



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **105467** (13) **U**
(51) МПК (2016.01)
G01N 33/00
G01N 1/28 (2006.01)
C12Q 1/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2015 08103	(72) Винахідник(и): Зеля Аврелія Георгіївна (UA), Гунчак Володимир Михайлович (UA), Зеля Георгій Віорелович (UA), Олійник Тетяна Миколаївна (UA), Сологуб Олександр Сергійович (UA), Захарчук Наталія Анатоліївна (UA), Фурдига Микола Миколайович (UA), Бондарчук Анатолій Андрійович (UA)
(22) Дата подання заявки: 14.08.2015	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.03.2016	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.03.2016, Бюл.№ 6	(73) Власник(и): УКРАЇНСЬКА НАУКОВО-ДОСЛІДНА СТАНЦІЯ КАРАНТИНУ РОСЛИН, с. Бояни, Новоселицький р-н, Чернівецька обл., 60321 (UA)

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ СТІЙКОСТІ КАРТОПЛІ ДО ЗБУДНИКА РАКУ SYNCHYTRIUM ENDOBIOTICUM (SCHILB) PERC. ЯКІСНИМ АНАЛІЗОМ ПАТОГЕНОЗАЛЕЖНИХ БІЛКІВ

(57) Реферат:

Спосіб визначення стійкості картоплі до збудника раку включає зараження паростків картоплі літніми зооспорами збудника хвороби і їх аналіз. При цьому з контрастних за стійкістю сортів картоплі виділяють білки на 7, 14, 21 та 28 дні після зараження патогеном, проводять їх ізоелектрофокусування у поліакриламідному гелі і виявляють патогенозалежні білки в інтервалі рН 4,8-5,6, за якими визначають стійкість до хвороби.

UA 105467 U

Корисна модель належить до галузі сільського господарства, зокрема до захисту рослин від негативної дії шкідливих організмів.

В сільському господарстві відомий метод інфрачервоної мікроскопії для діагностики ушкодження і стійкості зернових до шкідників [2].

5 В картоплярстві відомі польові та лабораторні способи визначення стійкості сортів та гібридів картоплі до збудника раку *Synchytrium endobioticum* (Schilb) Perc. [2, 3].

Польовий спосіб визначення стійкості картоплі до раку базується на безпосередньому зараженні зразків картоплі зимовими зооспорами збудника раку у природних польових умовах.

10 Лабораторний спосіб базується на зараженні паростків картоплі літніми зооспорами зі свіжих ракових наростів (найближчий аналог) [4].

Спосіб, що представлений у найближчому аналогу, полягає в тому, що він включає в себе зараження паростків картоплі літніми зооспорами зі свіжих ракових наростів за 11-13 °С. Після 21 дня проводиться облік реакції рослин на дію зооспор з ракових наростів картоплі. У сприйнятливих сортів картоплі спостерігається деформація паростків картоплі та поява ракових наростів, а у стійких - поява поодиноких сорусів та некротичне відмирання тканини паростків картоплі.

Згадані аналоги мають такі недоліки:

1. Вони є трудомісткими.

20 2. Їх використання пов'язане з затратою часу, який займає цілий вегетаційний період розвитку рослин картоплі та патогену.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб визначення стійкості картоплі до раку шляхом якісного аналізу патогенозалежних білків на 7, 14, 21 та 28 дні після зараження сортів картоплі збудником хвороби.

25 Поставлена задача вирішується тим, що у запропонованому способі шляхом якісного аналізу патогенозалежних білків ізоелектрофокусуванням у полі акриламідному гелі в інтервалі рН 3,5-10,0 з контрастних за стійкістю до раку сортів картоплі на 7-й день після зараження патогеном у зразків картоплі виявляються патогенозалежні білки в інтервалі рН 4,2-5,8 і, таким чином, відібрати стійкі до раку сорти картоплі.

30 1. Запропонований спосіб дозволяє визначити стійкість картоплі до раку за значно коротший термін часу - 7 днів (за найближчим аналогом - впродовж 28 днів).

2. Суттєвою відмінністю нового способу є те, що шляхом виявлення патогенозалежних білків вдається відібрати стійкі до раку сорти картоплі.

Приклади здійснення способів

Приклад 1.

35 Зразки бульб сортів картоплі, контрастних за стійкістю до раку - Поліська рожева та Божедар, коли паростки сягають 1-2 мм, заражають літніми зооспорами зі свіжих ракових наростів впродовж 24 годин за 11-13 °С. Для цього на верхівку бульби картоплі навколо паросткової частини приліплюють паперове кільце за допомогою суміші парафіну та вазеліну (1:1). В кільце наливають дистильовану воду, кладуть шматочки свіжого ракового наросту розміром 0,5 см². Зразки залишають у клімокамері з підвищеною вологістю і температурою 11-13 °С. Час експозиції 24 години. Інфекцію з паперовими кільцями знімають з бульб і залишають зразки картоплі температури 17-18 °С впродовж 27 діб, після чого відзначають реакцію паростків картоплі на зараження патогеном. Для цього їх аналізують під бінокулярною лупою і визначають ступінь ураження збудником раку:

45 1 - некротизована тканина паростка, поодинокі соруси (до 5 штук);

2 - розсіяні соруси (якщо більше 5);

3 - щільні соруси без деформації паростка;

4 - щільні соруси з деформацією паростка,

5 - раковий нарост [4].

50 В аналізованих таким чином сортів картоплі Поліська рожева та Божедар (таблиця) ступінь ураження паростків картоплі збудником раку склала:

7-й день після зараження патогеном:

1 - Божедар;

2 - Поліська рожева;

55 3-0 зразків;

4-0 зразків;

5-0 зразків.

14-й день після зараження патогеном:

1 - Божедар;

60 2 - Поліська рожева;

3 - Поліська рожева;

4 - Поліська рожева;

5-0 зразків.

21 день після зараження патогеном:

5 1 - Божедар;

2-0 зразків;

3 - Поліська рожева;

4 - Поліська рожева;

5 - Поліська рожева.

10 28-й день після зараження патогеном:

1 - Божедар;

2-0 зразків;

3 - Поліська рожева;

4 - Поліська рожева;

15 5 - Поліська рожева.

Приклад 2.

На 7-й, 14-й, 21-й та 28-й день після зараження з паростків картоплі виділяють білки шляхом розтирання на холоді у фарфоровій ступці, центрифугують впродовж 10 хвилин за 8000 об./хв. [8]. При цьому білки виділяються в супернатант (центрифугат), а суміш випадає в осад, який видаляють. Супернатант використовують для ізоелектрофокусування білків у поліакриламідному гелі (Т - 5 %, С - 3 %) з амфолітом діапазону рН 3,5-10,0. Ізоелектрофокусування проводять за напруги 600 В впродовж двох годин [9]. Білкові спектри виявляють фарбуванням за допомогою 0,5 % розчином Кумасі блакитного G 250. Для цього спочатку відмивають амфоліти сумішшю: трихлороцтова кислота: етанол:вода (10:25:65) і забарвлюють барвником в суміші: оцтова кислота:етанол:вода (10:25:65). Промивання від надлишку барвника проводять цією ж сумішшю. Розрахунок білкових компонентів проводять розробленою нами комп'ютерною програмою [1].

У результаті проведених досліджень до зараження збудником хвороби поліморфізм білків сорту картоплі Поліська рожева представлений 45 білковими компонентами (фіг. 1 - Поліморфізм білків сорту картоплі Поліська рожева, отриманих після ізоелектрофокусування в ПААГ до зараження збудником раку *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. (рН 3,5-10,0)). Після зараження збудником раку сорту картоплі Поліська рожева на 7-й день виявлено 43 білкові компоненти (фіг. 2 - Поліморфізм білків сорту картоплі Поліська рожева, ураженого збудником раку *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. (7 день після зараження), отриманих після ізоелектрофокусування в ПААГ (рН 3,5-10,0)). На 14-й день після зараження - 38 білкових компонентів (фіг. 3 - Поліморфізм білків сорту картоплі Поліська рожева, ураженого збудником раку *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. (14 день після зараження), отриманих після ізоелектрофокусування в ПААГ (рН 3,5-10,0)). На 21-й та 28-й дні - 28 білкові компоненти (фіг. 4 - Поліморфізм білків сорту картоплі Поліська рожева, ураженого збудником раку *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. (21 день після зараження), отриманих після ізоелектрофокусування в ПААГ (рН 3,5-10,0), фіг. 5 - Поліморфізм білків сорту картоплі Поліська рожева, ураженого збудником раку *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. (28 день після зараження), отриманих після ізоелектрофокусування в ПААГ (рН 3,5-10,0)), які відрізняються своїми ізоелектричними точками та вмістом в них білка.

Пояснюючи зникнення компонентів поліпептидів за ураження сорту картоплі Поліська рожева на 7, 14, 21 та 28 дні після зараження її збудником раку, характерні припинення синтезу білків рослини-живильника, що на ізоелектрофореграми розташовані в інтервалі рН 5,2-8,7 і поява білків патогену в інтервалі рН 8,8-9,8. На ізоелектрофореграмах (фіг. 1-5) встановлено зменшення кількості білкових компонентів з 45 до 28. Отримані білкові спектри характерні для збудника раку картоплі.

Аналізуючи поліморфізм білків до зараження збудником раку у сорту картоплі Божедар у інтервалі рН 3,5-10,0 ідентифіковано 53 білкових фракції (фіг. 6 - Поліморфізм білків сорту картоплі Божедар, не враженого збудником раку *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc., отриманих після ізоелектрофокусування в ПААГ (рН 3,5-10,0)). На 7 день після зараження патогеном у інтервалі рН 4,2-5,8 виявлено 3 додаткові білкові компоненти (фіг. 7 - Поліморфізм білків стійкого до раку сорту картоплі Божедар, зараженого збудником раку *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. (7 день після зараження), отриманих після ізоелектрофокусування в ПААГ (рН 3,5-10,0)). На 14, 21 та 28 дні спостерігається збільшення білкових фракцій у спектрі поліпептидів на 7 білкових компонентів в інтервалі рН 4,2-5,8 з низькою молекулярною масою (фіг. 8 - Поліморфізм білків сорту картоплі Божедар, зараженого збудником раку *Synchytrium*

endobioticum (Schilb.) Perc. (14 день після зараження), отриманих після ізоелектрофокусування в ПААГ (pH 3,5-10,0), фіг. 9 - Поліморфізм білків стійкого до раку сорту картоплі Божедар, зараженого збудником раку *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. (21 день після зараження), отриманих після ізоелектрофокусування в ПААГ (pH 3,5-10,0), фіг. 10 - Поліморфізм білків стійкого до раку сорту картоплі Божедар, зараженого збудником раку *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. (28 день після зараження), отриманих після ізоелектрофокусування в ПААГ (pH 3,5-10,0)). Появу додаткових білкових компонентів у стійкого сорту картоплі Божедар з 7 до 28 дня можна пояснити тим, що дані синтезовані поліпептиди є стресовими або патогенозалежними білками рослини-живильника, які виконують захисну функцію рослини при враженні її патогеном. У нашому випадку до 28-го дня після зараження сорту картоплі Божедар виявлено до 60 білкових компонентів.

Нині з'ясовуються можливі механізми генної експресії патогенозалежних білків, але відомо, що надчутлива реакція є одним із головних механізмів експресії стійкості рослин проти фітопатогенів, а синтез патогенозалежних білків – супроводжуюча ознака, пов'язана з цією реакцією. Тому аналіз їх синтезу можна використовувати як маркер стійкості рослин до патогенів [3].

Процес виявлення патогенозалежних білків в інтервалі pH 4,2-5,8 шляхом ізоелектрофокусування у поліакриламідному гелі на 7-й день після зараження зразків картоплі збудником раку склав 2,5 годин, а за способом зараження зооспорами зі свіжих ракових наростів (найближчим аналогом) - 28 днів.

Запропонований спосіб визначення стійкості картоплі до раку підтверджує експериментальна перевірка, яка здійснювалась при зараженні патогеном сортів картоплі, отриманих з Інституту картоплярства НААН та Поліського дослідного відділення ІК НААН.

Таблиця

Реакція сортів картоплі на зараження збудником раку
Synchytrium endobioticum (Schilb) Perc. (2014 р.).

№ п/п	Назва сорту картоплі	Ступінь стійкості				
		1 - некроз	2- розсіяні соруси	3 - щільні соруси	4 - деформация	5 - раковий нарост
1.	Поліська рожева - 7-й день	-	+	+	-	-
2.	Поліська рожева - 14-й день	-	+	+	+	-
3.	Поліська рожева - 21-й день	-	-	+	+	+
4.	Поліська рожева - 28-й день	-	-	+	+	+
5.	Божедар - 7-й день	+	-	-	-	-
6.	Божедар - 14-й день	+	-	-	-	-
7.	Божедар - 21-й день	+	-	-	-	-
8.	Божедар - 28-й день	+	-	-	-	-

'+' - ураження сортів;

'-' - відсутність ураження сортів.

Джерела інформації:

1. Авт. свід. № 26245 від 29.10.2008 р. Комп'ютерна програма "Розрахунок ізоелектричних білкових спектрів" / П.О. Мельник, В.Є. Куц, О.С. Сологуб.

2. Вилкова Н.А. Использование инфракрасной микроскопии для диагностики повреждения и устойчивости зерновок к клопам / Н.А. Вилкова, И.Д. Шапиро, Т.А. Борщева // В сб. Методы исследований патологических изменений растений. - М.: Колос, 1976. - С. 216-219.

3. Горбачева Л.А. Молекулярные механизмы устойчивости растений / Л.А. Горбачева, Н.Л. Дударева, Р.И. Салганик // Успехи современной биологии. - 1991. - Т. 111. Вып. 1. - С. 122-136.

4. Зея А.Г. Методологія оцінки та відбору селекційного матеріалу картоплі стійкого до раку *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. / А.Г. Зея, П.О. Мельник. - Чернівці, 2007 р. - 24 с.

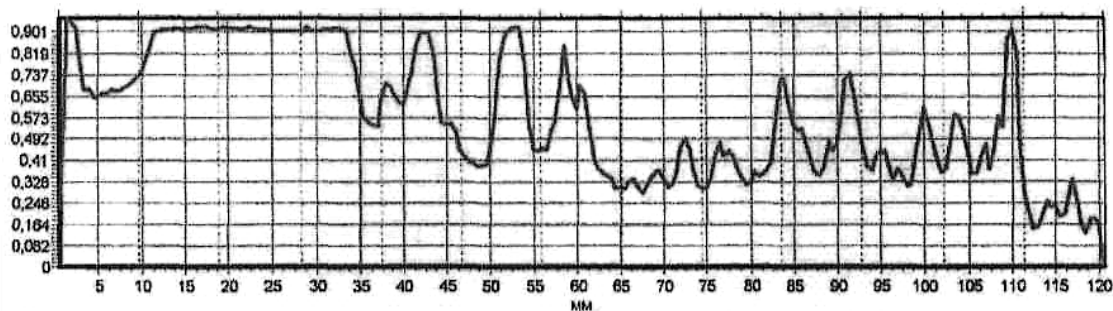
5. Зея А.Г. Стійкість картоплі проти збудника раку *Synchytrium endobioticum* (Schilb) Perc, методи його виявлення і диференціації. Авт. канд. дис. К., 2009, 24 с.

6. Зея А.Г. Біохімічні методи визначення стійкості картоплі до збудника раку *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. // Вісник Чернівецького національного університету, серія "Біологія". - 2007. - № 343. - С. 78-90.

7. Маслов Ю.И. Статистическая обработка данных биохимических исследований // Методы биохимического анализа растений. Л., 1978. - С. 163-178.
8. Остерман Н.А. Исследование биологических макромолекул электрофорезом, ультрацентрифугированием. / Н.А. Остерман // М.: Наука, 1983. - 304 с.
- 5 9. Ригетти Т. Изоэлектрическое фокусирование белков. Теория, методы, применение / Т. Ригетти // М.: Мир. - 1986. - 294 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

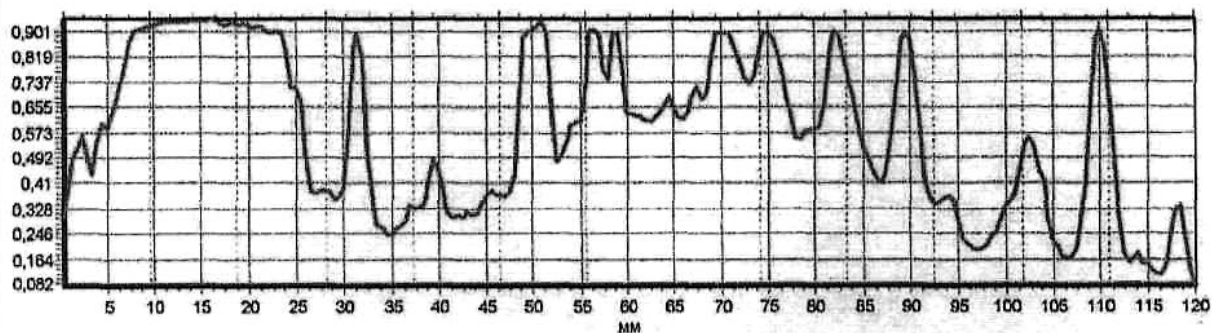
- 10 Спосіб визначення стійкості картоплі до збудника раку, що включає зараження паростків картоплі літніми зооспорами збудника хвороби і їх аналіз, який **відрізняється** тим, що з контрастних за стійкістю сортів картоплі виділяють білки на 7, 14, 21 та 28 дні після зараження патогеном, проводять їх ізоелектрофокусування у поліакриламідному гелі і виявляють патогенозалежні білки в інтервалі рН 4,8-5,6, за якими визначають стійкість до хвороби.



№ фракції	X Початок	X Кінець	Площа	Макс.	Вміст в %
1	2	3	4	5	6
1	0	3	0,2544647	0,1030157	0,72507
2	3	6	0,4221569	0,1681373	1,2029
3	6	14	2,437892	0,6027804	6,9465
4	14	17	1,344694	0,4345412	3,8316
5	17	19	1,226357	0,6324314	3,4944
6	19	22	2,002116	0,6588275	5,7048
7	22	25	1,550176	0,7369686	4,4171
8	25	27	0,6986353	0,4924745	1,9907
9	27	29	0,7327922	0,4413529	2,088
10	29	32	0,7501373	0,3793529	2,1374
11	32	34	0,4146882	0,2709373	1,1816
12	34	37	0,6951765	0,2693451	1,9808
13	37	39	0,4105098	0,2176471	1,1697
14	39	44	1,397494	0,4172471	3,982
15	44	48	0,9707451	0,2852431	2,766
16	48	50	0,4509647	0,2679137	1,285
17	50	53	0,6909255	0,2520078	1,9687
13	53	56	0,6260039	0,2407137	1,7837
19	55	60	0,9560059	0,3627647	2,724
20	60	66	1,528784	0,4389686	4,3561
21	66	68	0,3414922	0,1832667	0,97305
22	68	71	0,6220941	0,2837451	1,7726
23	71	73	0,3336961	0,2890118	0,95084
24	73	75	0,2898647	0,1660353	0,82594
25	75	78	0,8367745	0,3870667	2,3843

1	2	3	4	5	6
26	78	81	1,0323	0,4762706	2,9414
27	81	83	0,3435627	0,2811451	0,97895
28	83	86	0,4315843	0,1678275	1,2298
29	86	89	0,3689882	0,1329373	1,0514
30	83	93	0,4579451	0,1168235	1,3049
31	93	97	0,5307451	0,1421294	1,5123
32	97	99	0,2797745	0,1679176	0,79719
33	99	103	0,5512412	0,1511216	1,5707
34	103	107	0,5378784	0,1652353	1,5326
35	107	109	0,2482294	0,1282314	0,70731
36	109	112	0,5110255	0,2118667	1,4561
37	112	117	1,104051	0,2960824	3,1459
38	117	121	1,009592	0,3748745	2,8767
39	121	126	1,34901	0,410851	3,8439
40	126	129	0,5464588	0,2345265	1,5571
41	129	132	0,6141784	0,2080118	1,75
42	132	135	0,7575235	0,2893725	2,1585
43	135	141	1,526647	0,3248627	4,35
44	141	144	0,6339157	0,2885569	1,8063
45	144	146	0,2757588	0,1774235	0,78575

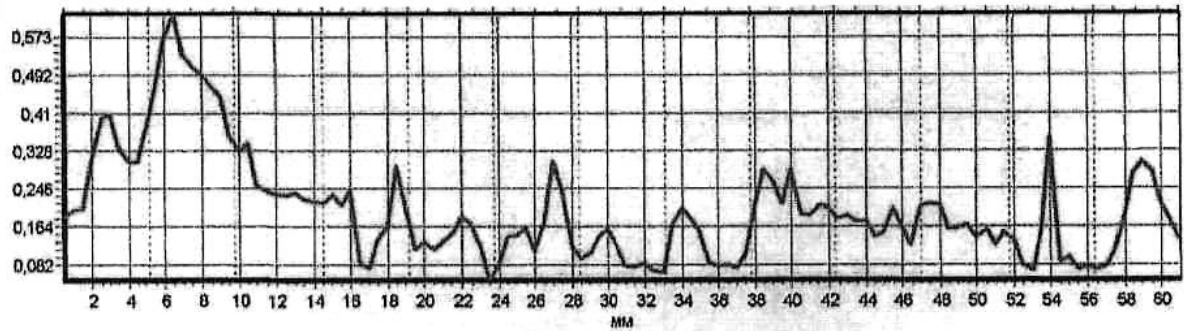
Фіг. 1



№ фракції	X Початок	X Кінець	Площа	Макс.	Вміст в %
1	2	3	4	5	6
1	0	6	2,5375582	0,5604667	1,8288
2	6	9	1,516853	0,5393059	1,0932
3	9	24	12,40349	0,9289176	8,9391
4	24	29	4,665153	0,9360706	3,3621
5	29	34	4,686835	0,9409882	3,3778
6	34	37	2,780941	0,9293647	2,0042
7	37	40	2,776918	0,9347294	2,0013
8	40	44	3,653976	0,9231059	2,6334
9	44	53	6,801855	0,9007529	4,902
10	53	57	1,532037	0,3869294	1,1041
11	57	69	5,924676	0,8943608	4,2699
12	69	74	1,349818	0,2877451	0,9728
13	74	82	3,065043	0,4880039	2,209
14	82	84	0,6097549	0,3178863	0,43945
15	84	86	0,6106471	0,3052863	0,44009
16	86	93	2,435943	0,3856471	1,7556
17	93	104	7,759767	0,9342824	5,5924
18	104	115	7,474998	0,9065647	5,3872
19	115	124	6,540404	0,8967294	4,7136
20	124	131	4,502804	0,6913804	3,2451
21	131	135	2,626645	0,6935725	1,893
22	135	139	3,00091	0,8033686	2,1627
23	139	145	5,14961	0,8980706	3,7113
24	145	156	8,585516	0,8971765	6,1875
25	156	159	1,696137	0,5770157	1,2224

1	2	3	4	5	6
26	159	173	9,299582	0,9029882	6,7021
27	173	184	6,928831	0,8976235	4,9935
28	184	193	2,789169	0,3662941	2,0101
29	193	212	6,302412	0,5580706	4,5421
30	212	225	6,167871	0,9038824	4,4451
31	225	231	0,9472686	0,1821451	0,68269
32	231	239	1,6322	0,3360275	1,1763
33	240	243	1,5698	0,5680876	2,6106
34	245	248	0,9805	0,581608	2,8321

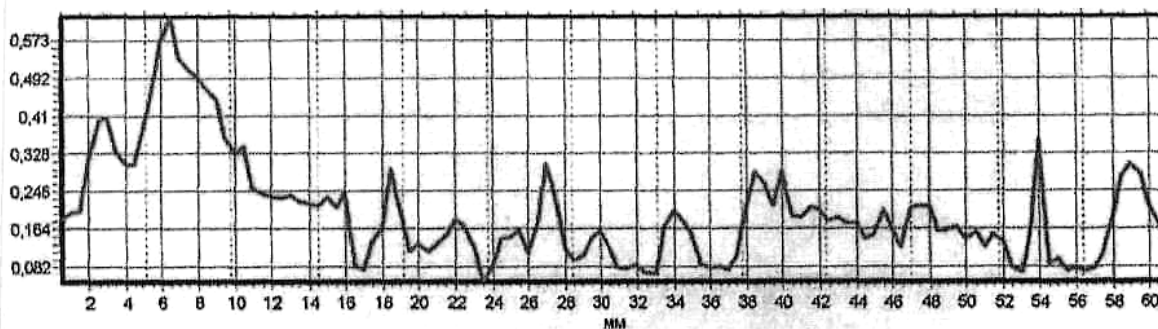
Фиг. 2



№ фракції	X Початок	X Кінець	Площа	Макс.	Вміст в %
1	2	3	4	5	6
1	0	8	2,191786	0,4059725	8,9482
2	8	19	5,145929	0,6245412	21,009
3	19	24	1,463294	0,3582314	5,974
4	24	28	0,9172B63	0,2360902	3,7449
5	28	30	0,4414667	0,2189294	1,8023
6	30	33	0,6128588	0,2432078	2,5021
7	33	38	0,8169686	0,293698	3,3354
8	38	40	0,2761529	0,1965765	1,1356
9	40	46	0,8758431	0,1839608	3,5757
10	46	51	0,5635B69	0,1458784	2,3008
11	51	56	0,972998	0,3029176	3,9724
12	56	62	0,7287333	0,1577255	2,9761
13	62	65	0,2354373	0,08432157	0,9612
14	65	71	0,8484549	0,2048863	3,4639
15	71	73	0,1620431	0,08549412	0,66156
16	73	78	0,8503216	0,2863451	3,4715
17	78	91	0,728-1333	0,2877373	2,9739
18	81	84	0,1971706	0,2116157	2,438
19	84	88	0,7339059	0,204051	2,9962
20	88	92	0,6652784	0,204051	2,7161
21	92	96	0,7340588	0,2149725	2,9969
22	96	93	0,5109922	0,2114549	2,0862
23	99	101	0,3023078	0,1666392	1,2342
24	101	105	0,5309176	0,1568314	2,1675
25	105	108	0,4447922	0,1565529	1,8159

1	2	3	4	5	6
26	108	110	0,3178745	0,3564157	1,2978
27	110	112	0,1597588	0,09913725	0,65223
28	112	121	1,663553	0,3048549	6,7916
29	121	122	0,6339054	0,104065	1,9963
30	122	123	0,8652784	0,204051	0,7164

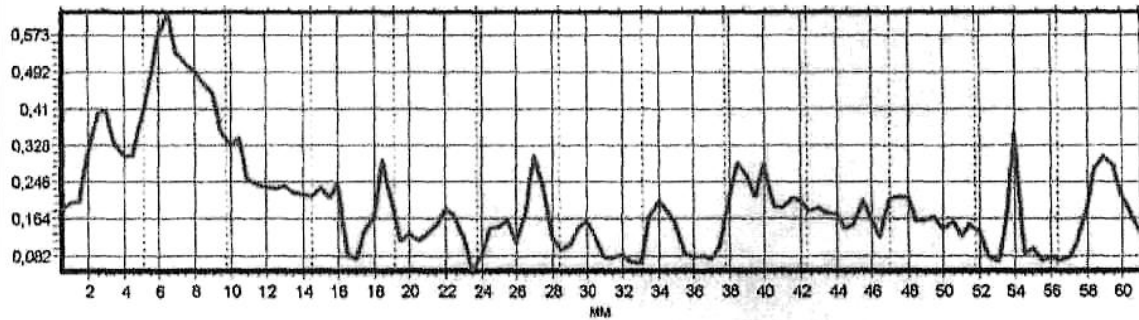
Фиг. 3



№ фракції	X Початок	X Кінець	Площа	Макс.	Вміст в %
1	2	3	4	5	6
1	0	8	2,191786	0,4059725	8,9482
2	8	19	5,145929	0,6245412	21,009
3	19	24	1,463294	0,3582314	5,974
4	24	28	0,9172B63	0,2360902	3,7449
5	28	30	0,4414667	0,2189294	1,8023
6	30	33	0,6128588	0,2432078	2,5021
7	33	38	0,8169686	0,293698	3,3354
8	38	40	0,2761529	0,1965765	1,1356
9	40	46	0,8758431	0,1839608	3,5757
10	46	51	0,5635B69	0,1458784	2,3008
11	51	56	0,972998	0,3029176	3,9724
12	56	62	0,7287333	0,1577255	2,9761
13	62	65	0,2354373	0,08432157	0,9612
14	65	71	0,8484549	0,2048863	3,4639
15	71	73	0,1620431	0,08549412	0,66156
16	73	78	0,8503216	0,2863451	3,4715
17	78	91	0,728-1333	0,2877373	2,9739
18	81	84	0,Б971706	0,2116157	2,438
19	84	88	0,7339059	0,204051	2,9962
20	88	92	0,6652784	0,204051	2,7161
21	92	96	0,7340588	0,2149725	2,9969
22	96	93	0,5109922	0,2114549	2,0862
23	99	101	0,3023078	0,1666392	1,2342
24	101	105	0,5309176	0,1568314	2,1675
25	105	108	0,4447922	0,1565529	1,8159

1	2	3	4	5	6
26	108	110	0,3178745	0,3564157	1,2978
27	110	112	0,1597588	0,09913725	0,65223
28	112	121	1,663553	0,3048549	6,7916

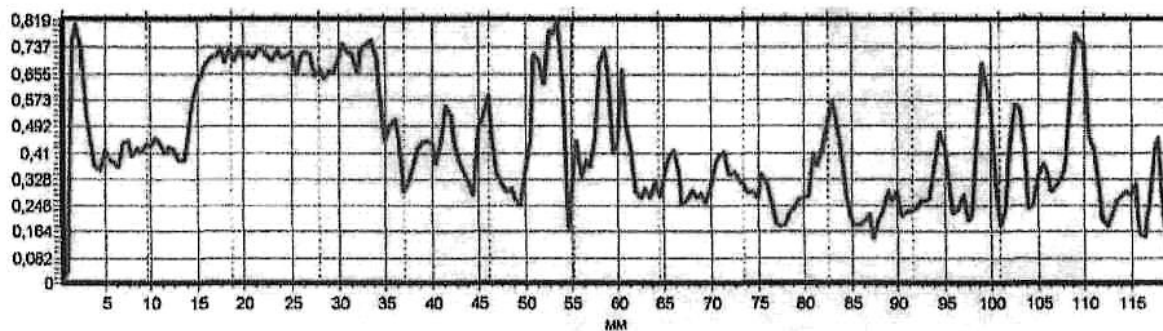
Фиг. 4



№ фракції	X Початок	X Кінець	Площа	Макс.	Вміст в %
1	2	3	4	5	6
1	1	7	1,191787	0,3059765	7,89483
2	7	19	5,145929	0,6245412	21,009
3	19	24	1,463294	0,3582314	5,974
4	24	28	0,9172863	0,2360902	3,7449
5	28	30	0,4414667	0,2189294	1,8023
6	30	33	0,6128588	0,2432078	2,5021
7	33	38	0,8169686	0,293698	3,3354
8	38	40	0,2761529	0,1965765	1,1356
9	40	46	0,8758431	0,1839608	3,5757
10	46	51	0,5635869	0,1458784	2,3008
11	51	56	0,972998	0,3029176	3,9724
12	56	62	0,7287333	0,1577255	2,9761
13	62	65	0,2354373	0,08432157	0,9612
14	65	71	0,8484549	0,2048863	3,4639
15	71	73	0,1620431	0,08549412	0,66156
16	73	78	0,8503216	0,2863451	3,4715
17	78	91	0,728-1333	0,2877373	2,9739
18	81	84	0,5971706	0,2116157	2,438
19	84	88	0,7339059	0,204051	2,9962
20	88	92	0,6652784	0,204051	2,7161
21	92	96	0,7340588	0,2149725	2,9969
22	96	93	0,5109922	0,2114549	2,0862
23	99	101	0,3023078	0,1666392	1,2342
24	101	105	0,5309176	0,1568314	2,1675
25	105	108	0,4447922	0,1565529	1,8159

1	2	3	4	5	6
26	108	110	0,3178745	0,3564157	1,2978
27	110	112	0,1597588	0,09913725	0,65223
28	112	121	1,663553	0,3048549	6,7916

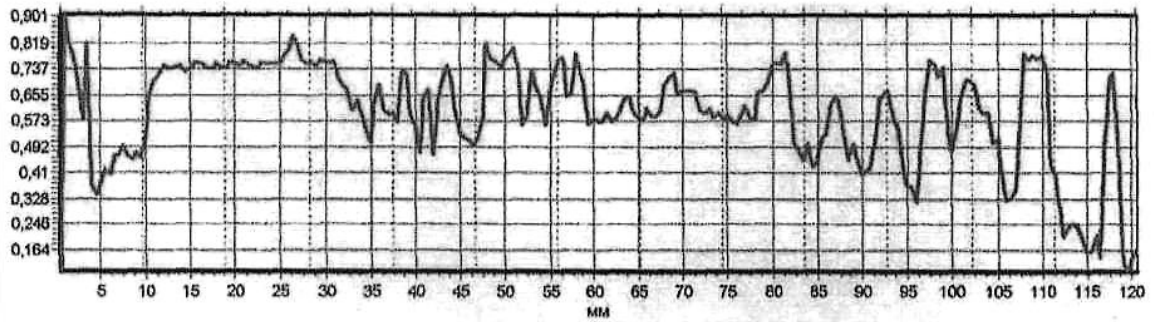
Фиг. 5



№ фракції	X Початок	X Кінець	Площа	Макс.	Вміст в %
1	2	3	4	5	6
1	0	8	3,476249	0,8027255	3,3952
2	8	12	1,530016	0,414698	1,4943
3	12	15	1,218125	0,4414235	1,1897
4	15	17	0,8286431	0,4429922	0,80932
5	17	19	0,8421863	0,4221059	0,82255
6	19	22	1,318796	0,453B196	1,288
7	22	25	1,260461	0,4410588	1,2311
8	25	35	5,738525	0,7125333	5,6047
9	35	37	1,424729	0,7337765	1,3915
10	37	39	1,429447	0,7319098	1,3961
11	39	41	1,434108	0,7349059	1,4007
12	41	45	2,880469	0,7317098	2,8133
13	45	47	1,412265	0,7080745	1,3793
14	47	50	2,142935	0,7273176	2,093
15	50	54	2,812161	0,7263882	2,7466
16	54	56	1,340557	0,7165216	1,3093
17	56	58	1,304229	0,6672275	1,2738
16	58	63	3,525965	0,7478667	3,4438
19	63	69	4,257535	0,7564039	4,1583
20	69	73	1,972104	0,5941216	1,9261
21	73	80	2,736388	0,4483843	2,6726
22	80	88	3,416222	0,5520549	3,3366
23	88	95	2,990147	0,585149	2,9204
24	95	98	0,8785294	0,3139216	0,85805
25	98	103	2,246624	0,7144	2,1942

1	2	3	4	5	6
26	103	105	1,366418	0,6960235	1,3346
27	105	108	2,305767	0,8239725	2,252
28	108	111	0,9952843	0,6257569	0,97208
29	111	113	0,7460235	0,442851	0,73058
30	113	118	2,758837	0,7299098	2,6945
31	118	124	2,905708	0,6668588	2,838
32	124	126	0,5611118	0,2871255	0,54803
33	126	128	0,5785922	0,2975922	0,5651
34	128	133	1,7447	0,4161922	1,704
35	133	136	0,8364588	0,3508824	0,81696
36	136	138	0,5602784	0,2934941	0,54721
37	138	143	1,679486	0,3973961	1,6403
38	143	147	1,383231	0,4138235	1,351
39	147	149	0,5846	0,3132118	0,57097
40	149	154	1,428594	0,3397529	1,3953
41	154	162	1,940141	0,2754	1,8949
42	162	171	3,574518	0,5687725	3,4912
43	171	174	0,5835333	0,2002353	0,56993
44	174	178	0,828102	0,2325137	0,80879
45	178	180	0,5512784	0,2869882	0,53842
46	180	191	3,266341	0,4715137	3,1921
47	191	194	0,7468216	0,2953333	0,72941
48	194	201	3,050729	0,6877294	2,9796
49	201	207	2,311637	0,5578157	2,2577
50	207	212	1,583482	0,4189176	1,5466
51	212	224	5,631635	0,7781137	5,5003
52	224	229	1,183545	0,2723137	1,1559
53	229	232	0,8097686	0,3105882	0,79089
54	232	237	1,469233	0,4530078	1,435

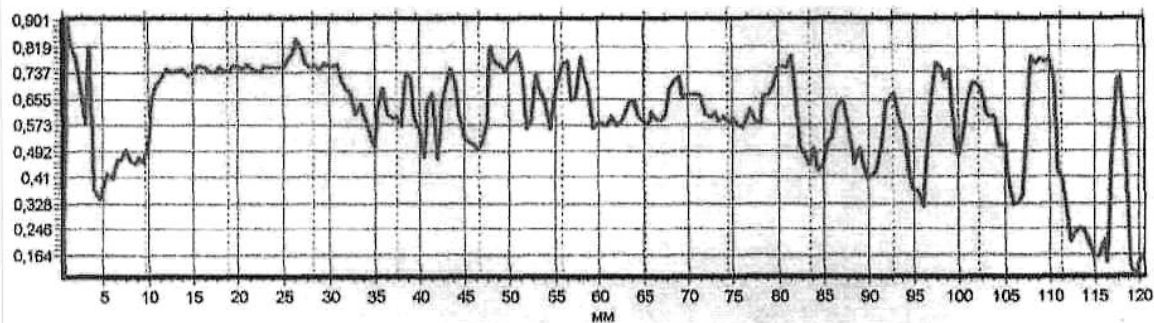
Фиг. 6



№ фракції	X Початок	X Кінець	Площа	Макс.	Вміст в %
1	2	3	4	5	6
1	0	2	0,4550706	1,095624E-304	0,68531
2	2	4	1,001659	0,9101412	1,5085
3	4	7	1,36462	0,886	2,0551
4	7	9	0,9555765	0,5677412	1,4391
5	9	11	0,8189765	0,5747765	1,2333
6	11	15	1,626692	0,4776314	2,4497
7	15	18	1,229576	0,4880275	1,8517
8	18	22	1,71869	0,464051	2,5807
9	22	24	0,4668196	0,3170078	0,70301
10	24	27	1,306633	0,5416784	1,9677
11	27	29	1,782118	0,886	2,6838
12	29	32	2,705686	0,9257882	4,0746
13	32	34	1,676541	0,9083529	2,5278
14	34	37	2,191782	0,9253412	3,3007
15	37	40	1,47889	0,5644824	2,2271
16	40	44	1,656114	0,7308902	2,497
17	44	46	0,5939	0,2961608	0,89439
18	46	48	0,7734196	0,3378902	1,1647
19	48	52	1,275661	0,5413255	1,9211
20	52	55	1,05141	0,3693412	1,5834
21	55	57	0,4655059	0,2982039	0,70103
22	57	60	1,171012	0,9079059	2,3659
23	60	62	0,831202	0,8722667	1,2518
24	62	68	3,061437	0,8758784	4,6104
25	68	71	0,5821529	0,1945255	0,87669

1	2	3	4	5	6
26	71	75	1,794933	0,9146118	2,7031
27	75	78	1,774376	0,9070118	2,6721
28	78	81	2,636067	0,9360706	3,9698
29	81	83	0,602396	0,8209682	0,90718
30	83	85	0,5470196	0,3607882	0,82379
31	85	87	0,3512608	0,2720118	0,52898
32	87	91	1,189643	0,357'0549	1,7915
33	91	93	0,5915373	0,3621725	0,89083
34	93	95	0,5906843	0,3444941	0,88954
35	95	99	1,49749	0,4240353	2,2531
36	99	101	0,5603314	0,3810078	0,84383
37	101	105	2,11141	0,8258708	3,1797
38	105	110	2,344353	0,9324941	3,5305
33	110	112	0,5834765	0,6185059	0,87869
40	112	116	0,9746882	0,3092314	1,4678
41	116	118	0,499551	0,2039961	0,7523
42	118	120	0,6526255	0,5380784	0,98282
43	120	122	0,5952608	0,3395412	0,89643
44	122	124	0,5347663	0,3185961	0,80536
45	124	128	2,208922	0,7820627	3,3265
46	128	131	1,196276	0,7235804	1,8015
47	131	133	0,3348314	0,1507059	0,50424
48	133	138	2,979663	0,9204235	4,4872
49	138	140	0,3825431	0,2863843	0,57609
50	140	142	0,3762471	0,4244824	0,56661
51	142	145	0,4605824	0,181651	0,69377
52	145	147	0,4034392	0,2759569	0,6166
53	147	149	0,4364078	0,4100275	0,65721
54	149	152	1,208888	0,4507098	1,8205
55	152	156	2,227667	0,7003765	3,3548
56	156	160	0,754202	0,3956471	1,1358
57	160	162	0,3553588	0,4466471	0,53515

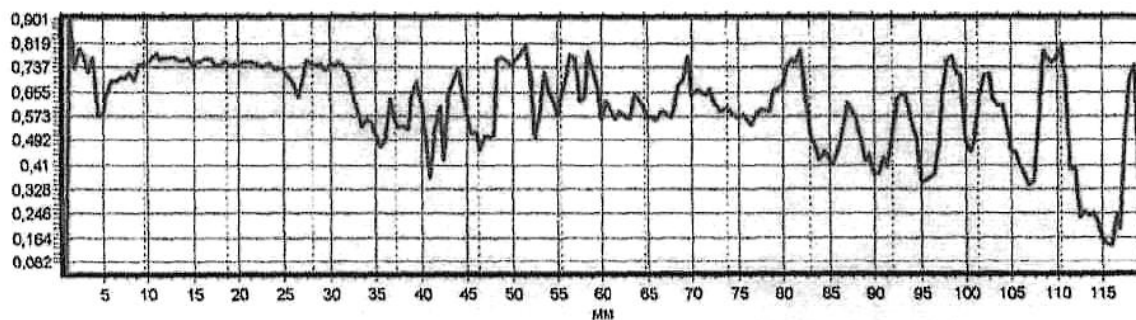
Фиг. 7



№ фракції	X Початок	X Кінець	Площа	Макс.	Вміст в %
1	2	3	4	5	6
1	0	5	2,956794	0,9061176	2,0433
2	5	8	1,931747	0,8180039	1,3349
3	8	11	1,09828	0,3683843	0,75895
4	11	13	0,8459824	0,4184568	0,58461
5	13	16	1,413939	0,4920392	0,97709
6	16	16	0,9180627	0,4634549	0,63442
7	18	25	4,384669	0,7462157	3,03
8	25	28	2,22641	0,7425725	1,5385
9	28	34	4,475253	0,7573255	3,0926
10	34	37	2,233529	0,7586667	1,5435
11	37	40	2,240682	0,7564314	1,5484
12	40	44	3,007306	0,7631373	2,0782
13	44	46	1,48468	0,7404706	1,026
14	46	49	2,257622	0,7557686	1,5601
15	49	55	4,739263	0,8392471	3,275
16	55	57	1,512969	0,7642902	1,0455
17	57	59	1,507584	0,7614902	1,0418
16	59	65	4,384867	0,7637804	3,0301
19	65	69	2,454247	0,6702196	1,696
20	69	73	2,386925	0,6852	1,6495
21	73	75	1,192465	0,6057098	0,82404
22	75	80	3,185967	0,7341961	2,2016
23	80	83	1,73439	0,6457176	1,1985
24	83	92	5,485957	0,7478784	3,791
25	92	38	3,819614	0,8170235	2,6395

1	2	3	4	5	6
26	98	103	3,841816	0,8044941	2,6548
27	103	108	3,259739	0,7316549	2,2526
28	108	113	3,42659	0,7639176	2,3679
29	113	118	3,548853	0,7861294	2,4524
30	118	121	1,774651	0,6941843	1,2264
31	121	123	1,157714	0,5755098	0,80003
32	123	130	4,229292	0,6431059	2,9225
33	130	133	1,770737	0,6102392	1,2236
34	133	138	3,250367	0,7093563	2,2461
35	138	144	3,989422	0,7224275	2,7568
36	144	146	1,2051	0,6065176	0,83277
37	146	148	1,189076	0,6098235	0,8217
38	148	151	1,757108	0,5976235	1,2142
39	151	155	2,358725	0,6186235	1,63
40	155	161	4,0299	0,7527176	2,7849
41	161	166	3,36429	0,787098	2,3249
42	186	168	0,9351373	0,4814196	0,64622
43	168	176	4,35488	0,6478196	3,0094
44	176	179	1,444888	0,5358078	0,99847
45	179	191	6,051704	0,6670745	4,182
46	191	196	2,756139	0,7641137	1,9046
47	196	199	2,104408	0,750651	1,4542
48	199	206	4,336337	0,7021725	2,9966
49	206	208	1,203129	0,6121412	0,83141
50	209	211	1,53229	0,5995294	1,0589
51	211	216	2143943	0,5318588	1,4815
52	216	218	1,550614	0,7845529	1,0715
53	218	224	3,636222	0,7816	2,5126
54	224	230	1,340265	0,282896	0,92618
55	230	232	0,3407451	0,158698	0,23547
56	232	238	2,722961	0,7250157	1,8817
57	238	240	0,2234157	0,1251686	0,15439
58	240	243	0,93513	0,7527176	0,65627

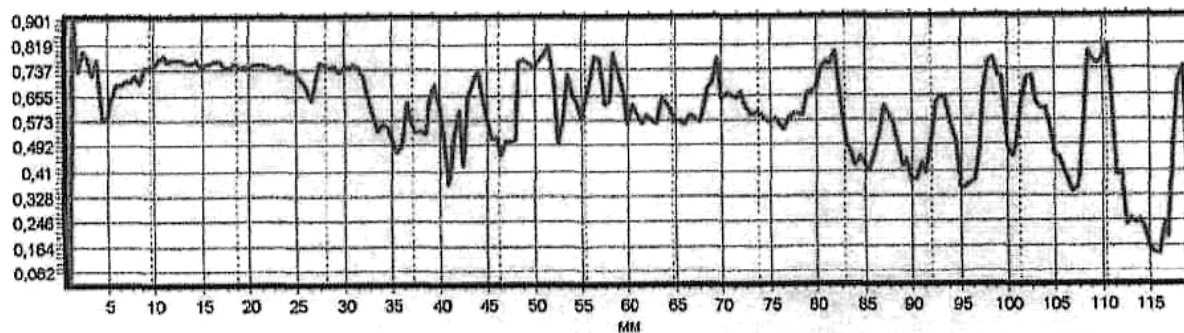
Фиг. 8



№ фракції	X Початок	X Кінець	Площа	Макс.	Вміст в %
1	2	3	4	5	6
1	0	1	0,1517588	1,095624E-304	0,10507
2	1	3	0,6422922	0,3035176	0,44471
3	3	6	2,370069	0,9088	1,641
4	6	8	1,486453	0,7660275	1,0292
5	8	14	3,913049	0,7704784	2,7093
6	14	16	1,410894	0,7039725	0,97687
7	16	22	4,44512	0,7699882	3,0777
8	22	26	3,073231	0,7823765	2,1278
9	26	29	2,286316	0,768502	1,583
10	29	34	3,775375	0,7658863	2,614
11	34	37	2,2456	0,760902	1,5548
12	37	39	1,496145	0,7591137	1,0359
13	39	41	1,496098	0,7488314	1,0359
14	41	44	2,259012	0,7550902	1,5641
15	44	47	2,228422	0,7492784	1,5429
16	47	52	3,605349	0,748898	2,4963
17	52	56	2,789329	0,7593608	1,9313
18	56	56	1,489233	0,7463255	1,0311
19	58	60	1,473645	0,7485176	1,0203
20	60	66	4,263916	0,7547098	2,9522
21	66	70	2,19722	0,5928314	1,5213
22	70	74	2,134539	0,6290667	1,4779
23	74	76	1,088682	0,5738549	0,75378
24	76	81	2,999204	0,6894941	2,0766
25	81	84	1,459708	0,5362784	1,0107

1	2	3	4	5	6
26	84	90	3,765684	0,7356392	2,6074
27	90	92	1,060778	0,5801216	0,73446
28	92	94	0,9684176	0,5177804	0,67051
29	94	99	3,177139	0,7697373	2,1998
30	99	104	3,835688	0,8150863	2,6557
31	104	109	3,11028	0,7186471	2,1535
32	109	114	3,431398	0,7799647	2,3758
33	114	119	3,490845	0,7883961	2,417
34	119	122	1,810743	0,6648941	1,2537
35	122	125	1,731343	0,5898471	1,1987
36	125	129	2,431429	0,642098	1,6835
37	129	131	1,156527	0,609698	0,80075
38	131	134	1,723684	0,5874824	1,1936
39	134	139	3,219004	0,6975961	2,2288
40	139	142	2,012531	0,7741216	1,3934
41	142	145	1,939996	0,6636314	1,3432
42	145	149	2,375951	0,6150353	1,6451
43	149	152	1,713845	0,5772941	1,1866
44	152	156	2,293069	0,5910431	1,5877
45	156	162	4,005973	0,7413725	2,7737
46	162	167	3,289182	0,7910706	2,2774
47	167	170	1,332353	0,4756	0,92291
48	170	177	3,626145	0,6191373	2,5107
49	177	179	0,8914549	0,4982196	0,61722
50	179	182	1,199339	0,4421961	1,8304
51	182	190	4,295125	0,6493608	2,9739
52	190	200	5,616806	0,7756039	3,889
53	200	213	7,105453	0,7156667	4,9197
54	213	218	2,621727	0,7915216	1,8152
55	218	222	3,066794	0,8075765	2,1234
56	222	224	0,9409608	0,7002863	0,6515
57	224	226	0,5568294	0,3959647	0,38554
58	226	231	1,044478	0,249349	0,72317
59	231	233	0,3274353	0,1390667	0,22671

Фиг. 9



№ фракції	X Початок	X Кінець	Площа	Макс.	Вміст в %
1	2	3	4	5	6
1	0	1	0,1517588	1,095624E-304	0,10507
2	1	3	0,6422922	0,3035176	0,44471
3	3	6	2,370069	0,9088	1,641
4	6	8	1,486453	0,7660275	1,0292
5	8	14	3,913049	0,7704784	2,7093
6	14	16	1,410894	0,7039725	0,97687
7	16	22	4,44512	0,7699882	3,0777
8	22	26	3,073231	0,7823765	2,1278
9	26	29	2,286316	0,768502	1,583
10	29	34	3,775375	0,7658863	2,614
11	34	37	2,2456	0,760902	1,5548
12	37	39	1,496145	0,7591137	1,0359
13	39	41	1,496098	0,7488314	1,0359
14	41	44	2,259012	0,7550902	1,5641
15	44	47	2,228422	0,7492784	1,5429
16	47	52	3,605349	0,748898	2,4963
17	52	56	2,789329	0,7593608	1,9313
18	56	56	1,489233	0,7463255	1,0311
19	58	60	1,473645	0,7485176	1,0203
20	60	66	4,263916	0,7547098	2,9522
21	66	70	2,19722	0,5928314	1,5213
22	70	74	2,134539	0,6290667	1,4779
23	74	76	1,088682	0,5738549	0,75378
24	76	81	2,999204	0,6894941	2,0766
25	81	84	1,459708	0,5362784	1,0107

1	2	3	4	5	6
26	84	90	3,765684	0,7356392	2,6074
27	90	92	1,060778	0,5801216	0,73446
28	92	94	0,9684176	0,5177804	0,67051
29	94	99	3,177139	0,7697373	2,1998
30	99	104	3,835688	0,8150863	2,6557
31	104	109	3,11028	0,7186471	2,1535
32	109	114	3,431398	0,7799647	2,3758
33	114	119	3,490845	0,7883961	2,417
34	119	122	1,810743	0,6648941	1,2537
35	122	125	1,731343	0,5898471	1,1987
36	125	129	2,431429	0,642098	1,6835
37	129	131	1,156527	0,609698	0,80075
38	131	134	1,723684	0,5874824	1,1936
39	134	139	3,219004	0,6975961	2,2288
40	139	142	2,012531	0,7741216	1,3934
41	142	145	1,939996	0,6636314	1,3432
42	145	149	2,375951	0,6150353	1,6451
43	149	152	1,713845	0,5772941	1,1866
44	152	156	2,293069	0,5910431	1,5877
45	156	162	4,005973	0,7413725	2,7737
46	162	167	3,289182	0,7910706	2,2774
47	167	170	1,332353	0,4756	0,92291
48	170	177	3,626145	0,6191373	2,5107
49	177	179	0,8914549	0,4982196	0,61722
50	179	182	1,199339	0,4421961	18304
51	182	190	4,295125	0,6493608	2,9739
52	190	200	5,616806	0,7756039	3,889
53	200	213	7,105453	0,7156667	4,9197
54	213	218	2,621727	0,7915216	1,8152
55	218	222	3,066794	0,8075765	2,1234
56	222	224	0,9409608	0,7002863	0,6515
57	224	226	0,5568294	0,3959647	0,38554
58	226	231	1,044478	0,249349	0,72317
59	231	233	0,3274353	0,1390667	0,22671
60	233	238	2,479569	0,7408039	1,7168

φir. 10

Комп'ютерна верстка О. Гергіль

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601