

в физическом строении школьников исследованных популяций обусловлены в основном первыми двумя факторами телосложения: городские дети отстают от сельских по темпам увеличения общих размеров, однако процесс формообразования у них протекает значительно активнее. Выявленные различия указывают на невозможность применения единых оценочных таблиц физического развития городской и сельской популяции.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бюков Б. В. Антропометрия, М., 1941.
2. Епископоски Л. М. Биолог. ж. Армении, 38, 1, 82—85, 1986.
3. Епископоски Л. М., Ордукчяк А. А. Биолог. науки, 3, 60—64, 1987.
4. Иберга К. Факторный анализ, М., 1980.
5. Цукерман Г. Г., Епископоски Л. М., Кочерган С. С. Генетика и антропология, 12, 65—67, 1985.
6. Селенский Л. К. Введение. Основные закономерности роста и развития и критерий периодизации, 12, 64—68, Одесса.
7. Фадеевич Ю. Т. Здоровье населения Беларуси, 8, 57—60, 1988.
8. Шафарик А., Шварц А. Шварц Габриэль. Учитель, 1, 65—83, 1974.

Получено 19.III.1991 г.

Биолог. журн. Армении, № 2 (45), 1992

УДК 577.15.591.8

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПЕРОКСИСОМ *ASPERGILLUS NIGER* К-3 ПОСРЕДСТВОМ УЛЬТРАЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ

С. В. ОГАНЕСЯН, М. А. ДАВТЯН

Грековский государственный университет, кафедра биохимии

Посредством ультрацентрифугирования в клетках *Aspergillus niger* К-3 обнаружен набор подфракций пероксисом, выполняющих разные функции. Пероксисомальная перья подфракция осаждается при  $25000 \times g$  10', а вторая локализована в цитозоле, получаемом после осаждения рибосомальных компонентов при  $100000 \times g$  150'.

Рис. 6 *Aspergillus niger* — пероксисома.

Вопрос о локализации ферментов в структурных образованиях клетки является важным в препаративной энзимологии.

Детальный молекулярный механизм биологических процессов можно установить, используя для обнаружения оргanelл биохимические и цитохимические методы исследования, а также посредством их фракционирования. Открытые лишь в 1965 г. пероксисомы содержат набор ферментов, участвующих в реакциях либо синтеза, либо разрушения пероксидов [1, 2, 4, 11].

В опубликованных ранее исследованиях биохимическими и цитохимическими методами нами были идентифицированы пероксисомы у *Asp. niger* К-3, содержащие оксидазин D-аминокислот (D-ААОХ) D-ААОХ представляют интерес в прикладном отношении,

поскольку их можно применять для получения L-аминокислот из рачьих панцирей [5—8].

Целью данной работы являлось разделение и идентифицирование пероксиом *Asp niger* R-3 посредством ультрацентрифугирования.

**Материал и методики.** Объектом исследования служили плесневые грибы *Asp niger* В-3, полученные из Спгтакского завода по производству лимонной кислоты. Культуру выращивали на отходах сахара и производства-мелассе.

Методика приготовления питательной среды и выращивания гриба *Asp. niger* В-3 изложена в ранее опубликованных нами работах [5].

Субклеточное разделение некоторых маркерных ферментов осуществляли во всех функциях биохимическим методом, а именно: активность митохондриального фермента сукцинатдегидрогеназы определяли по методу Керны и Сиджера [12], микросомального—каталазы (EC 1.11.1.6)—по методу Кришнамурти и Рамкришны [13]. D-ААОХ (EC 1.1.3.3) определяли по методу Баудуина и др. [9], в последней в качестве субстрата использовали D-Мет, D-Ала, β-ацетил-D-глюкозаминидазы (EC 3.2.1.30)—по методу Баррета [10]. Белок—по методу Лоури [4].

**Результаты и обсуждение.** В ранее опубликованных нами работах [6] субклеточные единицы мицелиального гриба были разделены посредством физикохимического центрифугирования при 12000—14000 xg в растворе 0,25M раствора сахарозы и перкаты в течение 30 мин. В отличие от животных клеток, лучшее разделение субклеточных единиц *Asp. niger* R-3 достигается при использовании дистиллированной воды в качестве гомогенизационной среды. В целях фракционирования субклеточных единиц и изучения их функциональной активности 10%-ный гомогенат *Asp. niger* R-3 получали в 10 мл дистиллированной воды гомогенизированием в течение 10 мин в стеклянном гомогенизаторе типа Эльвейгейм-Поттера. Экстракт разрушенных клеток фракционировали путем ультрацентрифугирования при постепенно возрастающих скоростях.

Исходя из данных об активности маркерных ферментов пероксиомом (табл. 1), каталазы и D-ААОХ, можно заключить, что ката-

Таблица 1. Субклеточное фракционирование гомогената *Asp. niger* R-3 методом ультрацентрифугирования и локализация оксидант D-аминокислот

| Фракция                          | Белок<br>10 мл | Активность фермента<br>10 мл |     |       |     |
|----------------------------------|----------------|------------------------------|-----|-------|-----|
|                                  |                | D-Ала                        |     | D-Мет |     |
|                                  |                | п. у.                        | %   | п. у. | %   |
| Гомогенат — 700 — г 10'          | —              |                              |     |       |     |
| Ядро                             | —              |                              |     |       |     |
| Надосадек — 33000 — г 10'        | 15,7           | 40                           | 100 | 0     | 100 |
| Митохондрии                      | —              | 0                            | 0   | 0     | 0   |
| I Надосадек — 25000 — г 10'      |                |                              |     |       |     |
| Мелкие митохондриальные рибосомы | 3,9            | 10                           | 25  | 7     | 25  |
| II Надосадек — 19000 — г 60'     | 13,0           | 45                           | 125 | 22,5  | 76  |
| Ретикулярные системы, рибосомы   | 3,9            | 0                            | —   | 2,5   | 8,3 |
| III Надосадек — 100000 — г 150'  | 19,9           | 45                           | 125 | 31,5  | 105 |
| Рибосомы                         | 1,5            | 0                            | 0   | 2,0   | 6,6 |

лазныя и D-аминокислотная оксидазная активности в основном сосредоточены соответственно в III (25%) и IV (82%) фракциях. Это свидетельствует о том, что указанные фракции являются пероксисомальными, так как проявляют высокую активность вышеуказанных ферментов.

Исследование лизосомальной  $\beta$ -п-ацетил D-глюкозаминидазы показало (табл. 2), что этот фермент параллельно присутствует во

Таблица 2. Локализация каталазы и  $\beta$ -п-ацетил D-глюкозаминидазы в субклеточных фракциях *Asp. niger* R-3, полученных посредством ультрацентрифугирования

| Фракция                                  | Фракция<br>10 мл | Активность фермента 10 мл |     |                                     |      |
|--|------------------|---------------------------|-----|-------------------------------------|------|
|  |                  | Каталаза                  |     | $\beta$ -п-ацетил D-глюкозаминидаза |      |
|  |                  | мкМ                       | %   | мкУ                                 | %    |
| Гомогенат — 500 г 10'                    | —                | —                         | —   | —                                   | —    |
| Центрифугат                              | —                | —                         | —   | —                                   | —    |
| Налогодк — 33000 г 10'                   | 15,7             | 85000                     | 100 | 42                                  | 100  |
| Миксомит                                 | —                | 4000                      | 47  | 24,6                                | 58   |
| I Подфракц — 25000 г 10'                 | —                | —                         | —   | —                                   | —    |
| Миксомит, ядерный, лизосомы, пероксисомы | 3,9              | 7,00                      | 8   | 33                                  | 78,5 |
| II Подфракц — 10000 г 6'                 | 13,0             | 13000                     | 158 | 39                                  | 92,8 |
| Рибосомы, лизосомы, рибосомы             | 3,9              | 690                       | 82  | 41,5                                | 9,8  |
| III Подфракц — 10000 г 150'              | 10,9             | 6500                      | 76  | 48,4                                | 1152 |
| Рибосомы                                 | 1,5              | —                         | —   | 28,5                                | 68   |

фракциях, содержащих D-ЛАОХ, что и соответствует данным, полученным при изолектиновом центрифугировании [6].

В опубликованных нами ранее работах биохимическими и электрохимическими методами исследований установлено наличие разных копий пероксиом у *Asp. niger* R-3, которые отличаются друг от друга не только размерами, но и продолжительностью содержания в них ферментов [6, 8]. Следовательно, ультрацентрифугированием еще раз доказывается достоверность полученных нами данных о существовании двух подфракций в клетках *Asp. niger* R-3, выделяемых при разных скоростях центрифугирования.

Анализируя активности маркерных ферментов (каталазы, D-ЛАОХ), можно прийти к выводу, что I пероксиомальная подфракция осаждается при 25000 xg, а II — локализована в лизосомах, получаемом после осаждения рибосомальных компонентов при 100000 xg.

Наши дальнейшие исследования показали, что I и II пероксиомальные подфракции отличаются по интенсивности деаминации D-Ала и D-Мет, D-Ала и D-Мет оксидазные активности, обнаруженные в I подфракции, составляют 25% от исходного. Во II подфракции интенсивность деаминации D-Ала и D-Мет выше и составляет 125% и 105% соответственно.

Исключенно составляет D-Мет оксидаза, активность которой (6%) проявляется также в осадке, содержащем рибосомы.

Из более ранних наших исследований известно, что очищенные препараты *Asp. niger* R-3 [5] содержит два белка, обладающие D-ААОХ, которые отличаются по субстратной специфичности, как изоферменты, что и доказывается полученными данными.

Таким образом, исходя из вышеуказанного, можно заключить, что клетки *Asp. niger* R-3 содержат целый набор структурно родственных пероксисом (известных в литературе как молодые и зрелые) [1—3], имеющих общих предков, но выполняющих разные функции. Таким образом, биогенез пероксисом *Asp. niger* R-3 как специфических цитоплазматических частиц зависит от их функциональной активности и происходит так, что, с одной стороны, при метаболизме клетки образуются пероксисомы, обладающие оксидазой D-АлА, которая имеет важное значение при глюконеогенезе, с другой стороны, пероксисомы, обладающие оксидазой D-Мет, участвующей в метаболизме метионина.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Беллицер И. В. Успехи совр. биологии, 84, 2 (5), 189—205, 1972.
2. Мейселл М. Н., Козлова Т. М. и др. Микробиол., XII, 5, 835—845, 1977.
3. Мейселл М. Н. и др. Микробиол., XII, 6, 1030—1035, 1978.
4. Опарин А. В. и др. Функциональная биохимия клеточных структур, М., 1970.
5. Орловский С. П., Давтян А. А., Павлова-Ястреб А. И. Биохимия, 41, 5, 402—407, 1983.
6. Оганисян С. Н., Давтян М. А., Хандога Я. Биохимия, 55, 12, 530—536, 1990.
7. Оганисян С. Н., Давтян М. А., Бабичев А. Г. Приклад. биох. и микробиол. (в печати), 1991.
8. Оганисян С. Н., Давтян М. А., Павлова-Ястреб А. И. Цитология (в печати).
9. Vaidichin P. et al. Biochem. J., 92, 179—184, 1954.
10. Barret A. J. J. Dingle North. Holland, 46—15, 1972.
11. De Duze Ch. Harvey Lectures Ser. 54, 49—57, 1965.
12. Kearney B. P., Singer Th. P. J. Biol. Chem., 239, 2 p. 163—9, 1964.
13. Krishnakantha et al. Biochem. J., 130, 167—175, 1972.
14. Lowry et al. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.

Поступило 31.10.87 г.

Биол. журн. Армения, № 2 (45), 1992

УДК 635.64:575.127.2

## ПРОЯВЛЕНИЕ САМОФЕРТИЛЬНОСТИ В F<sub>2</sub> И F<sub>3</sub> ГИБРИДОВ *LYCOPERSICON ESCULENTUM* MILL. × *L. HIRSUTUM* *F. GLABRUM* M. C. N. MULL.

А. М. АГАДЖАНИ И М. НАВАСАРДЯН

Институт земледелия МСХ республики Армения, Эчмиадзин

Показано существенное разнообразие растений по уровню самоопыляемости в F<sub>2</sub> гибридов от скрещивания высокоопыляемого культурного томата *L. esculentum* с диком *L. hirsutum* f. *glabratum*, имеющим слабо выраженную самофертильность. Установлено, что выход самофертильных растений в F<sub>2</sub> находится в прямой зависимости от уровня самоопыляемости исходных растений F<sub>2</sub>.

*Многообразие гибридов — самофертильность — многостерильность — межвидовое взаимодействие.*