государственного университета.

эробные дрожжи помещали на воздух. В некоторых случаях для дополнительного контроля мы из аэробных и анаэробных дрожжей выводили новые генерации, сохраняя для них первоначальные условия аэрации (см. схему).

Из табл. 3, где представлены результаты некоторых опытов из этой серии, следует, что экспериментально вызванные изменения обмена в дрожжевых клетках наследственно не закрепляются. Напротив, удается очень легко снова „переделывать“ полученные генерации соответственно заданным условиям снабжения кислородом. Например, в опыте 29 I аэробно выращенные дрожжи с $Q_{CO_2} = 26$

Таблица 2

Дыхание *Torula utilis*

Даты опытов	Q_{O_2}			
	Условия выращивания			
	в CO_2	в воздухе	в N_2	в воздухе
27 X 1947	86	71	—	—
27 II 1948	64	62	—	—
16 IV 1948	—	—	86	83
28 IV 1948	—	—	68	71

Условия выращивания

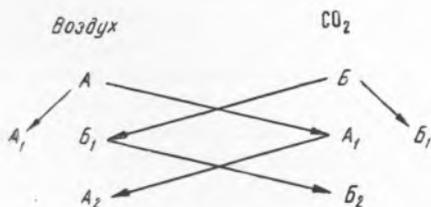


Таблица 3

Даты опытов	Q_{CO_2}					
	Условия выращивания					
	воздух	CO_2	воздух ↓ CO_2	CO_2 ↓ воздух	воздух ↓ воздух	CO_2 ↓ CO_2
6 X 1947	85	129				
8 X 1947					→16	100
10 X 1947			↓82	49←		
22 X 1947	50	133				
24 X 1947					→27	100
26 X 1947					20←	
1 XII 1947	0	82				
3 XII 1947					→45	16
29 I 1948	26	139				
31 I 1948					→112	15

после помещения их в атмосферу углекислоты дали новую генерацию, к которой вернулась высокая бродильная способность ($Q_{CO_2}^{CO_2} = 112$). В то же время из анаэробно выращенных клеток с высоким $Q_{CO_2}^{CO_2} = 139$ выведены в условиях максимальной аэрации почти не бродящие клетки ($Q_{CO_2}^{CO_2} = 15$).

Эти опыты побуждают нас предполагать, что подавление кислородом бродильной способности *Torula utilis* вызвано не исчезновением зимазного комплекса, а необратимым для данной генерации инактивированием какого-то ферментативного звена этого комплекса.

Институт экспериментальной медицины
Академии Медицинских Наук СССР

Поступило
21 V 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. С. Шапот, Диссертация, Ленингр. гос. ун-т, 1947. ² И. Буромский, Изв. Моск. с.-х. ин-та, 21, 42 (1916).