

УДК 547.96: 582.4

Н.І. Карпенко, пров. інж., В.Р. Бойко, асист.

ЕЛЕКТРОФОРЕТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДІВ *SECURIGERA* DC. І *CORONILLA* L.

Наведено результати електрофорезу запасних білків насіння представників родів *Securigera* DC. і *Coronilla* L. у поліакриламідному гелі. Досліджено зразки насіння 8 видів. Зроблено припущення про доцільність перенесення видів *C. varia*, *C. elegans* і *C. cretica* до роду *Securigera*.

The data from storage proteins electrophoresis of *Securigera* DC. and *Coronilla* L. species' samples in PAAG were presented. The samples' seeds of 8 species were investigated. It is made a supposition about expediency to transfer the *C. varia*, *C. elegans* & *C. cretica* into the genus *Securigera*.

Вступ. Роди *Securigera* DC. та *Coronilla* L. входять до складу триби *Coronilleae* (Adans.) Boiss. (Fabaceae). Вони є критичними в таксономічному відношенні й деякі автори включають до їхнього складу різну кількість видів, а саме: рід *Coronilla* у флорі України визнають або в широкому розумінні (у кількості 7 видів) [1–3], або у вузькому розумінні, включаючи в *Coronilla* лише 2 види: *C. coronata* L. і *C. scorpioides* (L.) W.D.J. Koch [4, 5], а решту видів переносять до родів *Securigera* DC. і *Hippocrepis* L.

Спірним залишається питання про зростання на території нашої країни гірського виду *Coronilla rostrata* Boiss. et Sprun., який і досі наводиться в літературних джерелах [2–4], але не підтверджений у гербаріях KW і Нікітського ботанічного саду жодним зразком. Можливо, цей вид наведений для флори України помилково (через його схожість з *C. cretica*) або є зниклим.

Для з'ясування систематичного положення видів рослин названих родів крім традиційних, морфологічних методів [1–3, 5–7, 10], використовувалися також біохімічні [8–11]. Ми скористалися методом електрофоретичного фракціонування запасних білків насіння. Білок безпосередньо і найбільш повно відображає належність організму до біологічного виду і може бути використаний як фактор ідентифікації сортів, біотипів і видів рослин [12–15]. Крім того, спектр білків залишається стабільним незалежно від умов середовища. У випадку запасних білків окремі їхні смуги можуть бути специфічно представлені у різноманітних генотипів рослин, що дає можливість розпізнавати генотип за присутністю/відсутністю характерних для них смуг у генетично різноманітному матеріалі.

Мета нашого дослідження – уточнення даних про систематичне положення видів двох родів: *Coronilla* та

Securigera за результатами електрофоретичного вивчення їх запасних білків.

Об'єкт і матеріали досліджень. Були використані зразки насіння, отримані з ботанічних установ Європи й зібрані в місцях природного зростання на території України, а саме: *C. emeroides* Boiss. et Sprun. № 11 – Україна, Крим, с. Малий Маяк; *C. valentina* L. (цей вид не є представником флори України, але за [4, 5] прийнятий як типовий для роду *Coronilla* замість *C. varia*) № 31 – Італія, м. Генуя, ботанічний сад університету; *C. coronata* L. № 2 – Україна, Тернопільська обл., с. Гутисько; *C. scorpioides* (L.) Koch. № 55 – Україна, Крим, Нікітський ботанічний сад; *C. cretica* L. № 2 – Україна, Крим, Нікітський ботанічний сад; *C. varia* L. № 4 – Україна, Крим, с. Малий Маяк; *C. elegans* Panz. № 2846 – Німеччина, м. Єна, ботанічний сад університету; *Securigera securidaca* (L.) Degen et Doerfl. № 56 – Україна, Крим, Партеніт.

Для отримання електрофоретичних спектрів запасних білків насіння досліджуваних видів застосовано методику ступінчатого електрофорезу за Леммлі [13].

Назви видів подані за визначником вищих рослин України [2].

Результати та їх обговорення. Порівняльне електрофоретичне дослідження запасних білків зазначених вище видів дозволило виявити від 6 до 13 електрофоретичних білкових смуг (ЕФ-смуг), рівномірно розподілених по всій електрофореграмі. Білкові спектри досліджуваних видів відрізнялися кількістю фракцій, інтенсивністю їх прояву та значеннями відносної електрофоретичної рухливості (табл. 1).

Таблиця 1. ВЕР запасних білків представників родів *Coronilla* та *Securigera*

№ фракції	C. coronata № 1	C. scorpioides № 55	C. cretica № 2	C. varia № 6	C. elegans № 2846	S. securidaca № 56
1	0,297	0,258	0,31	0,323	0,323	0,323
2	0,322	0,297	0,323	0,361	0,361	0,361

3	0,3342	0,361	0,329	0,361	0,400	0,400	0,400
4	0,3944	0,419	0,361	0,400	0,439	0,439	0,516
5	0,4396	0,516	0,400	0,439	0,516	0,516	0,645
6	0,4582	0,542	0,516	0,516	0,555	0,555	0,710
7	0,4770	0,710	0,600	0,645	0,710	0,632	
8	0,5166		0,716	0,716		0,710	
9	0,5422						
10	0,5944						
11	0,6455						
12	0,6655						
13	0,7100						

Найменшу кількість білкових фракцій мав вид *S. securidaca* – 6, а найбільшу – *C. emeroides* – 13. Білкові спектри *C. valentina*, *C. scorpioides*, *C. cretica* та *C. elegans* склалися з 8 фракцій; *C. coronata* та *C. varia* – із 7.

Запасні білки насіння різних видів містили ряд ідентичних електрофоретичних компонентів. Найближчими за електрофоретичними показниками виявилися види *C. varia* і *C. elegans*, які мали по сім ідентичних фракцій (0,323–0,329; 0,361; 0,400; 0,439; 0,516; 0,555; 0,710–0,716); *C. valentina* й *C. coronata* (теж по сім фракцій з однаковими значеннями відносної електрофоретичної рухливості: 0,258; 0,329; 0,361; 0,419; 0,516; 0,542; 0,710–0,716); а також *C. cretica* та *S. securidaca* (шість фракцій: 0,323–0,329; 0,361; 0,400; 0,516; 0,645; 0,710–0,716). П'ять фракцій об'єднують види *C. valentina*, *C. coronata* та *C. scorpioides*; і п'ять спільних мають *C. cretica*, *C. varia*, *C. elegans*, *S. securidaca*.

Установлено, що три електрофоретичні смуги з ВЕР 0,323–0,329; 0,516; 0,710–0,716 спостерігалися в білкових спектрах усіх вивчених нами видів.

Використовуючи наявність фракцій і значення їхньої відносної електрофоретичної рухливості, було проведено кластерний аналіз електрофоретичних спектрів запасних білків насіння представників двох родів. Розрахунки й побудова дендриту виконано за допомогою програмного пакету STATISTICA.

Для об'єднання об'єктів застосували метод Варда; як міру подібності між об'єктами використали метрику "відсоток незбіжностей" [16]. На дендрограмі досліджувані види за ступенем подібності електрофоретичних спектрів розділилися на 3 кластери. У першому об'єдналися морфологічно дуже близькі види – багаторічники *C. varia* і *C. elegans* з однорічниками *C. cretica* та *S. securidaca*; у другому – *C. valentina* та *C. coronata* – багаторічники – з однорічником *C. scorpioides*; а третій кластер утворений багаторічником *C. emeroides*.

Висновки. Електрофоретичні спектри запасних білків насіння багаторічних видів відрізнялися від таких однорічних видів у межах роду *Coronilla emeroides* Boiss. et Sprun. за біохімічними особливостями запас-

них білків насіння відрізнявся як від видів роду *Coronilla*, так і *Securigera*. Види *C. varia*, *C. elegans* і *C. cretica* виявилися більш близькими до роду *Securigera*, а не *Coronilla*, як вважалося раніше [1–3]. Отже, результати наших досліджень узгоджуються із даними роботи [4, 5], де автори переносять *C. varia*, *C. elegans* і *C. cretica* до роду *Securigera*, що раніше вважався монотипним, а саме: *Coronilla cretica* L. – до *Securigera cretica* (L.) Lassen; *Coronilla elegans* Pancic – до *Securigera elegans* (Pancic) Lassen; *Coronilla varia* L. – до *Securigera varia* (L.) Lassen.

1. Нечитайло В.А., Кучерява Л.Ф. Ботаніка. Вищі рослини. – К., 2000. – С. 288. 2. Шеляг-Сосонко Ю.Р. Род *Coronilla* // Доброчаев Д.Н., Котов М.И., Прокудин Ю.Н. и др. Определитель высших растений Украины. – К., 1987. – С. 198–199. 3. Флора СССР : В 30 т. – М.; Л., 1946. – Т. 13. – С. 247–255. 4. Mosyakin S.L., Fedoronchuk M.M. Vascular plants of

Ukraine. A nomenclatural checklist. – Kiev, 1999. – P. 210–211. 5. Lassen, P. A new delimitation of the genera *Coronilla*, *Hippocrepis*, and *Securigera* (Fabaceae) // Willdenowia. – 1989. – Vol. 19. – P. 49–62. 6. Uhrova A. // Beih. Bot. Centralbl. – 1935. – Vol. 53 (1–3). – P. 1–174. 7. Васильченко И.Т. // Тр. по прикл. бот. и селекц. – 1931. – Т. 25, № 4. – С. 183–194. 8. Білецький Ю.М. // Фармацевтичний журнал. – 1964. – № 1. – С. 22–25. 9. Комиссаренко Н.Ф., Зоз И.Г. // Растит. Ресурсы. – 1969. – Т. 5, вып. 2. – С. 178–182. 10. Зоз И.Г. // Бот. журн. – 1970. – Т. 55, № 7. – С. 982–994. 11. Стрижова-Салова Н.И. // Фармакол. и токсикол. – 1957. – Т. 20, № 3. – С. 59–63. 12. Сафонов В.И., Сафонов М.П. // Физиол. растений. – 1969. – Т. 16, вып. 2. – С. 350–357. 13. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие). – М., 1981. 14. Конярев В.Г. Белки растений как генетические маркеры. – М., 1983. 15. Лидюра О.И. Рід *Medicago* L. (Fabaceae) у флорі України. – К., 1998. 16. Боровиков В.П. Популярное введение в программу STATISTICA. – М., 1998.

Надійшла до редколегії 28.09.04

УДК 616.24-002.5 +612.014.1

І.В. Чорна, пров. інженер, С.В. Демидов, д-р біол. наук,
Н.М. Дергай, пров. інж.

ВИВЧЕННЯ МОРФОМЕТРИЧНИХ ПОКАЗНИКІВ Т-ЛІМФОЦИТІВ СЕЛЕЗІНКИ МУРЧАКІВ ПРИ СЕНСИБІЛІЗАЦІЇ ПІД ВПЛИВОМ ТИМАЛІНУ Й ТИМОГЕНУ

Установлено, що зміна розміру ядра й клітини є важливим індикатором клітинної функції. Число ядерців можуть бути показниками метаболічних процесів у клітині, а також критерієм активності ділянок ДНК, що кодують рибосомальні гени. Застосування тималіну і тимогену призводить до активації генетичного апарату клітини, активізує метаболізм імункомпетентних клітин, що призведе до проліферації і диференціації Т-лімфоцитів.

It was demonstrated that changes of the nucleus and cell size is an important indicator of the cell function. Thus, nucleoli number can be a good indicator of the cell metabolic processes and also activity criterion of DNA sequences encoding ribosomal genes. Timalin and timagen using cause activation of the cell genetic apparatus, activate metabolism of the immunocompetent cells, that leads to the proliferation and differentiation of the T-lymphocytes.

Вступ. Фізіологічні чинники впливають на об'єм ядра подвійно: під час поділу клітини й при функціональних змінах у ядрі. Перші каріометричні спостереження мали відношення до функціонального стану клітин. Різновидності функціонального стану клітини так чи інакше стосуються клітинного метаболізму: настають зміни білкового синтезу, а також зміни в депонуванні, у синтезі або виведенні різноманітних метаболітів. Об'єм цитоплазми залежить від активності ядра, а також від його об'єму. Об'ємні зміни ядра, які настають у результаті функціональних змін, передують змінам об'єму цитоплазми.

Спостереження за поділом клітин призвели до розшифрування ряду важливих каріометричних співвідношень [1].

Дослідженнями Р. Хертвіг [2] було показано, що між розміром ядра й розмірами клітини є тісна залежність і що ядерно-плазматичні відношення залишаються майже постійними. Згодом П. Хартманн [3] і Ф. Кормер [4] знайшли аналогічну кореляцію між величиною ядра та ядерця.

Результатом активації метаболізму клітини є зміна морфометричних показників ядра, ядерця і клітини. При цьому в ядрі й цитоплазмі відбуваються зміни алометричного типу [5–7]. Використовуючи метод оцінки каріометричних результатів клітини нами вивчався вплив тималіну й тимогену при сенсibilізації на ці показники.

Об'єкти й матеріали досліджень. У дослідженнях використано 50 мурчаків масою 250 ± 25 г. Для розвитку гіперчутливості негайного типу взяли класичну модель імунізації тварин конячою сироваткою.

Метод комп'ютерного аналізу зображень. Метод заснований на порівнянні інтенсивності фарбування структур. За інтенсивністю фарбування судять про кількісний вміст речовини в зразках. Комп'ютерний аналіз зображення проводився за системою "IBAS-2000" (виробництва ФРГ) за заданою програмою. Програма аналізу включає в себе морфометрію за такими параметрами: 1) площа клітини; 2) площа ядра; 3) відношення площі

ядра до площі клітини; 4) кількість ядерців, 5) сумарна площа ядерців; 6) відношення площі ядерців до площі ядра. Мікропрепарат з мікроскопа проектується на екран дисплея в чорно-білому зображенні. Інтенсивність фарбування структур слугує показником кількісного вмісту речовини. Отримане зображення корелюється, виводиться до друку, потім структури, які нас цікавлять, дискримінуються і проводиться обчислення необхідних параметрів.

Статистичну обробку результатів виконують за допомогою пакета прикладних програм "Кіндо" (мова реалізації "Фортран-77") на мікро-ЕВМ р-11/ 23, включаючи стандартну варіаційну статистику й регресійний аналіз. Окрім програм, які забезпечують підтримку математичних моделей систем, що розвиваються, нами застосовано діалогову персональну систему прийняття рішень (ДПСР), реалізовану на мові "Фортран-77" в операційному середовищі РХ-11м. До її функцій входило накопичення змістовних інтерпретацій стану різних ланцюгів клітинного та гуморального імунітету, а також молекулярних механізмів імунної відповіді на клітинному рівні. ДПСР – це пакет прикладних програм, які включають пакет програм статистичного аналізу "Кіндо", пакет програм маніпулювання класифікаціями (збудованими на

© І.В. Чорна, С.В. Демидов, Н.М. Дергай, 2005

основі роботи програм статистичного аналізу) і пакет програм діалогової підтримки процесу прийняття рішень у процесі аналізу закономірностей, що вивчаються. Отже, ДПСР у процесі проведення дійсного аналізу був настроєний на предметну область "Імунологія" і проблемну "Пошук і опис закономірностей". У результаті була синтезована вузькоспеціалізована діалогова підсистема "Імунологія", яка буде використана в подальших дослідках з розглянутої проблеми.

При дослідженні враховували наступні параметри: площу ядра, ядерця та клітини, ядерно-ядерцеві й клітинні відношення, кількість ядерців.