



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **66895** (13) **U**
(51) МПК (2011.01)
G01J 3/00
G01N 21/25 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ БІОХІМІЧНОЇ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ВИДІВ АЙВИ

1

(21) u201107488
(22) 14.06.2011
(24) 25.01.2012
(46) 25.01.2012, Бюл.№ 2, 2012 р.
(72) СОЛОГУБ ОЛЕКСАНДР СЕРГІЙОВИЧ, МЕ-
ЛЬНИК ПАВЛО ОЛЕКСІЙОВИЧ, ХОМЯК ВІРА ВА-
СИЛІВНА, МАТВІЄНКО МИКОЛА ВАСИЛЬОВИЧ
(73) УКРАЇНЬСЬКА НАУКОВО-ДОСЛІДНА СТАНЦІЯ
КАРАНТИНУ РОСЛИН

2

(57) Спосіб біохімічної ідентифікації видів айви, що включає виділення білків з листків айви та їх аналіз методом ізоелектрофокусування в поліакриламідному гелі з амфолітом інтервалу рН 3,0-10,0, що дозволяє ідентифікувати види айви за отриманими білковими спектрами, які є видоспецифічними.

Корисна модель належить до галузі сільського господарства, зокрема до ідентифікації видів айви.

Відомий спосіб ідентифікації видів айви за морфологічними ознаками в період вегетації: за формою крони, висотою дерева, інтенсивністю річного приросту, забарвленню та формою листків і прилистків, корою (Найближчий аналог [1, 2]).

Згаданий спосіб має такі недоліки:

1. Він є довготривалим, оскільки займає цілий вегетаційний період розвитку рослини.

2. Він є трудомістким, так як ідентифікацію видів айви по морфологічним признакам необхідно проводити по всіх характеристиках.

В основу корисної моделі поставлена задача розробити спосіб біохімічної ідентифікації видів айви, який може бути використаний селекціонерами та вченими-садоводами.

Поставлена задача вирішується тим, що у запропонованому способі ідентифікацію видів айви проводять лабораторним способом - шляхом виділення білків з листків айви та їх аналізу методом ізоелектрофокусування в поліакриламідному гелі з амфолітом інтервалу рН 3,0-10,0. Таким чином, види айви ідентифікують за їх білковими спектрами. Результати досліджень є більш точними, ніж при проведенні визначення виду способом-найближчим аналогом.

1. Запропонований спосіб дозволяє провести ідентифікацію виду айви за значно коротший час(за 2 доби).

2. Набагато скорочуються матеріальні та трудові витрати.

3. Істотною відмінністю способу є те, що визначення виду айви проводиться інструменталь-

ним шляхом, методом ізоелектрофокусування білків листків айви в поліакриламідному гелі.

Приклади здійснення способу.

Приклад 1.

Ботанічну характеристику видів/ айва звичайна - *Cydonia oblonga* L./ і айва японська - *Caenomeles japonica* L./ за морфологічними ознаками проводять в період вегетації по забарвленню та формою листків, прилистків, висотою дерева, формою крони, інтенсивністю річного приросту і т.д. Результати наведено в таблиці 1.

Приклад 2.

При проведенні біохімічної ідентифікації видів, білки листків айви виділяли шляхом розтирання їх в калій-фосфатному буфері рН 7,0; 0,05 М з бета-меркаптоетанолом на холоді у фарфоровій ступці [6]. Зразок центрифугуємо 15 хвилин при 15 тис.об/хв.і супернатант використовуємо для проведення ізоелектрофокусування білків в поліакриламідному гелі (Т - 5 %, С - 3 %) з амфолітом діапазону рН 3,0-10,0 [3,4]. Відмивку гелевої пластини від амфоліту з одночасною фіксацією білкового спектру зразка проводимо розчином: трихлороцтова кислота : етанол : вода в співвідношенні (10:25:65). Забарвлення білкових спектрів ведемо 0,05 % Кумасі голубий G-250 в розчині: оцтова кислота : етанол : вода (10:25:65). Відмивку білкового спектру від надлишку барвника проводимо тим же розчином [7]. Кількісний та якісний склад білкового спектру розраховуємо за допомогою комп'ютерної програми, розробленою на Українській науково-дослідній станції карантину рослин [5].

В результаті проведених досліджень, за білковими спектрами, ідентифіковано 2 види айви:

(19) **UA** (11) **66895** (13) **U**

Фіг. 1, 3 - Айва звичайна (*Cydonia oblonga* L).
Фіг. 2, 4 - Айва японська (*Caenomeles japonica* L).

Літературні джерела:

1. Гушин М.Ю., Дем'янець Є.Ф. та ін. Плодівництво і ягідництво. - Київ, «Урожай», 1982, 318 с.
2. Бурмистров А.Д. Ягодные культуры. Л., «Колос», 1972, с. 384 с.
3. Ригетти Т. Изoeлектрическое фокусирование. Теория, методы, применение. М. Мир, 1986. с. 360.
4. Троицкий И.Г. Изoeлектрическое фокусирование белков в самоорганизующихся и искусств-

венных рН градиентах. К., Наукова думка, 1984. с. 280.

5. Мельник П.О., Куц В.А., Сологуб О.С., Авторське свідоцтво на комп'ютерну програму: «Розрахунок ізоелектричних білкових спектрів» - UA, № 26245 від 29.10. 2008 р.

6. Сова В., Кусайкин М. Выделение и очистка белков. ДальГУ. 2006. с. 46.

7. Остерман Л. Исследование биологических макромолекул электрофокусированием, иммуноэлектрофорезом и радиоизотопными методами. М. Наука. 1983. с. 3-121.

Таблица 1

Порівняльна характеристика морфологічних ознак айви різних видів

Морфологічні ознаки	Айва звичайна (<i>Cydonia oblonga</i> L.)	Айва японська (<i>Caenomeles japonica</i> Lindl.)
Форма крони	пірамідальна	конічна
Висота дерева	середньоросла	низькоросла
Крона дерева	середньої густоти	густа
Однорічний приріст	до 100 см	до 40 см
Забарвлення листка	світло зелені	зелені
Поверхня листка	щільна, матова	щільна, блискуча
Форма листка	яйцеподібна	широко-обернено-яйцеподібна
Прилисток	середніх розмірів	великі
Кора	гладка	шершава

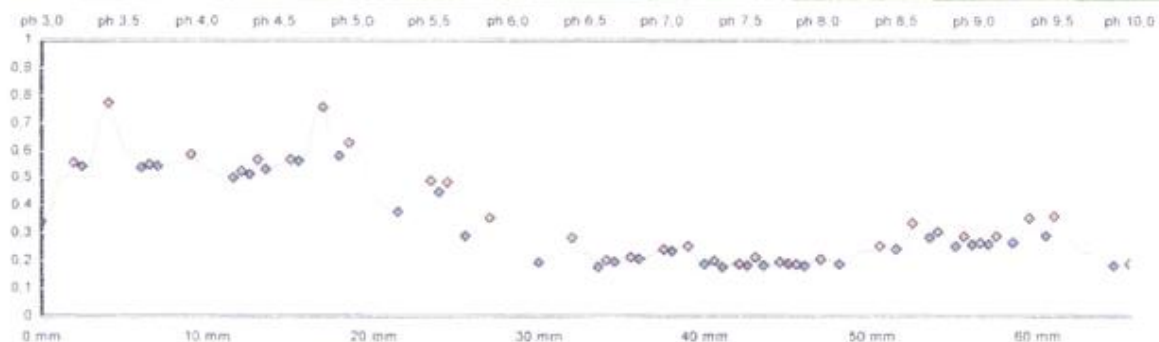


**Фіг. 1. Білковий спектр листка
(айва звичайна).**



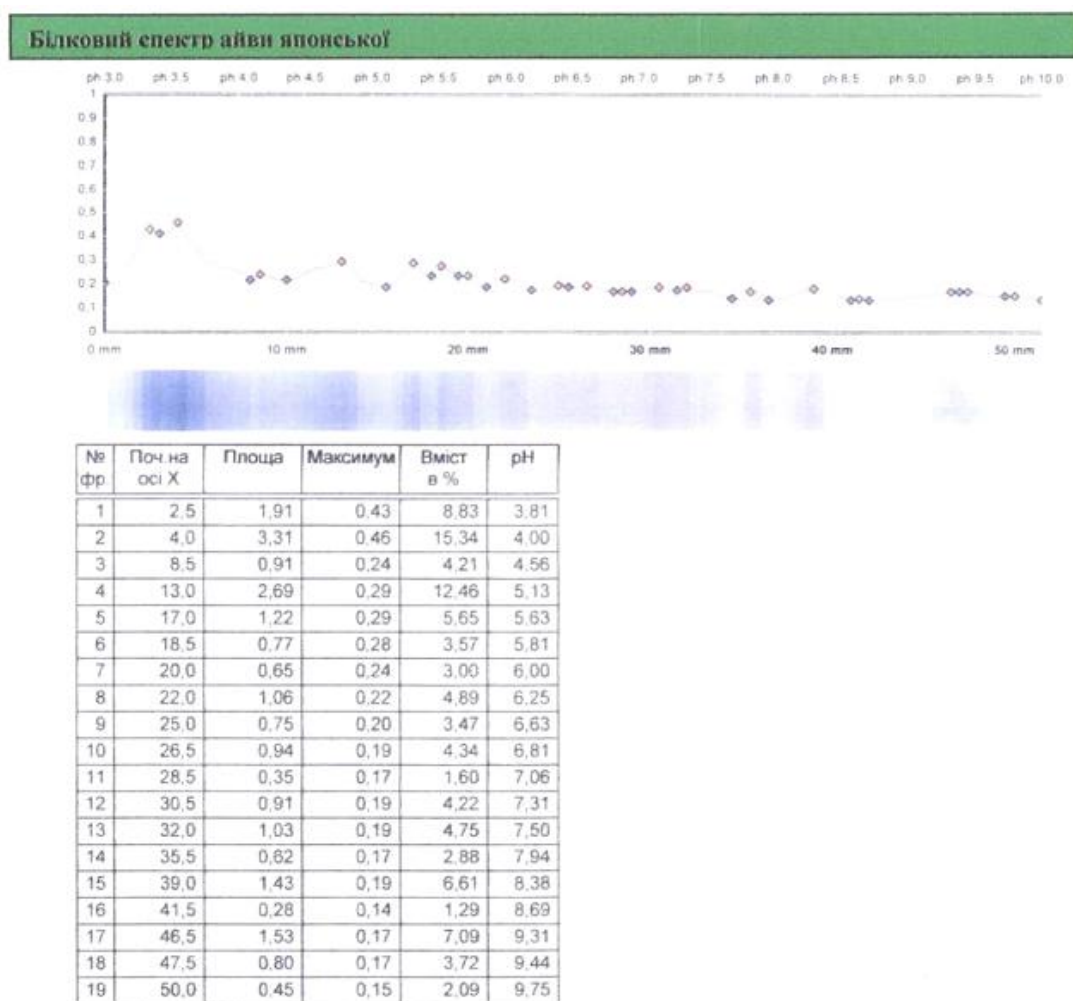
**Фіг. 2. Білковий спектр
листка (айва японська).**

Білковий спектр айви звичайної



№ фр	Поч на осі X	Площа	Максимум	Вміст в %	pH
1	2,0	2,39	0,55	5,15	3,70
2	4,0	4,41	0,78	9,52	3,89
3	6,5	1,09	0,55	2,35	4,14
4	9,0	4,86	0,58	10,48	4,39
5	12,0	1,04	0,53	2,23	4,68
6	13,0	1,09	0,57	2,36	4,78
7	15,0	2,22	0,57	4,78	4,98
8	17,0	3,29	0,76	7,09	5,17
9	18,5	3,48	0,63	7,50	5,32
10	23,5	2,20	0,49	4,74	5,81
11	24,5	1,18	0,49	2,54	5,91
12	27,0	2,59	0,35	5,59	6,16
13	32,0	1,58	0,28	3,42	6,65
14	34,0	0,39	0,20	0,84	6,85
15	35,5	0,62	0,21	1,33	7,00
16	37,5	0,91	0,24	1,97	7,19
17	39,0	0,93	0,26	2,02	7,34
18	40,5	0,39	0,20	0,83	7,49
19	42,0	0,55	0,19	1,20	7,64
20	43,0	0,39	0,21	0,85	7,73
21	44,5	0,57	0,19	1,22	7,88
22	45,5	0,37	0,19	0,80	7,98
23	47,0	0,80	0,21	1,72	8,13
24	50,5	1,63	0,26	3,53	8,47
25	52,5	1,17	0,34	2,52	8,67
26	54,0	0,86	0,31	1,86	8,82
27	55,5	0,55	0,29	1,18	8,97
28	56,5	0,53	0,27	1,14	9,06
29	57,5	0,84	0,29	1,81	9,16
30	59,5	1,24	0,35	2,67	9,36
31	61,0	2,03	0,36	4,38	9,51
32	65,5	0,18	0,19	0,40	9,95

Фіг. 3



Фіг. 4