Zeitschrift: Archives des sciences physiques et naturelles

Herausgeber: Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève

Band: 15 (1933)

Artikel: Réduction du bleu de méthylène par la levure (endomyces) au dépens de ses H2-donateurs endocellulair es

Autor: Chodat, Fernand / Junquera, Miguel

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-740615

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 08.08.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

5. — Remarquons que toutes les formules précédentes font varier les rayons dans les mêmes rapports. Elles semblent donc satisfaisantes, tant qu'il s'agit de comparaisons d'étoiles entre elles. Les résultats absolus, par contre, sont décevants et le resteront tant qu'on ne sera pas mieux renseigné sur la sensibilité spectrale des récepteurs utilisés.

Observatoire de Genève.

Fernand Chodat et Miguel Junquera. — *Réduction du bleu de méthylène par la levure* (Endomyces) *aux dépens de ses* H_2-*donateurs endocellulaires.*

On peut aborder l'étude de la déshydrogénation effectuée par la levure ou d'autres cellules, de deux manières: analyse des systèmes « redox » en jeu ou examen des enzymes responsables de ces réactions.

Il n'est cependant pas possible d'étudier séparément ces deux parties du problème.

Pluralité des réductases.

La levure respire et fermente; il est malaisé de la contraindre à n'effectuer que l'une ou l'autre de ces fonctions, tant la vitesse avec laquelle l'acte respiratoire peut succéder à l'acte fermentaire est grande. Beaucoup des déterminants qui président à cette alternance des mécanismes biologiques libérateurs d'énergie, nous sont inconnus.

L'éventualité même d'une simultanéité des deux procès n'est pas exclue.

Si, pour simplifier, nous ne considérons que l'acte fermentaire, nous constatons, parmi les nombreuses phases intermédiaires qui séparent le sucre stable de l'alcool, deux [1] stades au moins caractérisés par des procès de déshydrogénation: la réduction des hexoses-phosphates et celle du méthylglyoxal hydraté.

[1] Sans tenir compte des phénomènes de translocation d'hydrogène, qui accompagnent la transformation de l'hexose labile en méthylglyoxal.

Le même ferment déshydrogénant intervient-il dans ces deux actes d'oxydation ?

La notion des co-ferments permet, dans une certaine mesure, de répondre à cette question.

On sait, à la suite des travaux de Euler et Nilsson, que la co-zymase active la réduction qui se passe au niveau du méthylglyoxal (rédoxase des hydrates de carbone). Il semble, en outre, que l'acide adénylpyrophosphorique (principe actif de la co-zymase) active également la déshydrogénation des hexoses-phosphates.

Les ferments réducteurs des deux stades mentionnés, sont activés par un co-ferment, qui peut être le même pour les deux enzymes.

Ces constatations sont en faveur du principe de l'identité des deux réductases, mais ne suffisent cependant pas à la démonstration de ce principe.

Pluralité des H_2*-donateurs.*

Comme la discrimination des états respiratoire et fermentaire est difficile, nous devons tenir compte en face du fait expérimental, des divers systèmes « redox » que possède la levure, tant ceux qui participent aux actes fermentaires qu'aux actes respiratoires.

Nous avons signalé les éthers phosphoriques du sucre et le méthylglyoxal. Il convient d'ajouter à ces complexes oxydo-réductibles ceux dont on connaît et ceux dont on soupçonne la participation au procès de la respiration, soient le cytochrome et le glutation.

Bien que l'importance de ces divers systèmes soit inégale, il faut envisager une pluralité de H_2-donateurs à l'intérieur de la cellule considérée.

Pour résoudre ces problèmes, l'on a surtout fait appel aux méthodes directes de l'enzymologie: mesures *in vivo* ou *in vitro* des vitesses de réaction, usage de co-catalyseurs positifs et négatifs, etc.

Il nous a semblé que l'étude *physiologique* de la levure contribuerait, au titre de méthode indirecte, à la résolution de ces questions.

Partie expérimentale.

La souche du champignon employé, l'*Endomyces Chodati*, est cultivée dans du moût de raisin liquide, à la température de 25°. La réduction du bleu de méthylène s'effectue suivant la technique de Thunberg dans des tubes à vide sous une pression d'air réduite à 3-4 mm de mercure. Les levures, séparées par centrifugation du milieu où elles ont végété, sont immédiatement soumises au triple lavage (eau distillée) qui doit les débarasser des dernières traces de substances appartenant au liquide de culture. Les cellules sont alors dispersées dans la solution tampon de McIlvaine, phosphate disodique + acide citrique; des précautions spéciales sont prises pour obtenir un nombre égal de cellules par unité de volume.

Dans nos expériences, chaque tube de Thunberg contient le mélange suivant:

1 cm³ de bleu de méthylène[1] m/1000,
3 cm³ de la solution tampon de pH choisi,
1 cm³ d'une suspension de levures, faite dans le même liquide tampon au même pH.

L'activité déshydrogénante du champignon est évaluée en notant la durée de la décoloration du bleu de méthylène. Pour effectuer cette mesure, on compare la teinte réalisée au bout d'un temps donné dans le tube de Thunberg, aux teintes d'une échelle colorimétrique préparée de la manière suivante:

Solutions de bleu de méthylène:

N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9
m/	5000	7500	10.000	15.000	25.000	75.000	125.000	625.000	1.250.000

Le schéma de notre premier essai est le suivant:

Mélange	N°s 1	2	3
A	+	+	+
F	+	+	—
D	+	—	+

Age de la culture: 48 h.
pH: 7,4. Tempér.: 40°.
A = accepteur (bleu).
F = ferment (levure).
D = donateur (succinate de sodium à 0,5%).

[1] Médicinal Merck; poids moléculaire: 373,46.

Le tube 1 donne une réduction rapide correspondant aux valeurs suivantes:

N° de l'échelle	1	2	3	4	5	6	7	8
Atteint en minutes . . .		3	7	11	15	23	26	30

On observe, dans le tube 2, où l'on a supprimé le donateur, une réduction complète quoique moins rapide que celle du tube 1.

N°	1	2	3	4	5	6	7	8
Minutes . .		7	15	30	38	50	59	63

Le tube 3 ne manifeste aucune réduction après six heures et atteste ainsi l'inactivité déshydrogénante des composants en l'absence d'enzyme.

On constate que la levure réduit le bleu de méthylène, même quand on ne lui offre pas de substance donateur d'H_2. Cette réduction nécessite cependant un apport d'H_2, qui est fait aux dépens d'une ou de substances contenues à l'intérieur de la cellule. Ces principes oxydables par déshydrogénation seront appelés donateurs internes pour les distinguer des donateurs externes, c'est-à-dire ajoutés comme le succinate de sodium au liquide d'expérience.

La nature de ces donateurs endocellulaires fera l'objet d'une partie de ces études.

On sait que la réaction favorable aux actions déshydrogénantes est alcaline; nous avons vérifié le fait dans nos conditions d'expérience et pour le champignon utilisé: aux pH 4 et 6,4, aucune réduction n'a lieu, quel que soit l'âge de la levure. Aux pH 7,4 et 8 la réaction a lieu; le temps nécessaire pour atteindre le n° 8 de l'échelle est de 60 minutes au pH 6,4 et de 50 minutes au pH 8.

L'inhibition par l'acidité peut être due à des causes multiples: l'action directe des ions H sur les enzymes sécrétées par la cellule. En outre, il est possible qu'une question de perméa-

bilité intervienne. L'un de nous (M. Junquera) a précisé dans une note précédente le fait que la pénétration du bleu est quasi nulle au pH 4 et faible au pH 6,4. En milieu acide, la quantité de bleu qui passe à l'intérieur de la cellule étant plus faible, la vitesse de réduction sera plus faible aussi.

Il nous a paru encore utile d'examiner l'influence de l'âge des cellules sur leur pouvoir déshydrogénant. Après 48 heures de culture à 25°, nous avons maintenu les flacons à basse température pour une période de dix et vingt-cinq jours.

N° de l'échelle	1	2	3	4	5	6	7	8
Culture de:								
2 jours . . .		7	15	30	38	50	59	63
10 » . . .		2	6	9	12	16	21	23
25 » . . .		3	8	10	13	22	26	31

L'activité maximale est présentée, dans ces conditions, par une culture de dix jours.

Diverses interprétations peuvent expliquer cette fluctuation du pouvoir réducteur du champignon en fonction de son âge:

variation de la concentration du donateur interne,
variation de la force de l'enzyme,
variation de la perméabilité cellulaire qui contrôle la pénétration du bleu de méthylène,
variation de l'activité d'une co-réductase.

Adoptant, parmi ces suggestions, celle qui nous paraît la plus plausible, soit la variation de la quantité du donateur endocellulaire, nous avons alors constitué l'expérience suivante: les levures d'une culture de vingt-cinq jours, sont lavées puis dispersées dans une solution tampon de pH 7,4. Cette préparation est divisée en deux lots; l'activité déshydrogénante du premier est évaluée immédiatement. Le second lot est abandonné durant 48 heures à la température de 25°. Cette macération des cellules dans un liquide non nutritif s'accompagne en règle générale, d'un épuisement des substances de réserve accumulées dans la cellule.

Comparaison de l'activité de la levure fraîche avec celle de la levure épuisée.

N° de l'échelle	1	2	3	4	5	6	7	8
Fraîche . . .		3	8	10	13	22	26	31
Epuisée.. . .		6	12	23	33	45	50	55

Il semble donc qu'un principe actif de la déshydrogénation a disparu de la levure au cours de ce début d'autolyse.

Il n'est pas encore possible de désigner le ou les principes qui fonctionnent comme donateurs d'H_2 à l'intérieur de la cellule. On est en droit de supposer que le glutation qui se trouve en quantité abondante dans la levure, peut remplir cet office de donateur.

On a, d'autre part, décrit dans les graines riches en réserves amylacées des hexose-diphosphates qui fonctionnent comme donateurs d'hydrogène. Kodama a récemment isolé à partir du muscle un hexose-monophosphate (biozucker) qui joue le rôle de H_2-donateur. A ces systèmes plus ou moins bien connus, il faudrait ajouter celui du tréhalose, sucre qui donne comme on le sait, un éther mono-phosphorique.

Nous avons encore cherché l'action que pourrait exercer l'acide α-monobromacétique sur le phénomène de déshydrogénation. En ajoutant de l'acide α-monobromacétique de manière à ce que la concentration de ce dernier soit de m/5000 dans le système sus-décrit (levure, bleu de méthylène, pH 7,4), on constate un léger retard. A la concentration de m/500, la durée de réduction est à peu près doublée. On connaît l'action inhibitrice spécifique de ces acides α halogénés sur la fermentation alcoolique. Les concentrations d'acide halogéné nécessaires à l'inactivation totale de la fermentation alcoolique, sont toutefois beaucoup plus faibles que les concentrations que nous avons employées. L'effet pratiquement nul de l'acide α monobromacétique sur la réduction du bleu de méthylène aux dépens des donateurs endocellulaires de la levure, constitue un argument de plus en faveur de la théorie, qui place l'enzyme déshydrogénante en dehors du complexe enzymatique de la fermentation alcoolique.

Institut de botanique de l'Université de Genève.