



УДК 582.998.1

© 2008

М. М. Марченко, А. Є. Шелифіст, Л. М. Чебан

## Характеристика електрофоретичних спектрів естераз насіння *Saussurea discolor* (Willd.) DC. та *S. porcii* Degen.

(Представлено членом-кореспондентом НАН України І. П. Григорюком)

*We investigated the electrophoretic spectrum of esterase of seeds *S. discolor* and *S. porcii*. The isoenzyme spectrum of esterase of seeds of the explored species is shown to be characterized by a high number of the components with the low electrophoretic mobility. Particularly, this is expressed for the alkaline forms of the enzyme.*

Сучасний рівень досліджень флори України тісно пов'язаний з науково-практичними завданнями і потребує детальної критичної обробки великих родин, зокрема родини Asteraceae, до якої належить рід *Saussurea*. Останній належить до числа тих родів рослин, у яких незначна кількість стабільних ознак і до нинішнього часу не існує точної класифікації представників [1]. Одним із підходів для вирішення цієї проблеми може стати порівняльний аналіз електрофоретичних спектрів естераз насіння рослин різних видів, а також дослідження рухомості в електричному полі окремих компонентів цього ферменту [2–5]. Відомо про наявність у вищих рослин адаптивної еволюції естераз насіння, направленої в бік розвитку властивостей, що відповідають за підвищення рухомості їх молекул під час електрофорезу, а також про існування кореляції електрофоретичного спектра даного ферменту із сортовими характеристиками рослин [6–8].

У зв'язку з вищесказаним нами досліджені ізоферментні спектри кислих і лужних естераз насіння *Saussurea discolor* (Willd.) DC. і *S. porcii* Degen. та проведений їх порівняльний аналіз.

Насіння рослин *S. discolor* та *S. porcii* було зібране в природних умовах. Обидва види є надзвичайно рідкісними. Так, *Saussurea discolor* (Willd.) DC., занесений до Червоної книги України [9], в Українських Карпатах відомий тільки з одного місця зростання [10]. *S. porcii* Degen. — вузьколокальний ендемік Східних Карпат, занесений до Європейського Червоного списку і є кандидатом на внесення у Світовий Червоний список [1, 11, 12]. На сьогодні виявлено дві його популяції.

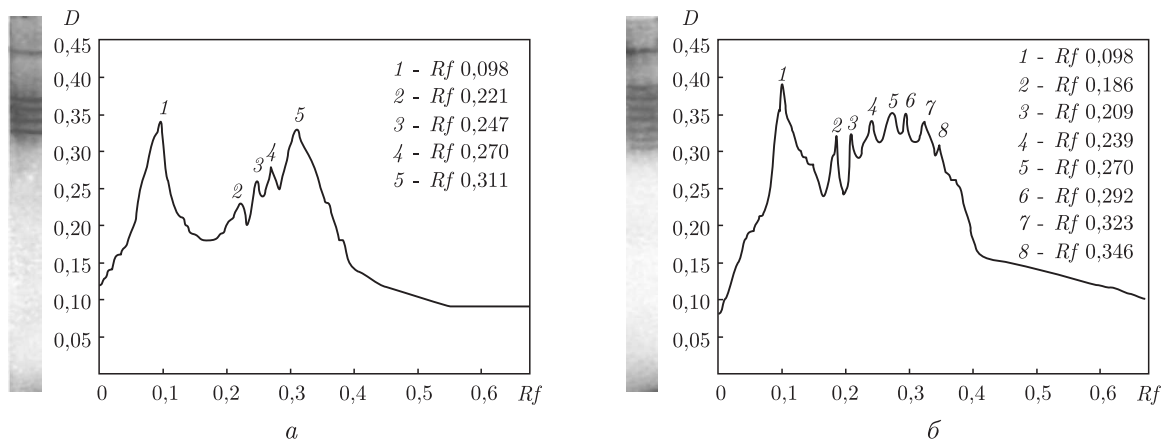


Рис. 1. Електрофоретичні спектри та денситограми кислих естераз насіння *S. discolor* (а) та *S. porcii* (б)

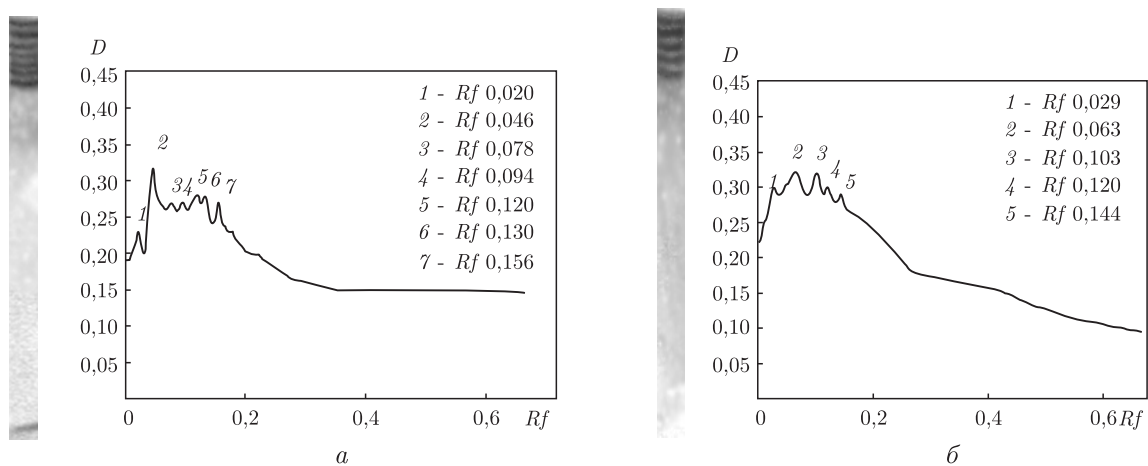


Рис. 2. Електрофоретичні спектри та денситограми лужних естераз насіння *S. discolor* (а) та *S. porcii* (б)

Екстрагування естераз насіння здійснювали за допомогою буфера для виділення такого складу: 0,05 М *трис*-цитратний буфер, рН 7,5, 0,2 М сахароза, 5,7 мМ аскорбінова кислота, 8,3 мМ цистеїн та 1,7 мМ поліетиленгліколь [13]. Супернатант безпосередньо використовували для проведення електрофорезу в системі електродних буферів: *трис*-гліциновий, рН 8,3 (кислі форми ферменту) та *трис*-ацетатний, рН 4,0 (лужні форми ферменту) [14]. Ізоформи естераз виявляли гістохімічно за  $\alpha$ -нафтилацетатом у 0,2 М фосфатному буфері (рН 6,0). Як барвник використовували 1 мМ розчин діазолу синього в цьому ж буфері [13]. Обробку отриманих електрофореграм здійснювали за допомогою сканера Біо Рад 2000 з програмним забезпеченням Gel Doc.

Одним із критеріїв оцінки білків і ферментів є швидкість їх переміщення в електричному полі. При зіставленні електрофореграм, отриманих для кислих і лужних форм естераз насіння *S. discolor* та *S. porcii* (рис. 1, 2), видно, що обидва види мають спектр ферментів з низькою електрофоретичною рухомістю. У цілому електрофоретична рухомість найшвидшого лужного компонента удвічі менша за таку кислого. Найшвидша ізоформа виявлена серед кислих естераз насіння *S. porcii* (див. рис. 1). Її електрофоретична рухомість сягає 0,346. Як вже було зауважено, компоненти лужних форм ферментів характеризу-

ються значно меншою електрофоретичною рухомістю. Так, найшвидшій ізоформі притаманна  $Rf$  0,156, однак виявлена вона, на відміну від попереднього випадку, для насіння *S. discolor*. Найменш рухома форма також виявлена в спектрі естераз насіння даного виду, і її  $Rf$  становить 0,020 (див. рис. 2).

Стосовно якісної та кількісної характеристики електрофоретичні спектри як кислих, так і лужних естераз насіння *S. discolor* та *S. porcii* істотно відрізняються (див. рис. 1). Так, кислі естерази насіння *S. discolor* представлені п'ятьма ізоформами, тоді як у *S. porcii* їх виявлено вісім. Незважаючи на відносно високу кількість ізоформ, спільними для обох видів виявилися тільки дві, а саме: компонент з найменшою електрофоретичною рухомістю (0,098) та компонент з  $Rf$  0,270.

Серед кислих компонентів виду *S. discolor* максимальна інтенсивність забарвлення притаманна формам ферменту з  $Rf_1$  та  $Rf_5$ , які характеризуються відповідно найменшою та найбільшою здатністю до переміщення в електричному полі. Ізоформам ферменту з  $Rf_2$ ,  $Rf_3$  та  $Rf_4$ , що характеризуються середньою швидкістю руху, властива дещо нижча інтенсивність забарвлення електрофоретичних смуг.

Для кислих естераз насіння *S. porcii* максимальна інтенсивність забарвлення притаманна компоненту спектра з найменшою рухомістю. Смуга, утворена найшвидшим компонентом, навпаки, характеризується незначним рівнем даного показника. Формам з відносною електрофоретичною рухомістю у межах 0,186–0,323 властива приблизно однакова інтенсивність забарвлення.

На відміну від кислих форм ферменту, електрофоретичний спектр лужних естераз насіння виявився багатшим у *S. discolor*, оскільки він представлений сімома компонентами, тоді як для *S. porcii* цей показник становить п'ять (див. рис. 2). Спільною для обох видів є тільки ізоформа з  $Rf$  0,120. Щодо характеристики прояву окремих смуг на електрофореграмі для *S. discolor* виявлена порівняно слабка інтенсивність забарвлення всіх компонентів спектра, крім ізоформи з  $Rf$  0,046. Для *S. porcii* інтенсивність забарвлення окремих смуг знаходиться практично на одному рівні й у середньому є більшою за таку попереднього виду.

Отже, узагальнюючи результати дослідження, можна стверджувати, що ізоферментний спектр естераз насіння видів *S. discolor* та *S. porcii* характеризується високою кількістю компонентів з низькою електрофоретичною рухомістю, що особливо виражено для лужних форм ферменту.

1. Лутшиц С. Ю. Род *Saussurea* DC. (Asteraceae). – Ленинград: Наука, 1979. – 283 с.
2. Мартиненко В. С., Антоноук М. З., Терновская Т. К. Наследование генов зерновой эстеразы в популяциях ржи (*Secale cereale* L.) // Цитология и генетика. – 2004. – **26**, № 5. – С. 16–23.
3. Глазко В. И. Генетически детерминированный полиморфизм ферментов у некоторых сортов сои (*Glycine max*) и дикой сои (*Glycine soja*) // Там же. – 2000. – **34**, № 2. – С. 77–83.
4. Созинов А. А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. – Москва: Мир, 1985. – 272 с.
5. Booy G., Vanraamsdonk L. W. D. Variation in the enzyme esterase within and between tulipa species-usefulness for the analysis of genetic-relationships at different taxonomical levels // Biochem. Syst. and Ecol. – 1998. – **26**, No 2. – P. 199–224.
6. Oja T. Isoenzyme diversity and phylogenetic affinities in the section bromus of the grass genus bromus (poaceae) // Ibid. – 1998. – **26**, No 4. – P. 403–413.
7. Truta E., Gille E., Totn E., Maniu M. Biochemical differences in Cannabis sativa L. depending on sexual phenotype // Appl. Genet. – 2002. – **43**, No 4. – P. 451–462.
8. Zhang Y. Polymorphism at the esterase isozyme locus Est 10 associated with phylogenetic differentiation in rice // Gen. Genet. Syst. – 2003. – **78**. – P. 285–290.
9. Красная книга СССР. – Москва: Лесн. пром-сть, 1984. – Т. 2. – 480 с.

10. Чопик В. І. Високогірна флора Українських Карпат. – Київ: Наук. думка, 1976. – 296 с.
11. Черней І. І., Буджак В. В., Термена Б. К. Нові відомості про поширення на Чернівецькій судинних рослин з “Червоної книги України” та їх охорона // Укр. бот. журн. – 2001. – 58, № 1. – С. 78–83.
12. Tassenkevich L. Red List of Vascular Plants of the Carpathan Mountains. – Lviv: State Museum of Natural History, NAS of Ukraine, 2002. – 29 p.
13. Чупов В. С., Кудрякова Н. В. Электрофоретическая подвижность эстераз семян представителей семейства Liliaceae как показатель уровня их эволюционного развития // Бот. журн. – 1996. – 81, № 2. – С. 47–54.
14. Савоськин И. П., Кадырова Р. Б. Изоферменты некоторых спорных видов рода *Astragalus* L. Сибири // Хемосистематика и филогения высших растений: Тез. докл. – Москва, 1986. – С. 105–107.

Чернівецький національний університет  
ім. Юрія Федьковича, Чернівці

Надійшло до редакції 07.06.2007