

Національна академія наук України
Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного

На правах рукопису

КОЛЕСНИК Любов Василівна

ЦИТОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ВІРУСОСТІЙКОСТІ
РОСЛИН ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ
ПРИ РІЗНИХ ТИПАХ ІНФЕКЦІЙНОГО ПРОЦЕСУ

03.00.06 — вірусологія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора біологічних наук

Київ — 1996

ЛННБ України ім.В.Стефаніка



00754216 (P)

35.321

... виконана у відділі фітопатогенних вірусів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України.

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, академік АН України, професор КІШКО Я. Г.,
доктор біологічних наук СИЛАЄВА А. М.,
доктор біологічних наук ДМИТРИЄВ О. П.

Провідна організація: Московський державний університет ім. М. В. Ломоносова.

Захист відбудеться 18 вересня 1986 р. о 10 год. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 01.81.01 при Інституті мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України за адресою:

252143 Київ 143, вул. Заболотного, 154.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України.

Автореферат розісланий 19 липня 1996 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради

Л. М. ПУРІШ

ЛННБ ім. В. Стефаніка
АН України

1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. Одним із основних факторів, що спричиняють значні втрати урожаю сільськогосподарських культур, є вірусні хвороби, в боротьбі з якими хімічні засоби малоефективні і можуть використовуватися лише для знищення комах-переносників. Тому головним напрямком у захисті рослин від вірусних інфекцій є запровадження в практику стійких сортів. Виведення вірусостійких сортів сільськогосподарських культур повинне ґрунтуватися на глибоких знаннях проблеми стійкості рослин, що охоплюють різні типи взаємовідношень рослин і вірусів, які проявляються в локалізації інфекції або в системному її розповсюдженні. На сьогоднішній день добре вивчені взаємовідношення обмеженого кола рослин і патогенів лише при реакції надчутливості, що виражається у формуванні локальних некрозів і обмеженні системного транспорту інфекції. Проте майже зовсім не вивчені механізми толерантності та польової стійкості, а для більшості систем взаємовідношення між вірусом і клітинним геномом коливаються в широких межах і проявляються різними симптомами, внутрішньоклітинними модифікаціями тощо. У даному випадку при виборі вірусостійких сортів до патогена селекціонеру повинні допомогти основні критерії вірусостійкості, виведені з конкретного дослідження взаємовідношень вірусу з клітинами чутливих і відносно стійких рослин. Але до цього часу прогрес у даній області залишається недостатнім, що в повній мірі стосується також взаємовідношень між вірусами і клітинами різних за сприйнятливістю рослин цукрових буряків - однієї з провідних технічних культур в Україні.

В геномі цукрових буряків не ідентифіковані детермінанти стійкості до вірусів, що їх уражують, але на практиці використовуються сорти і селекційні лінії, які відрізняються за продуктивністю та сприйнятливістю до вірусів жовтухи і мозаїки буряків. Тому, незважаючи на те, що вивчення вірусних хвороб цукрових буряків проводилось і раніше, не відпала необхідність глибокого і детального вивчення біології збудників вірусних хвороб, механізмів їх взаємовідношень з клітинами рослин-хазяїв, природи стійкості окремих сортів до вірусного ураження, природних захисних реакцій рослин, а також факторів, що на них впливають. Такі дослідження дозволять одержати дані, необхідні для створення теорії клітинної резистентності рослин до вірусів, та розробити корисні в селекції методи тестування. Крім того, знання основних фізіологічних і біохімічних показників взаємовідношень між рослинами і вірусами, можливо, допоможуть розробити нові перспективні методи боротьби з хворобами рослин спрямовані на стимуляцію захисних механізмів клітини.

Мета та задачі дослідження. Основною метою роботи було дослідження взаємовідношень вірусів і рослин при різних типах інфекційного процесу для вивчення клітинних механізмів вірусостійкості рослин. Зокрема вирішувались такі задачі:

- ідентифікувати основні збудники вірусних хвороб цукрових буряків на території України, одержати очищені препарати вірусів та діагностичні антисироватки;

- провести оцінку вірусостійкості основних районованих сортів цукрових буряків та диких видів Beta для виявлення відносно стійких рослин, придатних для вивчення клітинних вірусіндукованих захисних процесів;

- дослідити особливості репродукції вірусів жовтухи та мозаїки буряків в клітинах різних за сприйнятливістю сортів;
- ідентифікувати вірус мозаїки буряків за морфологічним типом вірусоспецифічних циліндричних включень;
- вивчити ультраструктуру клітин рослин-хазяїв, заражених вірусом слабого помолтиння буряків;
- дослідити особливості репродукції та інфекційного процесу у рослин цукрових буряків, штучно заражених вірусами огіркової та тютюнової мозаїки, для виявлення клітинних факторів, що впливають на пригнічення процесів реплікації та системного транспорту вірусів;
- вивчити механізм антивірусної дії клітинних компонентів в листя буряків та можливості їх практичного застосування.

Наукова новизна. Вірусологічним аналізом із уражених рослин цукрових буряків виділені, крім широко розповсюджених вірусів жовтухи (ВЖБ) і мозаїки буряків (БМБ), віруси слабого помолтиння буряків (ВСПБ), огіркової (ВОМ) та тютюнової (ВТМ) мозаїки. Проведена оцінка районованих сортів цукрових буряків, серед яких за сприйнятливостю та польовою стійкістю до вірусів виділені відносно стійкі сорти, придатні для вивчення вірусіндукованих клітинних захисних процесів. Встановлено, що рівний ступінь сприйнятливості рослин до ВЖБ супроводжується локалізацією вірусу тканинами флоєми чи мезофілу листа та індукцією локальних автолітичних структур; виявлений прямий зв'язок між функціонуванням лізосомального компартмента клітин до зараження і появи симптомів та сортовою стійкістю до інфекції БМБ. Проведена класифікація БМБ за морфологічним типом вірусоспецифічних протеїнових циліндричних включень та встановлені зміни ультраструктури клітин у

динаміці розвитку вірусної інфекції. Вперше в Україні ідентифіковано ізометричний вірус слабокго пожатіння буряків та детально вивчені особливості ультраструктури інфікованих рослин-хазяїв. В ультратонких зрізах клітин флоєми листа цукрових буряків з симптомами жовтухи і мозаїки виявлена змішана інфекція вірусів, мікоплазми- та рикетсієподібних організмів із специфічною локалізацією та ультраструктурою.

За даними дослідження репродукції ВММ, виділеного з рослин цукрових буряків, встановлено, що інфекція ВММ у таких рослин локалізована первинними інфекційними докусами, індукуює набуту стійкість і процеси гіперплазії в прилеглих до інфікованих клітинах паренхіми мезофілу і провідної системи, що призводить до порушення міжклітинного і судинного транспорту вірусної інфекції. Вивчення особливостей інфекційного процесу ВММ при штучному зараженні рослин цукрових буряків свідчать, що випробувані сорти є стійкими до інфекції ВММ, в безсимптомних інфікованих тканинах яких відбуваються процеси реплікації та міжклітинного транспорту вірусу, а системний транспорт через провідну систему не відбувається. При цьому виявлена висока інактивуюча здатність клітинних компонентів листа буряків щодо інфекційності ВММ. Досліджені компонентний склад, фізико-хімічні властивості, хімічна природа антивірусного компонента (АВК) рослин, механізм інактивуючої дії АВК, можливості практичного застосування.

Аналіз результатів дослідження репродукції, біо-, цитохімічних і ультраструктурних особливостей взаємодії між вірусами і клітинами при різних типах інфекційного процесу дає підставу висунути цитопатичну концепцію реалізації природних клітинних механізмів вірусостійкості випробуваних рослин.

Практичне значення. Ідентифікація вірусів з використанням специфічних методів діагностики, випробування селекційного матеріалу, нових сортів та гібридів на стійкість до вірусного ураження, дослідження захисних клітинних реакцій на вторгнення вірусу розширили існуючі критерії вірусостійкості рослин, які можуть бути включені в загальну систему засобів захисту рослин від вірусних хвороб. Зокрема, одержані очищені препарати вірусів, патогенних для цукрових буряків, та діагностичні антисироватки можуть використовуватися при лабораторних аналізах на дослідно-селекційних станціях та насінницьких господарствах. Проведені дослідження розширили коло збудників хвороб важливої технічної культури в Україні: захворювання типу жовтух та мозаїки спричиняються не тільки давно відомими вірусами жовтухи та мозаїки буряків, а також вірусами слабкого пожовтіння буряків, огіркової мозаїки, мікоплазмо- та рикетсієподібними організмами. Вивчення оптимальних умов дії та механізму антифітотвірусної дії клітинних компонентів з листя буряків, а також їх рістстимулюючі властивості відкривають перспективу практичного застосування природного екологічно безпечного засобу при вирощуванні овочевих культур.

Електроннографії, одержані автором у процесі виконання роботи, включені в довідник "Микроорганизмы - возбудители болезней растений" /Київ, 1988/ як ілюстраційний матеріал. Матеріали дисертації можуть слугувати навчальним посібником для студентів біологічних факультетів та початкущих фітотвірусологів, цитологів.

Апробація роботи. Матеріали дисертації доповідались та обговорювались на II конференції НДР а електронної мікроско-

пії (Дреаден, 1984), Всесоюз. нарадах з імунітету с.-г. культур до вірусних хвороб та шкідників (Вільнюс, 1984; Рига, 1986), VI, VII з'їздах УМО, I з'їзд. УМТ (Донецьк, 1984; Чернівці, 1989; Одеса, 1993), VII з'їзді ВМО (Алма-Ата, 1985), Всесоюз. конф-ція "Фитонциды. Бактериальные болезни растений" (Ужгород, 1985; Львів, 1990), V Укр. біохім. з'їзді (Івано-Фр., 1987), XIII Всесоюз. конф-ції з електронної мікроскопії (Звенигород, 1988), Всесоюз. наук.-практич. семінарі "Индукцированная устойчивость с/х культур к фитопатогенам" (Ростов-н/Д, 1989), Міжнарод. симп. з фітовірусології (Еберсвальд, 1989; Ялта, 1994), Всесоюз. конф-ції "Микробиол. и биотехнол. основы интенсиф. растениеводства и кормопроизводства" (Алма-Ата, 1990), Наук. конф-ції, присвяченій 100-річчю відкриття вірусів Д.І.Івановським (Ростов-н/Д, 1992), засіданнях відділу фітопатогенних вірусів та секції "Молекулярна біологія" Інституту мікробіології і вірусології НАН України.

Публікації: за матеріалами дисертації опубліковано 40 робіт, в тому числі 15 статей у вітчизняних та зарубіжних журналах.

Структура на об'єм роботи. Дисертація викладена в 1-му томі, містить вступ, огляд літератури (2 глави), опис матеріалів та методів дослідження, експериментальну частину (3 глави з обговоренням результатів), підсумки, висновки, список цитованої літератури (744 джерела) та додаток електронографій. Текст викладено на 306 стор. машинопису, включає 19 таблиць, 65 рисунків. Додаток вміщує 137 електронографій з підписами та списком умовних позначень.

Конкретна особиста участь автора. Робота виконана автором особисто, відповідно до плану тематичних досліджень

відділу фітопатогенних вірусів ІМБ НАН України протягом 1982-1993 рр. Деякі дослідження біології збудників вірусних хвороб цукрових буряків, ідентифікація вірусів, одержання антисироваток, оцінка районованих сортів цукрових буряків на вірусостійкість, вирощування рослин та одержання інфекційного матеріалу проведені за участю к.о/г.н. Н.В.Порембської та інженера Г.В.Кравчої. Постановка задачі, електронно-мікроскопічні, біо-, цитохімічні та інші дослідження, інтерпретація одержаних результатів проведені автором особисто.

На захист виносяться наступні положення:

- положення про кореляцію між функціонуванням лізосомального компартменту клітин та сортовою симптоматичною стійкістю цукрових буряків до вірусної інфекції;

- твердження про те, що локальний характер інфекції вірусу огіркової мозаїки у рослин цукрових буряків зумовлений вірусіндукованими клітинними механізмами вірусостійкості, що призводять до обмеження міжклітинного і судинного транспорту інфекції;

- положення про те, що цукрові буряки є стійкими до вірусу тютюнової мозаїки: безсимптомна інфекція в инокульованих тканинах пов'язана з інактивацією вірусу, пригніченням матричної активності вірусної РНК та синтезу білка, розщепленням структурного білка антивірусним клітинним компонентом з протеазною активністю;

- цитолітичну концепцію реалізації природних клітинних механізмів вірусостійкості рослин, згідно з якою взаємовідношення між клітинним та вірусним генсмами індукують ультраструктурні перебудови клітини, що призводять до пригнічення реплікації, деструкції та системного транспорту вірусу.

II. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

В роботі використовувались рослини цукрових буряків (*Beta vulgaris* L. v. *saccharifera* Alef.) та рослини-індикатори різної таксономічної приналежності. Для лабораторних досліджень відбирали польові зразки з листя та цілих рослин цукрових буряків з симптомами вірусного ушкодження, які потім висаджували в теплиці або вегетаційному будиночку. Сік з даних рослин з метою ідентифікації патогена використовували як інокулум для штучного зараження рослин-індикаторів.

Для очистки вірусів із інокульованих рослин застосовували методи диференційного центрифугування за схемами різних авторів, розробленими для конкретного вірусу. Так, при очистці ЕЖБ з рослин *Tetragonia expansa*, заражених за допомогою попелиць, застосовували методику Kassanis et al. /1977/. ВСПБ з листя кольорової капусти чистили за модифікованою нами схемою Duffus, Russell /1975/. Для очистки ВМБ використовували різні рослини та схеми, запропоновані Gruntzig, Fuchs /1979/, Fujisawa et al. /1983/ та Van der Meer, Garnett /1987/. Ізолят вірусу огіркової мозаїки з листя цукрових буряків, очищували з рослин тютюну за схемою Lot et al. /1972/; ВТМ - за методикою Wetter, Bernard /1977/. Концентрацію вірусу визначали спектрофотометрично, беручи до уваги, що коефіцієнт екстинкції при 260 нм дорівнює 2,9; 2,4; 2,7 та 5,0 оптичним одиницям для ЕЖБ, ВМБ, ВТМ та ВОМ відповідно.

Для ідентифікації вірусів і виявлення вірусного антигену в екстрактах рослинних тканин використовували як специфічні стандартні антисироватки, так і одержані нами в лабо-

раторних умовах імунізацією кроликів очищеною вірусною суспензією за загальноприйнятими методами.

Інактивуючу здатність клітинних екстрактів з листя цукрових буряків визначали змішуванням рівних об'ємів досліджуваного розчину та очищених препаратів вірусів з наступним тестуванням на рослинах-індикаторах. Інгібування інфекційності вірусу в досліді виражали у відсотках відносно контролю.

Вивчення фізико-хімічних властивостей інгібітору з листя цукрових буряків проводили за методами, описаними в роботі Smookler /1971/, природу та механізм антивірусної дії вивчали за сучасними біофізичними методами (визначення плавної густини препарату ультрацентрифугуванням в градієнті густини CsCl, розділення білків ізоелектрофокусуванням в Борат-поліольній системі /Троїцький, Ажицький, 1982/, дослідження дії речовини на матричну активність вірусної РНК в неклітинній системі трансляції *in vitro* /Клеменс, 1987/ та ін.).

Підготовку препаратів для електронно-мікроскопічного та цитохімічного дослідження проводили за методами, описаними в монографіях відомих авторів /Гайер, 1974; Уикли, 1975/.

Активність кислотої фосфатази визначали колориметричним методом за Фіске-Суббароу /Белогерський, Г. Юркуков, 1951/. Вміст білка в рослинних екстрактах визначали за мікрометодом Bradford /1976/. Електрофоретичний аналіз білків проводили за методом диск-електрофорезу в поліакриламідному гелі (ПААГ) /Остерман, 1981/ в нативних та денатурованих умовах /Лаемлі, 1970/, в лужній буферній системі за Davis /1964/.

Вірусну РНК виділяли з очищеного препарату ВТМ за фенольно-детергентним методом /Гаврилова, Спирин, 1969/. Електрофорез РНК проводили в 1%-ному агарозному гелі /Остер-

ман, 1981/. Наявність смужок на пластинках гелю реєстрували фотографуванням в УФ-світлі (плівка "Микрат").

Статистичну обробку експериментальних даних проводили згідно з Ашмаріним та ін. /1975/ при рівні значущості $p=0,05$.

III. ВІДОЛІГІЯ ОСНОВНИХ ЗБУДНИКІВ ВІРУСНИХ ХВОРОБ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ В УМОВАХ УКРАЇНИ

При обстеженні цукрових буряків в основних бурякосійних областях України нами встановлено, що симптоми жовтушного захворювання чи мозаїки різнотипного типу домінують над іншими симптомами ураження. При візуальній оцінці в середньому кількість хворих рослин в полі становить від 30 до 70%, а за умов сухого літа - до 90%, особливо насіннєвих.

В бурякосійних областях України на момент наших досліджень районово біля 20 сортів в основному української селекції. Кращими з них за продуктивністю є Ялтушківська однонасіннева 20, Квілейна, Білоцерківський полігібрид, проте вони уражуються як жовтухою, так і мозаїкою. Ураження вірусними хворобами цукрових буряків призводить до спаду продуктивності рослин (втрати урожаю коренеплодів можуть становити 30-40%, насіння - 40-60%, зниження цукристості на 1,5-5,0%), а також до збільшення фракції дрібного насіння із зниженою життєдатністю. Крім того, імуноферментним аналізом хворих рослин встановлена насіннєва передача ВЖБ, що являє собою значну загрозу майбутньому урожаю.

Проведений нами протягом 1982-1992 рр. аналіз зразків рослин цукрових буряків з вірусними симптомами уражень з використанням біологічних та електронно-мікроскопічних методів

показав, що захворювання буряків в Україні викликаються вірусами мозаїки, жовтухи, слабого пожовтіння буряків, мозаїки огірка, кільцевої плямистості тютюну, тютюнової мозаїки. Економічного значення на даний період набувають ВМБ, ВЖБ та ВСПБ, втрати урожаю від котрих визначаються штамом вірусу, сприйнятливістю сорту та часом зараження рослин.

З польових зразків цукрових буряків нами виділено два штами ВЖБ - звичайний та некротичний (група кластеровірусів); два різні за резистентністю ізоляти ВМБ (група полівірусів); вперше ідентифіковано ВСПБ - представника групи лентеовірусів. Визначені біологічні властивості, одержані очищені препарати вірусів та діагностичні антисироватки, які використовувались для оцінки антивірусної стійкості основних районованих, перспективних сортів і гібридних ліній цукрових буряків, а також диких видів Beta. Проводилась візуальна оцінка ураженості рослин на сортових посівах ВНИС та дослідних полях Верхняцької дослідно-селекційної станції ВНИС, визначався серологічний титр вірусів жовтухи та мозаїки буряків, а також проводився електронно-мікроскопічний контроль. Дані дослідження, хоч і не виявили серед рослин Beta, в тому числі диких видів, резистентних до вірусних хвороб рослин, проте за дані з 3-х вегетаційних дослідів дозволили виділити за сприйнятливістю та польовою стійкістю до ізолятів ВЖБ і ВМБ три групи із 12 районованих сортів цукрових буряків: сильно сприйнятливі (ураження 60-80%), середньоуражені (20-35% ураження) та відносно стійкі сорти (ураження 10-15%). Відповідно серологічний титр вірусу у розподілених за сприйнятливістю групах відрізнявся від 1:512 - у слабоуражуваних до 1:4096 - у сприйнятливої групи рослин, за дея-

кми відхиленнями у окремих сортів (рис. 1, 2).

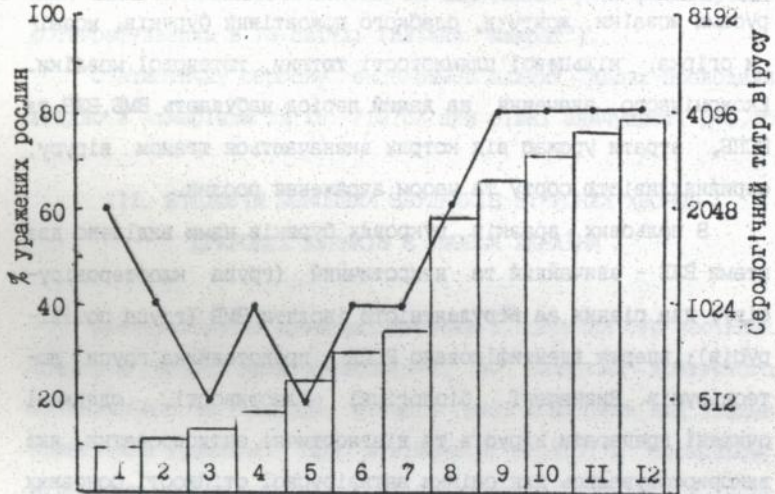


Рис. 1. Ураження районваних сортів цукрових буряків вірусом мозаїки буряків (ізолят ВКП) при штучному зараженні:

- 1 - Львівська 108; 2 - Молдавська однонасіннава 41; 3 - Киргизька однонасіннава 25; 4 - ППГ-10; 5 - МС полігібрид;
- 6 - Білоцерківський полігібрид 2; 7 - Білоцерківська однонасіннава 34; 8 - Верхняцька 103; 9 - Північно-Кавказька 42; 10 - Війська однонасіннава 12; 11 - МО 80; 12 - Уладовська однонасіннава 20

□ - % уражених рослин; — серологічний титр вірусу

В спеціальних польових дослідженнях впливу штамового складу вірусів на сприйнятливість і продуктивність деяких перспективних селекційних ліній ВНС було встановлено, що на високому провокаційному інфекційному фоні, створеному штучним і природним зараженням, випробувані рослини реагують по-різному (табл. 1). При цьому штам вірусу значно впливає

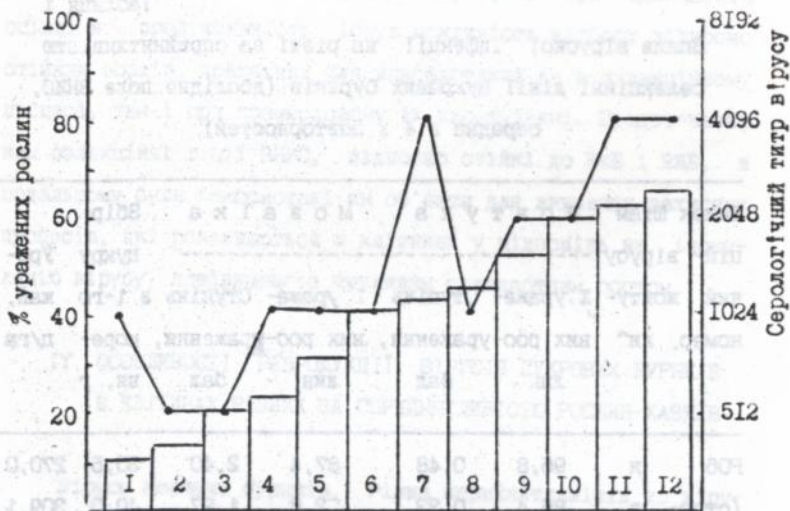


Рис. 2. Ураження районованих сортів цукрових буряків вірусом жовтухи буряків (некротичний штам): 1 - Львовська 108; 2 - Молдавська однонасіннева 41; 3 - Киргизька однонасіннева 25; 4 - МС полігібрид; 5 - ПШГ-10; 6 - Білоцерківський полігібрид 2; 7 - Північно-Кавказька 42; 8 - Білоцерківська однонасіннева 34; 9 - Верхняцька 103; 10 - Бійська однонасіннева 12; 11 - Уладовська однонасіннева 20; 12 - МО 80

Умовні позначення такі ж, як на рис. 1

на продуктивність рослин, і, як видно з даних табл. 1, некротичний штам ВЖВ викликає зниження ваги коренів і збору цукру у відносно стійких селекційних ліній, проте порівняно із стандартним сортом Рамонський 08 (Р08), дані сорти є більш стійкими за ступенем ураження.

Таблиця 1

Вплив вірусної інфекції на різні за сприйнятливістю селекційні лінії цукрових буряків (дослідне поле ВНИС, середнє з 4 х повторностей)

Селекційний номер	Штам	Жовтуха	Мозаїка	Збір	Урожай		
номери	х	% уражених рослин	ступінь ураження, бал	% уражених рослин	ступінь ураження, бал	з 1-го жай, ц/га	
Р06	н	95,8	0,48	87,4	2,40	30,5	270,0
(стандарт)	з	85,4	0,33	72,6	1,97	40,0	309,1
ВСП		98,0	0,70	91,5	2,58	41,3	297,5
АЖ	н	79,8	0,35	32,3	0,58	54,1	331,6
ВНИС	з	69,1	0,37	26,4	0,62	57,1	395,0
ВСП		83,7	0,21	33,3	0,70	56,9	388,6
АМ	н	83,8	0,39	13,7	0,19	49,4	408,0
ВНИС	з	55,9	0,24	4,5	0,11	53,9	367,0
ВСП		84,7	0,34	19,8	0,14	49,1	401,0

Примітка: н, з - відповідно некротичний та звичайний штамми вірусу жовтухи буряків, ВТ - вірус ослаблого поживіння буряків

Крім того, незважаючи на загальний високий відсоток уражених рослин, селекційні лінії ВНИС відрізнялись від стандартного сорту вищою продуктивністю (на 15-18%).

Дані дослідження показують, що при порівнянні сортів за

ураженням на природному інфекційному фоні при одночасній оцінці їх продуктивність існує можливість відбору відносно стійких сортів, придатних для використання як в селекційному процесі, так і при промислового їх вирощуванні. Представлені нам селекційні лінії ВНИС, відносно стійкі до БМВ і ВЖБ, в подальшому були використані як об'єкти для вивчення захисних процесів, які розвиваються в клітинах у відповідь на інюкацію вірусу, порівняно з чутливим стандартним сортом.

ІУ. ОСОБЛИВОСТІ РЕПРОДУКЦІЇ ВІРУСІВ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ В КЛІТИНАХ РІЗНИХ ЗА СПРИЙНЯТЛИВІСТЮ РОСЛИН-ХАЗЯІВ

Віруси жовтухи буряків. Різна сприйнятливість до вірусів жовтухи та мозаїки селекційних ліній цукрових буряків зумовлена фізіологічним станом рослини та відповідними реакціями: інюкульованого листа, що призводять до структурних перебудов і процесів обмеження реплікації і транспорту вірусу. Проведені нами дослідження особливостей репродукції вірусів у клітинах рослин цукрових буряків показали, що різний ступінь сприйнятливості сортів до вірусу жовтухи буряків (beet yellows virus) супроводжується специфічними змінами ультраструктури клітини. В клітинах сприйнятливого сорту Рамонський 06 (Р06, держстандарт) з коротким інюкаційним періодом, швидким системним розповсюдженням інфекції, високим серологічним титром вірусу вірусні частки накопичуються в значній кількості у вигляді аморфних агрегатів у цитоплазмі паренхімних клітин флоєми та прилеглого мезофілу, в хлоропластах яких формуються білкові кристали. В листі відносно стійкого сорту Антижовтушний ВНИС (АЖ) розповсюдження вірусу

обмежене клітинами флоєми з формуванням невеликих скупчень вірусних часток та індукцією локальних автолітичних отруток за участю мембран гладкого ендоплазматичного ретикуліуму (ГЕР), що утворюють цитосегреси. В хлоропластах клітин флоємної паренхіми накопичується значна кількість крохмальних зерен, що свідчать про підвищення фотосинтетичної активності хлоропластів; відбувається акумуляція ліпідних глобул та гранул фітоферитину.

Нами вперше проведені дослідження ультраструктури клітин рослин-хазяїв, інфікованих представником групи латеовірусів, ідентифікованим як вірус слабкого помовтіння буряків (beet mild yellowing virus). Даний збудник представлений ізометричними віріонами діаметром біля 25 нм, передається персиковою попелицею персистентно, уражує клітини провідної системи та оточуючої паренхіми, де індукує появу специфічних цитоплазматичних включень, необхідних для реплікації вірусу.

В ситовидних елементах та клітинах-супутницях вірус індукує розвиток оточених мембранами везикул, які містять тонкофібрилярну, чутливу до обробки РНКазою, сітку та ерілі віріони. Надалі інфекція розповсюджується на паренхімні клітини флоєми, в яких формуються також включення у вигляді оточених мембранами везикул, нитковидні включення та аморфні гранулярні тіла. Вірусна інфекція призводить до деградації мітохондрій і хлоропластів клітин провідної системи та прилеглих паренхімних клітин, яка проявляється в зовнішніх симптомах - просвітлінні жилки та наступній зміні кольору листової пластинки.

Вірус мозаїки буряків. При вивченні ультраструктури клітин чутливих рослин-хазяїв та індикаторів, інфікованих

різними за вірулентністю ізолятами вірусу мозаїки буряків (beet mosaic virus), одержані додаткові дані про морфологію ірусоспецифічних протеїнових циліндричних включень (ЦВ). Порівнюючи морфологію ЦВ, індукованих ВМБ в тканинах листа буряків, гоміфрени та лободи, з морфологічним типом ЦВ, індукованих вірусами різних підгруп вірусів /Edwardson et al., 1984/, ми вперше зробили висновок, що ВМБ слід віднести до II підгрупи потівірусів за класифікацією Edwardson /1974/. Типовим представником цієї підгрупи є вірус жовтої мо. іки квасолі, що індукують, як і досліджені нами ізоляти ВМБ, цитоплазматичні включення у вигляді завитків і пластинок.

Нами встановлені зміни ультраструктури клітин у динаміці розвитку вірусної інфекції. До розвитку зовнішніх симптомів хвороби в клітинах мезофілу активується функціонування гладкого ендоплазматичного ретикулуму та апарату Гольджі, відбувається агрегація мітохондрій та хлоропластів з формуванням поліпластів, енергетичні можливості яких використовуються в реалізації клітинних механізмів вірусостійкості. Через 7 днів після інкуляції вірусу з'являється значна кількість специфічних для потівірусів циліндричних протеїнових включень у формі пластинок і завитків, відбувається везикуляція ядерної оболонки і цитоплазми. Особливо виражена деструкція клітин провідної системи при інкуляції більш вірулентним ізолятом вірусу. Вірусні частки асоціюються з мембранами вакуолей, везикул, хлоропластів, інколи вони виявляються в нуклеоплазмі; дані клітинні компоненти, очевидно, беруть участь у синтезі віріонів.

Як уже вказувалось, в геномі цукрових буряків не ідентифіковані гени стійкості до вірусів, що II уражують, проте

на практиці використовуються сорти і селекційні лінії, які відрізняються за продуктивністю і сприйнятливістю до вірусів жовтухи та мозаїки буряків. Різна чутливість їх, напевне, зумовлена характером відповідних реакцій клітин інокульованого листа на зараження вірусом та фізіологічним станом рослини. Зміни метаболізму інфікованих клітин, а саме швидкості ферментативних реакцій, спричинюють в клітинах структурні перебудови та індукують процеси обмеження реплікації та транспорту вірусу. Для системного (довго-дистанційного) поширення вірусної інфекції по рослині необхідне накопичення певної кількості зріпів в первинно інокульованих або сусідніх літинах, достатнє для транспорту через провідну систему з током асимілятів. Енергетичний статус клітини (функціональний стан мітохондрій і хлоропластів) є важливим фактором обмеження коротко-дистанційного транспорту продуктивної інфекції із клітини в клітину. Зокрема, виявлена кореляція між вмістом вуглеводів і синтезом калози, що призводить до потовщення клітинних стінок і обмеження транспорту інфекції /Wu, Dimitman, 1970, 1984; Schuster, 1976/.

У відносно стійкого до ВМБ сорту Антимосаїчний ВНС (АМ) із затримкою симптомів, низьким серологічним титром вірусу, обмеженим транспортом інфекції, збереженням продуктивності інфікованих рослин, що на 15% перевищує продуктивність чутливого стандартного сорту РОБ, виявлена пряма кореляція між вмістом фотосинтезованих в листі вуглеводів і активністю кислотої фосфатази - ферменту, причетного до синтезу сахарози, яка являється транспортною формою вуглеводів з листя в коренеплоди буряків. Біохімічні дослідження активності ферменту у заражених ВМБ рослин показали залежність останньої від ча-

су розвитку інфекції та сорту рослин. Так, дані рис. 3 свідчать, що активність кислої фосфатази підвищується з 2-ї доби після інюкації, досягаючи максимуму на 3-ю добу, причому у стійкого до ЕМВ сорту АМ вона в 1,5 рази вища, ніж у чутливого сорту РО6. Спад активності відмічається на час появи симптомів інфекції (7-10 доби у РО6 і 10-14 - у АМ).

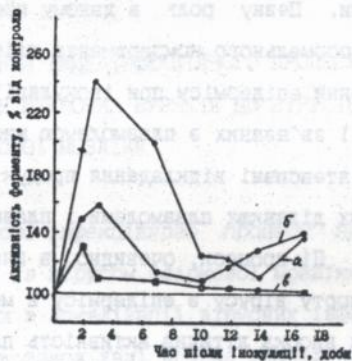


Рис. 3. Зміна активності кислої фосфатази в екстрактах з листя цукрових буряків в динаміці розвитку інфекції, спричиненої вірусом мозаїки буряків (середнє з 4-х дослідів): а - сорт АМ ВНИС; б - сорт РО6; в - контроль (псевдоінюкульоване буфером листя)

Дослідження ультратонких зрізів інюкульованих клітин показали, що дані сорти також відрізняються за ультреструктурою хлоропластів. У сорту АМ на початку інфекції не відбувається видимих порушень фотосинтетичних мембран та накопичення крохмалю, на відміну від чутливого сорту РО6, у якого спостерігається часткова деградація тилакоїдів, розрідження стромы, зменшення вмісту крохмалю. В наступні дні, при роз-

витку симптомів (10-й день у РОБ та 14-й - у АМ) активність ферменту збільшується, очевидно, із-за викликаних ЕМВ деструктивних процесів, вивільнення клітинних гідролаз, причому на даний період активність кишкої фосфатази корелює з ураженням рослин і вища у чутливого сорту РОБ.

Вищий енергетичний статус клітин відносно стійкого сорту, ймовірно, сприяє обмеженню поширення вірусу або його транспортної форми. Певну роль в даному процесі відіграє функціонування лізосомального компартмента клітини в цілому. Механічне ушкодження епідермісу при інокуляції вірусу призводить до активації зв'язаних з плазмолемою кислих гідролаз, про що свідчать інтенсивні відкладення продукту реакції Гоморі у відшарованих ділянках плазмолеми і плазмодесмах епідермальних клітин. Ці процеси, очевидно, в значній мірі перешкоджають транспорту вірусу з епідермісу в мезофіл. В мезофільних клітинах висока літична активність плазмолеми, тонопласту, цитовезиг'ї, диктіосом апарату Гольджі, на яку вказують наявність гранул фосфату свинцю, призводить до деякої дегградації та зменшення акумуляції вірусних часток і обмеження інфекції інокульованим листом у стійкішого сорту.

Змішана інфекція вірусів, мікоплазми- та рикетсієподібних організмів у рослин з симптомами жовтухи та мозаїки. При дослідженні ультратонких зрізів клітин флоєми листа цукрових буряків з симптомами жовтухи, мозаїки та затримкою росту нами вперше на цих рослинах, крім вірусів жовтухи та мозаїки огірка, виявлені мікоплазми- та рикетсієподібні організми із специфічною ультраструктурою, яка дещо відрізняє їх від описаних раніше типових мікоплазм і рикетсій. Зроблено припущення про можливість існування загального переносника як ві-

русів, так і МПО і РПО - персикової попелиці. У випадку змішаної інфекції в розвитку жовтухи цукрових буряків в деяким відставанням у рості беруть участь два патогена - добре відомий і широко розповсюджений вірус жовтухи буряків і менш відомий - мікоплазма, яка зумовлює також відставання в рості. Роль РПО в патології досліджених рослин незначна: можливість у даному випадку є результатом вірусної інфекції.

У. ВИВЧЕННЯ ТИПУ ІНФЕКЦІЙНОГО ПРОЦЕСУ ТА СТІЙКОСТІ РОСЛИН ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ ДО ВІРУСІВ ОГІРКОВОЇ ТА ТЮТЮНОВОЇ МОЗАЇКИ

Особливості інфекційного процесу при ураженні рослин цукрових буряків в вірусом огіркової мозаїки. Про участь лізо-сомної системи в локалізації вірусних інфекцій цукрових буряків свідчать також дані вперше проведеного нами дослідження особливостей репродукції вірусу огіркової мозаїки, виділеного в рослин цукрових буряків (ВОМО), в клітинах рослин-хазяїв. При інокуляції ВОМО нижнього листа цукрових буряків симптоми інфекції у вигляді жовтої дифузної плямистості з подальшим жовтим облямуванням жилок і некротизацією уражених ділянок обмежуються лише інокульованим листом. В наступні 3-4 тижні в клітинах інокульованого листа відбувається деструкція цитоплазми і вірусних часток, листя відмирає, а рослина вичухує: зовнішні симптоми інфекції відсутні, а вірус не виявляється електронно-мікроскопічними та сепологічними методами, на відміну від рослин огірка і тютюну з системним розповсюдженням вірусу у верхівкове листя.

На ранніх етапах інфекції в клітинах рослин-хазяїв ві-

русні частки зв'язані з мембранами клітини - плазмолемою, тонопластом, оболонкою хлоропластів, цитовезикулами. В мітохондріях формуються специфічні периферійні везикули, які беруть участь в синтезі вірусу. На пізніх етапах виражена деструкція цитоплазми, мітохондрій і хлоропластів. Вірус нагромаджується в цитоплазмі клітин цукрових буряків у вигляді агрегатів, а також зв'язаний з оболонкою і мембранами аруйнованих хлоропластів. В клітині огірка і тютюну формуються кристалічні агрегати вірусних часток.

При дослідженні ультратонких зрізів ураженої ділянки провідного пучка листа в паренхімних клітинах флоєми і прилеглого мезофілу виявлені деструктивні зміни, які не спостерігаються на інкульованому нижньому листі з симптомами жовтої дифузної плямистості. Цитоплазма таких клітин майже повністю лізована, а в хлоропластах міститься значна кількість специфічних пластоглобул з тонкою осмієфільною каймою по периферії. Деякі глобули зв'язані з щільно упакованими впорядкованими гранулами фітоферитину. В хлоропластах з вираженими ознаками деструкції пластоглобули знаходяться в ранній стадії везикуляції: з розвитком периферійної каймою і мікровезикулами в цій області, а також з везикулами, які поширюються до центру глобули за рахунок зменшення її електроннощільного гранулярного матриксу. Везикуляція пластоглобул супроводжується деструкцією оболонки і строми хлоропластів, що полегшує вихід глобул в оточуючу цитоплазму. Везикульовані глобули, значно збільшуючись в розмірах, в цитоплазмі повністю втрачають свої первісні морфологічні ознаки, перетворюючись в досить великі вакуолізовані структури, оточені однією елементарною мембраною. Поблизу вакуольованих тіл у зрізах вияв-

лені частково зруйновані ізометричні частки ВОМ, інтактних вірусних часток на даний момент інфекції в клітинах досліджених араків не спостерігалось.

Виходячи з відомих даних, що лісосомальний компартмент у клітинах рослин менш спеціалізований, ніж у тваринній клітині, і допускає можливість проявлення літичної активності будь-яким компонентом вакуолярної системи /Белицер, 1978/, ми вважаємо, що деструкція хлоропластів і везикуляція пластоглобул при інфекції цукрових буряків ВОМ є заключним етапом специфічних літичних процесів, які відбуваються в уражених клітинах провідної системи листа. Вірусна інфекція індукуює активність кислих гідролаз вакуолярної системи, що призводить до порушення цілісності оболонки хлоропластів і активації латентних гідролаз тилакоїдів; гідроліз стромы і ламелярної системи хлоропластів призводить до порушення ліпидного і білкового обміну, що виражається у збільшенні кількості ліпідних глобул і акумуляції залісвіміонних компонентів у вигляді включень фітоферитину. Катаболічні процеси, що розвиваються в клітині за вірусної інфекції, призводять також до активації ліпаз пластоглобул, які надалі здійснюють розщеплення власних ліпідів, що ми спостерігаємо у вигляді мікровезикул по периферії глобул, а при руйнуванні оболонки хлоропластів - у збільшенні розмірів, утворенні вакуолярних тіл і розпаді їх на окремі везикули. Цей процес супроводжується повною деструкцією клітинного вмісту, в тому числі залишкових вірусних часток.

При механічній інюкуляції вірусу в інфікованих клітинах запускаються складні механізми, як результат взаємодії вірусного і клітинного геномів, репродукції вірусу, а також

захисні клітинні процеси, спрямовані на локалізацію інфекції. У випадку механічного зараження ВОМом листа цукрових буряків сорту АМ ВНИС продуктивна інфекція обмежується інкульованим листом, а в діони, що досягли флоємної паренхіми, індукують розвиток цитолітичних процесів, які призводять до руйнування вірусу, порушення транспорту асимілятів листа, жовтого облямування жилок із-за деструкції хлоропластів клітин, наступного пожовтіння і відпадання листа. Оскільки в даному випадку відсутнє системне поширення інфекції у верхівкове листя, надалі відбувається видужання рослини, розвиток літичних процесів може бути однією з причин обмеження розповсюдження інфекції у вищерозташовані тканини рослини.

Для дослідження природи стійкості рослин до системного поширення ВОМом були проведені досліді по вивченню міжклітинного і довго-дистанційного транспорту вірусу, а також розвитку набутої стійкості верхівковим листям після індукувочної інкуляції нижнього листа. При локальному зараженні ВОМом симптоми інфекції обмежуються інкульованою ділянкою, іноді захоплюючи приляжі жилки; розповсюдження симптомів на інші ділянки і протилежну половинку листа не відбувається. В ультратонких зрізах клітин із навколо інкульованої ділянки спостерігались ознаки гіперплазії клітин, але вірусні частки не виявлялись. Вивчення індукованої стійкості верхнього листа показало, що інкульовані ВОМом рослини цукрових буряків набувають стійкості до повторного зараження цим вірусом уже через 1 добу, яка досягає максимального значення через 10 діб після індукувочної інкуляції. В той же час набута стійкість не розвивається проти системного зараження ВОМом (табл. 2).

Таблиця 2

Розвиток індукованої стійкості рослин цукрових буряків до інфекції ВОМС та ВМБ

Вид індукувочної обробки	Час		Симптоми			
	індукувочної	Дослід	Контр-лід	Величина індукованої стійкості, %	Дослід	Контр-лід
Індукуюча інокуляція нижнього листа	1	10	30	67	+	+
ВОМС	4	6	32	81	+	+
Обприскування розчином саліцилату натрію (5 мМ, рН 7,0)	7	2	30	93	+	+
Обприскування розчином саліцилату натрію (0,012 М, рН 7,0)	10	0	30	100	+	+
Обприскування розчином саліцилату натрію (3 мМ, рН 7,0)	3	0	30	100	+	+
Полив ґрунту саліцилатом натрію (0,012 М, рН 7,0)	3	3	30	90	+	+

Примітка: "+" - наявність симптомів

Подібні результати одержані також іншими авторами при вивченні індукованої стійкості до системного зараження вірусами в рослинах тютюну. Це, очевидно, свідчить про відмінність у механізмах індукованої системної стійкості і локалізації вірусу, а також ставить під сумнів практичне використання методів індукування стійкості з метою захисту рослин від суворих системних вірусних інфекцій.

Вивчення особливостей розвитку інфекції ВОМО у рослині цукрових буряків дозволило зробити наступний висновок: інфекція ВОМО носить локальний характер, обмежується первинними інфекційними локусами, індукує набуту стійкість до ВОМО і процеси гіперплазії у прилеглих до інфікованих клітинах паренхіми і провідної системи, що, можливо, є однією з причин обмеження міжклітинного і судинного поширення інфекції. Локалізація ВОМО в рослинах цукрових буряків, проте, відрізняється за симптомами від реакції надчутливості у рослин тютюну до ВТМ; локалізацію ВОМ, очевидно, слід розглядати як здатність рослин використовувати власні клітинні механізми стійкості до вірусного ураження.

Особливість інфекції, спричиненої вірусом тютюнової мозаїки у рослині цукрових буряків. Веручи до уваги суперечності даних літератури щодо чутливості цукрових буряків до вірусу тютюнової мозаїки (ВТМ), ми дослідили особливості інфекційного процесу ВТМ при штучному зараженні даних рослин.

Результати досліджень з використанням методів ультрамікрометрії, імунної електронної мікроскопії, радіоімунології свідчать про те, що при механічній інокуляції ВТМ рослині цукрових буряків в інокульованому листі розвивається завершений інфекційний процес з утворенням зрілих вірусних часток

і специфічних включень. Але незважаючи на це, інфекційний вірус в гомогенатах чікваного листа не виявляється методом біотестування, що зумовлено високими інактивуючими властивостями соку з листа даних рослин. Зовнішні симптоми інфекції у вивчених сортів цукрових буряків проявляються дуже рідко. Як правило, інфекція протікає безсимптомно або з пошкодженням листової пластинки. В інкульованому листі відбувається міжклітинне розповсюдження вірусу, проте дальній транспорт по судинній системі у верхнє листя даними методами не встановлений. У верхньому листі також не має місця незакінчений інфекційний процес з ,творенням дефектних вірусних часток, оскільки радіоімунологічним методом не виявлена РНК вірусного нуклеопротеїду.

Ми вважаємо, що випробувані нами сорти цукрових буряків є стійкими до інфекції ВТМ, в безсимптомних інфікованих тканинах яких відбуваються процеси реплікації та міжклітинного транспорту вірусу, а системний транспорт її через провідну систему не відбувається. Можливо, вирішальну роль в даному процесі відіграють ультраструктурні особливості плазмодесмового зв'язку між мезофілом та флоемою в листі цукрових буряків (рослини із закритим типом флоєми, І. Малей, 1990) та симпластного міжклітинного транспорту ВТМ.

Дослідження антивірусних властивостей клітинних компонентів з листя цукрових буряків. Для вивчення можливого способу інактивуючої дії соку з листя цукрових буряків, а також ролі специфічних клітинних факторів в реалізації природних механізмів вірусостійкості рослин були проведені дослідження оптимальних умов дії, фізико-хімічних властивостей і хімічної природи активного антивірусного компонента (АВК) соку.

Оптимальними концентраціями, що викликають інактивізацію інфекційності ВТМ на рослинах з локальною та системною реакціями, являються 1-10%-ні водні розчини нативного соку чи 10-100 мг/мл ліофілізованого препарату (табл. 3).

Таблиця 3

Антивірусна активність соку цукрових буряків

Варіанти дослідів		Кількість некротів		%
Рослини	Концентрація соку чи ліофілізованого препарату	Дослід	Контроль	інгібування
Локальна реакція				
Дурман	10%	0	230	100
	5%	0	230	100
	1%	0	230	100
	1 мг/мл	97	108	10
	10 мг/мл	13	108	88
	100 мг/мл	0	108	100
Гомфрена	5%	0	43	100
Тютюн клейкий	5%	0	45	100
Системна реакція				
Томат	5%	20/0	20/20	100
Тютюн	5%	20/6	20/20	70

Примітка: у чисельнику - кількість рослин в досліді і в контролі, в знаменнику - кількість інфікованих рослин.

Для виділення АВК з клітинного гомогенату проведено фракціонування соку та розроблена методика виділення біологічно активного компонента за допомогою іонообмінної хроматографії. Придатною для цього виявилась слабодужна катіонна діетиламіноетил (ДЕАЕ)-сефадексу А-50, на якій сік з листя цукрових буряків розділено на основні компоненти з різною активністю, причому максимальну активність проявляє білковий компонент соку (рис. 4, 5), а саме та його частина, яка зв'язується ДЕАЕ-сефадексом і елююється тільки буфером з високою іонною силою (1 М NaCl).

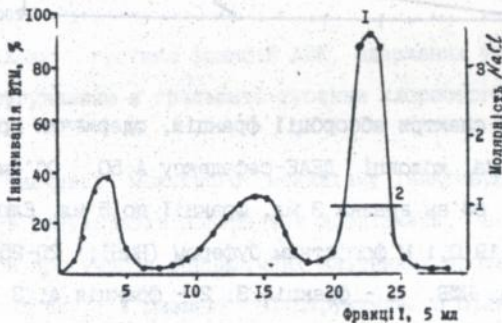


Рис. 4. Хроматографія соку на катіонці ДЕАЕ-сефадексу А-50.

Об'єм колонки 25 мл, об'єм зразка 3 мл. 1 - активність; 2 - молярність NaCl

Спорідненість з ДЕАЕ-сефадексом значної частини розчинного клітинного білка з високою активністю відносно інфекційності ВТМ свідчить про те, що активний антивірусний компонент соку є білком (чи складним комплексом), що

має слабкий негативний заряд. На білкову природу даної речовини також вказує те, що АВК з рослинного екстракту осаджується спиртом, ацетоном, сульфатом амонію (30-70% насичення), трихлороцтова кислота не осаджує його та в деякій мірі інактивує, бентоніт та деревне вугілля поглинає антивірусний компонент із рослинного соку.

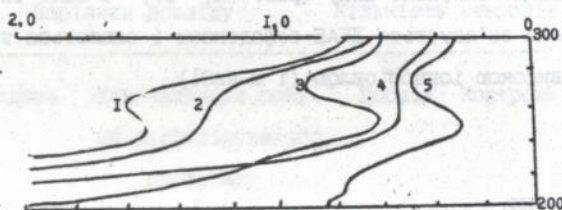


Рис. 5. УФ-спектри абсорбції фракцій, одержаних хроматографією на колонці ДЕАЕ-сефадексу А-50. Об'єм колонки 25 мл, об'єм аразка 3 мл. Фракції по 5 мл. Елюція фракцій 1-19 0,1 М фосфатним буфером (Н₂В), 20-25 - 1 М NaCl в Н₂В. 1 - фракція 3; 2 - фракція 4; 3 - фракція 10; 4 - фракція 15; 5 - фракція 23

Ультрацентрифугуванням хроматографічної біологічно активної фракції соку в градієнті густини хлористого цезію (40000 об/хв, 20 год) встановлено, що досліджуваний препарат складається із двох основних компонентів з плаваючою густиною 1,33 та 1,31 і мінорного компонента з плаваючою густиною 1,41 (рис. 6). Одержані результати доповнюють фізико-хімічну характеристику АВК і припускають наявність у складі білкового компонента домішок РНК, можливо, зв'язаної у вигляді рибо-

нуклеопротейдного (РНП) комплексу.

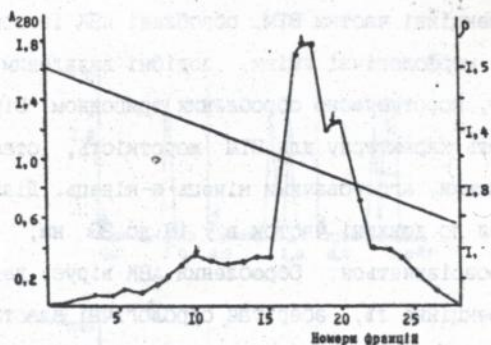


Рис. 6. Плаву: густина фракцій АВК, одержаних ультрацентрифугуванням в градієнті густини хлористого цезію

При вивченні можливого механізму інактивуючої дії АВК виходили з результатів попередніх досліджень, а також даних літератури про участь специфічних клітинних протеаз, подібних до трипсину, в розщепленні структурних білків потівірусів і ВТМ, обмеженні транспорту і виключенні фітовірусів із меристематичних та ембріональних тканин /Shukla et al.:1986; Реунов, 1989; Salomon, 1999/. Для встановлення можливої протеклітичної активності в складі білкового АВК соку проведено порівняльне визчення дії АВК і трипсину на інфекційність, серологічні властивості, морфологію вірусних часток та структуру білкової оболонки ВТМ. Результати обробки ВТМ протеклітичними ферментами свідчать про те, що трипсин в концентрації від 2 мг/мл повністю інактивує ВТМ, аналогічні розчини папаїну і протеази знижували інфекційність ВТМ на 52

-57%. Розчини АВК в концентрації від 1 до 2 мг/мл (за вмістом білка) інгібує и ВТМ на 93-100%.

Неінфекційні частки ВТМ, оброблені АВК із соку буряків, проявляють морфологічні зміни, подібні виявленим у препаратах вірусу, короткочасно оброблених трипсином. Вірусні частки втрачають характерну для ВТМ жорсткість, стають набряклими, гнучкими, агрегованими кінець-в-кінець. Діаметр вірусу коливається по довжині часток в 18 до 30 нм, внутрішній канал не розрізняється. Оброблений АВК вірус, незважаючи на втрату інфекційності, зберігає серологічні властивості, про що свідчать дані імунної електронної мікроскопії суміші АВК-ВТМ. Трипсин утворює з ВТМ стійкий неінфекційний комплекс з порушенням морфології вірусних часток (набрякання, агрегація і часткова депротейнізація). Оскільки електрофоретичним аналізом не виявлено відмінностей в РНК нативної і обробленого АВК вірусу, можна припустити, що активний компонент інгібітору з листя цукрових буряків є білком з інактивуючою дією, подібною до такої трипсину. Сполучення цих речовин з ВТМ сприяє значній агрегації часток і призводить до незворотної втрати інфекційності вірусу, яка, проте, не супроводжується розпадом віріонів.

Одержані результати підкріплені електрофорезом в ПААГ білкового АВК та сумішей АВК-ВТМ, трипсин-ВТМ. За цими даними, виділений іонообмінною хроматографією білковий АВК являє собою низькомолекулярну електрофоретично мобільну фракцію із пулу клітинних розчинних білків, яка в присутності додецилсульфату натрію розділяється на декілька компонентів із Rf 0,56, 0,64, 0,76 і 0,82 (рис. 7), що відповідає молекулярним масам поліпептидів від 18 до 42 кДа. Комплекси АВК-ВТМ і

трипсин-ВТМ в денатурованих умовах електрофоретично розділяються на свої вихідні компоненти; ВТМ у досліді і контролі утворює одну смужку, що не відрізняється за R_f (див. рис.7).

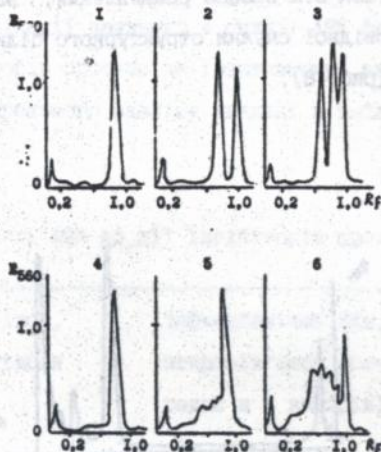


Рис. 7. Денситограми препаратів білка після електрофорезу в 10%-ному ПААГ-ДДС-На: 1, 4 - ВТМ; 2 - трипсин; 3 - комплекс трипсин-ВТМ; 5 - комплекс АВК-ВТМ; 6 - АВК

Результати електрофоретичного аналізу підтвердили попередній висновок про те, що АВК, як і трипсин, утворює з нативним вірусом поверхневий щільний комплекс без деструкції вірусних часток, який не розділяється розбавленням, центрифугуванням, гель-фільтрацією сумішей на сефадексі G-75, проте розділяється електрофоретично за наявності детергенту.

Для виявлення протеслітичної активності в складі білко-

вого АВК проведене порівняльне вивчення дії АВК і трипсину на структурний білок ВТМ. За допомогою електрофорезу в 10%-ному ПААГ-ДДС-На сумішей АВК-білок ВТМ і трипсин-білок ВТМ встановлено, що як під дією трипсину, так і під дією АВК структурний білок ВТМ зазнає розщеплення, на що вказує відсутність відповідної смужки структурного білка ВТМ на електрофореграмах (рис. 8).

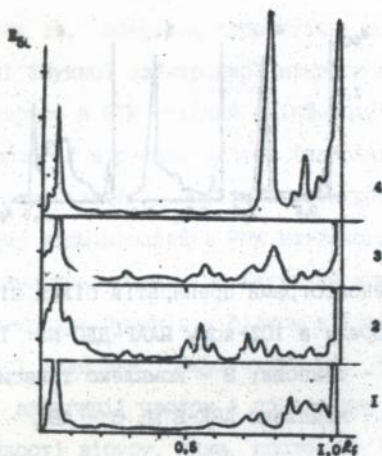


Рис. 8. Денситограми препаратів білка після електрофорезу в 10%-ному ПААГ-ДДС-На: 1 - трипсин-білок ВТМ; 2 - АВК; 3 - АВК-білок ВТМ; 4 - структурний білок ВТМ

Крім протеолітичної дії щодо структурного білка ВТМ,

ABK в концентрації 1,5 мкг в 50 мкл білоксинтезуючої системи трансляції *in vitro* (гіпат ретикулоцитів) впливає на матричну активність геномної РНК ВТМ, майже на 25% знижуючи синтез вірусного білка.

Для ідентифікації наявного в складі ABK ферменту вивчалась дія інгібіторів протеаз на інактивуючу здатність ABK, результати конкурентного аналізу зведені в табл. 4.

Таблиця 4

Чутливість ABK до дії інгібіторів протеаз

NN пп	Інгібітор, концентрація	Інфекційність ВТМ, % інгібуван- некротів/лист (се- реднє з 8 вимірів)	ті ABK
1.	ЕДТА, 5 мМ	2	1,8 ± 0,09
2.	Дітіотреїтол (ДТТ), 10 мМ	1	0,9 ± 0,05
3.	Сульфат цинку, 10 мМ	3	2,3 ± 0,07
4.	Фенилметилсульфонілфторид (ФМСФ), 10 мМ	13	11,8 ± 0,07
5.	Парахлормеркурійбромід (ПХМБ), 10 мМ	3	2,7 ± 0,07
6.	Інгібітор трипсину із сої, 1 мг/мл	4	3,6 ± 0,09
7.	Контроль, ABK + ВТМ	0	
8.	Контроль, буфер + ВТМ	110	

Прейнкубація АВК із вказаними інгібіторами перед внесенням в досліджує і розчини очищеного препарату ВТМ призводить до деякого зниження антивірусної активності АВК (від 0,9 до 1,8%), проте результати інгібіторного аналізу не дозволяють ідентифікувати наявний в складі АВК фермент з конкретною групою протеїназ. Низька чутливість АВК до дії інгібіторів протеїназ свідчить за те, що АВК являється гетерогеним препаратом, антивірусна активність якого не є ферментативною, а зумовлена комплексною дією його складових елементів. Деяко більша чутливість АВК до інгібіторів серинових протеїназ, порівнянно з іншими інгібіторами, все-таки свідчить за те, що до складу АВК входить протеолітичний поліпептид трипсинової специфічності.

Розділення білків в складі АВК за допомогою ізоелектрофокусування в борат-поліольній системі показало наявність білків з істочками в лужній (рІ 9,0-8,6), нейтральній (рІ 7,2-6,9) і кислій (рІ 6,0-5,5) областях. Активними щодо інфекційності ВТМ виявились білки з лужними істочками (90-98% активності АВК), фракції з кислими істочками проявлял. значно нижчу активність (32-36%) (рис. 9). УФ-спектр абсорбції лужних препаратів має два максимуми поглинання при довжинах хвилі 260 і 280 нм, на відміну від фракцій з кислими істочками, що не мають чітких піків у даних областях. На підставі проведеного аналізу можна припустити наявність в складі білкового АВК домішок низькомолекулярної РНК, тобто ізофокусуванням АВК розділяється на 2 компоненти: нуклеопротеїновий з рІ 9,0-8,6 та глікопротеїновий з рІ 6,0-5,5. Дійсно з нуклеопротеїнового компонента, як біологічно активної хроматографічної фракції АВК надалі за фенольно-

детергентним методом одержана РНК з невисокою концентрацією, що додатково вказує на вірність вищесказаного припущення.

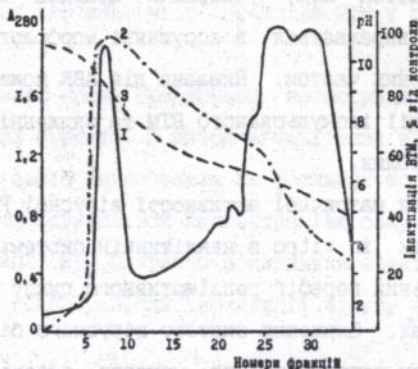


Рис. 9. Ізоелектрофокусування препарату АВК, одержаного хроматографією на колонці ДЕАЕ-сефадексу А-50:

1 - вміст білка; 2 - інактивуюча активність АВК у фракціях; 3 - градієнт рН

Таким чином, проведені в даному розділі дослідження дають підставу зробити наступний підсумок. Висока інактивуюча активність клітинного соку з листя цукрових буряків щодо інфекційності ВТМ зумовлена сумарною дією рослинних поліфенолів і рибонуклеопротеїдного компонентів соку. Максимальну біологічну активність проявляє частина слабокислих клітинних розчинних білків, які проявляють спорідненість з ДЕАЕ-сефадексом. Виділений іонообмінною хроматографією білковий антивірусний компонент (АВК) являє собою комплекс поліпептидів з М.м. від 18 до 42 кДа, до складу яких входить білок з протео-

літичною активністю трипсинової специфічності. Частина поліпептидів може бути зв'язана з низькомолекулярною РНК в РНП-комплексі. АВК, подібно до трипсину, адсорбується на поверхні нативних часток ВТМ, утворюючи щільний неінфекційний комплекс, що виражається в порушенні морфології і значній агрегації вірусних часток. Вказана дія АВК може бути суттєвою в інактивації інкульованого ВТМ та зниженні ефективності зараження рослин.

Інгібування матричної активності вірусної РНК, що виявлена в дослідках *in vitro* в неклітинній системі трансляції, порушує нормальний перебіг реплікативного циклу ВТМ в інфікованих клітинах. Зниження синтезу вірусного білка під дією АВК дає підставу припустити, що, можливо, складовою частиною АВК, а саме його РНП-компонента, є просоми - цитоплазматичні субструктури, що складаються із специфічного набору клітинних білків (М.м. 19-35 кДа), зв'язаних з РНК (довжини 70-100 нуклеотидів). Показано, що РНК просом пригнічує трансляцію мРНК аденовірусу, вірусів тютюнової мозаїки і мозаїки коров'ячого гороху. Зокрема, просомальна РНК, ізольована із субрибосомальної фракції клітин Hella, формує міжмолекулярні гібриди з мРНК аденовірусу і ВТМ, тим самим суттєво знижуючи синтез вірусного білка [Horsch et al., 1985, 1990]. Важливо зазначити, що РНК просом гібридується з вірусними, але не з клітинними мРНК, незважаючи на те, що білок просом синтезується клітинною мРНК. Наведені результати дають підставу вважати, що дані клітинні субструктури, порушуючи синтез вірусоспецифічних білків, виконують захисні функції. Специфічна дія АВК на трансляцію вірусного білка, ультраструктурні перебудови з активацією гідроліз в інфікованих клітинах,

розщеплення структурного білка ВТМ, спричиняють локалізацію вірусу і внаслідок порушення морфології віріонів, пригнічення реплікації та системного транспорту вірусу і на рівні організму виражаються безсимптомною інфекцією ВТМ у рослин цукрових буряків.

Оцінка можливості практичного застосування інгібітору з листя цукрових буряків. З метою запобігання від інфекції ВТМ антивірусний засіб випробували на рослинах томатів і тютюну, обприскуванням оптимальною концентрацією соку в різні строки після інюкуляції ВТМ. Одержано позитивний ефект від обприскування рослин відразу після інюкуляції вірусу (табл. 5).

Таблиця 5

Антивірусна дія соку з листя цукрових буряків при обприскуванні томатів 5%-ним розчином

NN пп	Варіанти дослідів	Кількість рослин (шт.)		% інгі- бування, хворих
		Всього в досліді	З них	

Обприскування томатів
після інюкуляції ВТМ
через:

1	0 год	20	5	75
2	0,5 год	20	12	40
3	3 год, а потім кожний день, 3 рази	20	16	20
4	24 год	20	19	5
	Контроль	20	20	

Оскільки за тепличних умов існує загроза зараження рослин ВТМ через ґрунт, нами проведені також випробування дії інгібітору із соку цукрових буряків на ВТМ, що знаходиться в рослинних залишках ґрунту. З цієї метою інфікований ВТМ ґрунт обробляли 10%-ним розчином соку з наступною висадкою рослин (тютюн, томати). Встановлена інактивуюча здатність соку відносно ВТМ, що знаходиться в рослинних рештках ґрунту, причому на ґрунті, попередньо обробленому соком із буряків, кількість здорових рослин становить 83% проти 69%, що виростили в ґрунті без обробки, а маса їх та урожай томатів на 14% перевищують відповідні показники у другому варіанті.

Таким чином, одержані дані свідчать про виражену антивірусну дію засобу з листя цукрових буряків щодо інфекційності ВТМ, як очищеного препарату, так і вірусу, що знаходиться в ґрунті. Сік з листя цукрових буряків, крім того, має рістостимулюючі властивості, не впливає негативно на рослини. Вказані характеристики в сукупності з доступністю сировини, легкістю одержання ефективної екологічно безпечної речовини, дають можливість рекомендувати останню як профілактичний і рістостимулюючий засіб при вирощуванні овочевих культур (томатів, огірків) за умов закритого ґрунту.

Аналіз результатів проведених досліджень взаємодії вірусів з клітинами уражених ними рослин за оприйнятливості рослин дав підставу сформулювати цитолітичну концепцію реалізації природних клітинних механізмів вірусостійкості випробуваних рослин. Взаємовідношення між вірусним і клітинним геномами рослин цукрових буряків коливаються в широких межах, що виражається у формуванні захисних реакцій рослини на вторгнення вірусу на різних рівнях. На молекулярному рівні

синтез специфічних цитоплазматичних білків, як прямої анти-вірусної дії, так і складових компонентів мембранних комплексів, індукує ультраструктурні перебудови клітини. Останні виражаються в активації лізосомального компартмента, використанні енергетичних можливостей хлоропластів і мітохондрій, специфічних для даного виду рослин клітинних компонентів, формуванні цитоплазматичних включень тощо. Реалізація клітинних механізмів вірусостійкості призводить до деструкції, пригнічення реплікації та системного транспорту вірусу і на рівні організму виражаються різними проявами інфекції: безсимптомною інфекцією ВТМ, локальною інфекцією ВОМ, сортовою симптоматичною стійкістю до вірусів жовтухи та мозаїки буряків. Зокрема, обмеження репродукції ЕКВ клітинами флоєми у стійкого сорту супроводжується індукцією локальних автолітичних структур; функціонування лізосомального компартмента клітин до зараження і появи симптомів прямо корелює із сортовою стійкістю рослин до ВМБ; локалізація інфекції ВОМ первинними інфекційними локусами зумовлена гіперплазією прилеглих до інфікованих клітин та цитолітичними процесами провідної системи листа; безсимптомна інфекція ВТМ пов'язана з інактивацією інокульованого вірусу, пригніченням матричної активності вірусної РНК та синтезу білка, розщепленням структурного білка антивірусним клітинним компонентом з протезною активністю.

В И С Н О В К И

1. За оприйнятливостю до вірусів жовтухи (ВЖБ) та мозаїки (ВМБ) буряків на високочу провокаційному інфекційному фоні виділено три групи районованих сортів цукрових буряків: сильно-, середньоуражувані та відносно стійкі сорти. При одночасній оцінці на продуктивність останні придатні для використання як в селекційному процесі, так і при промисловому їх вирощуванні.

2. При вивченні вірусіндукованих клітинних захисних процесів показано, що різний ступінь оприйнятливості сортів цукрових буряків до ВЖБ супроводжується локалізацією вірусу тканинами флоєми чи мезофілу листа та змінами ультраструктури уражених клітин: везикуляцією цитоплазми та ядерної оболонки, утворенням включень, деструкцією хлоропластів. В листі відносно стійкого сорту Антижовтушний ВНС репродукція вірусу обмежена клітинами флоєми з індуцією локальних аутолітичних структур за участю мембран гладкого ендоплазматичного ретикулуму; в хлоропластах відбувається акумуляція крохмальних зерен, пластоглобул та гранул фітоферитину.

3. Встановлено, що функціонування ліс змального компартмента клітин, активність кислої фосфатази до зараження і появи симптомів знаходяться в прямій залежності із сортовою стійкістю цукрових буряків до інфекції ВМБ; після появи симптомів розвиток цитолітичних процесів корелює із ступенем ураження рослин.

4. За морфологічним типом вірусоспецифічних протеїнових циліндричних включень (пластинки та азитки) в клітинах цукрових буряків та рослин-індикаторів індукуючий їх вірус мо-

заїки буряків віднесено до II підгрупи потівірусів за класифікацією Edwardson /1974/.

5. Вперше в Україні ідентифіковано ізометричний вірус слабкого пожовтіння буряків (beet mild yellowing virus група Luteovirus); при вивченні ультраструктури інфікованих клітин рослин виглядали специфічні цитоплазматичні вклучення, необхідні для реплікації вірусу: обмежені мембранами везикули з тонкофібрилярною Р^{НК}-подібною сіткою та віріонами, нитковидні вклучення та аморфні гранулярні утворення.

6. В ультратонких зрізах клітин флоєми листа цукрових буряків з симптомами жовтухи, мозаїки та відставання в рості виявлена змішана інфекція вірусів жовтухи буряків, мозаїки огірка, мікоплазми- та рикетсієподібних організмів із специфічною локалізацією та ультраструктурою, що відрізняють їх від типових мікоплазм та рикетсій.

7. Встановлено, що інфекція вірусу огіркової мозаїки (ВМ) у рослин цукрових буряків обмежена первинними інфекційними локусами, індукує набуту стійкість, метаболічні зміни і процеси гіперплазії в прилеглих до інфікованих клітинах паренхіми мезофілу та провідної системи, що призводять до порушення міжклітинного і судинного тракту порту вірусної інфекції.

8. Вивченням особливостей інфекційного процесу вірусу тютюнової мозаїки (ВТМ) при штучному зараженні рослин цукрових буряків показано, що у випробуваних сортів цукрових буряків інфекція ВТМ протікає безсимптомно, в інфікованих тканинах мають місце процеси реплікації та міжклітинного транспорту вірусу, а системний транспорт його через провідну систему не відбувається.

9. Виявлена інактивуюча здатність роачинних клітинних компонентів з листя цукрових буряків щодо інфекційності ВТМ. Встановлено хімічну природу, опосіб антивірусної дії біологічно активного компонента, можливості практичного застосування та участь в реалізації природних механізмів стійкості випробуваних рослин до інфекції ВТМ.

10. На підставі досліджень взаємодії між вірусами і клітинами при різних типах інфекційного процесу висувається цитолітична концепція реалізації природних клітинних механізмів вірусостійкості рослин, згідно з якою, взамовідношення між вірусним і клітинним геномами індукують ультраструктурні перебудови клітини, що призводять до пригнічення реплікації, деструкції та обмеження системного транспорту вірусу.

Основні роботи, в яких викладені матеріали дисертації

1. Колесник Л.В. Локализация некоторых ферментов микроорганизмов с данным электронно-микроскопической цитохимии // Микробиол. журн. - 1984. - 46, N 2. - С.97-108.
2. Колесник Л.В., Порембская Н.Б., Есбырь А.Д. Ультраструктура клеток листьев сахарной свеклы при оспованной вирусной инфекции // Микробиол. журн. - 1984. - 46, N3. - С.68-71.
3. Колесник Л.В. Обнаружение микоплазм и риккетсиоподобных организмов в тканях некоторых растений с симптомами желтухи и мозаики // Микробиол. журн. - 1985. - 47, N3. - С.77-84.
4. Колесник Л.В. Ультратонкая структура клеток растений-хозяев в процессе репродукции вируса огуречной мозаики, выделенного из сахарной свеклы // Микробиол. журн. - 1985. - 47, N 6. - С.64-72.

5. Колесник Л.В., Порембская Н.В., Краева Г.В., Бобырь А.Д. Особенности ультраструктуры клеток растений при поражении вирусом мозаики свеклы // Микробиол. журн. - 1987. - 49, N 6. - С.59-66.
6. Колесник Л.В. Цилиндрические включения в клетках растений, инфицированных вирусом мозаики свеклы // Микробиол. журн. - 1987. - 49, N 6. - С.85-86.
7. Колесник Л.В., Краева Г.В. Активность кислой фосфатазы в листьях сортов сахарной свеклы различных по восприимчивости к ВМС // Микробиол. журн. - 1986. - 50, N4. - С.71-78.
8. Колесник Л.В., Порембская Н.В., Бобырь А.Д. Ультраструктурное изучение развития болезни у растений-хозяев, инфицированных вирусом слабого пожелтения свеклы // Микробиол. журн. - 1989. - 51, N 2. - С.78-86.
9. Колесник Л.В. Синтез и возможные функции белков растений при сверхчувствительной реакции // Физиология растений. - 1991. - 38, N 5. - С.1005-1013.
10. Колесник Л.В. Особенности инфекции, вызванной вирусом табачной мозаики в растениях сахарной свеклы // Микробиол. журн. - 1992. - 54, N.4. - С.58-63.
11. Колесник Л.В., Краева Г.В. Выделение и характеристика ингибитора вируса табачной мозаики из листьев сахарной свеклы // Микробиол. журн. - 1992. - 54, N 6. - С.58-63.
12. Колесник Л.В. Действие трипсина и ингибитора из листьев сахарной свеклы на инфекционность и морфологию частиц вируса табачной мозаики // Микробиол. журн. - 1993. - 55, N 5. - С.31-37.
13. Kovalenko A.G., Grabina T.D., Kolesnik L.V. et al. Virus resistance induced with mannan sulphates in hypersensitive host-plants // J. Phytopathol. - 1993. - 137, N2. - P.133-147.

14. Коваленко А.Г., Колесник Л.В., Олещенко Л.Т. Изменения в ультраструктуре клеток мезофилла табака, индуцированные некоторыми полианионами // Цитология и генетика. - 1993. - 23, N 2. - С.6-12.
15. Колесник Л.В. Ультраструктура клеток флоэмы листа сахарной свеклы, зараженной вирусом мозаики огурца // Цитология и генетика. - 1995. - 28, N 6. - С.3-7.
16. Порембская Н.В., Колесник Л.В. Особенности поражения вирусом желтухи различных по восприимчивости сортов сахарной свеклы // Тез. докл. УП Всесоюз. совещ. фитовирусологов. - Вильнюс, 1984. - С.188.
17. Kolesnik L.V., Porembskaja N.B. Inclusions in plant cells during viral infection // Тез. докл. I конф-ции ГДР по электронной микроскопии. - Дрезден, 1984. - С.46.
18. Kolesnik L.V., Porembskaja N.B., Bobir A.D. Electron-microscopic study of sugar beet leaves cells with mixed infection // Там же. - С.47.
19. Порембская Н.В., Колесник Л.В., Вобирь А.Д., Краева Г.В. Характеристика изолятов вируса мозаики свеклы, поражающих сахарную свеклу // Тез. докл. УП съезда ВМО. - Алма-Ата, 1985. - С.27.
20. Колесник Л.В. Про участь пластоглобул та мітохондрій у цитолітичних процесах, індукованих вірусною інфекцією // Тези доп. У Укр. біохім. в'їду. - Івано-Фр., 1987. - С.4.
21. Колесник Л.В., Порембская Н.В. Развитие литических процессов в клетках проводящей системы листа, как возможная причина ограничения системного распространения вирусной инфекции // Тез. докл. УШ Всесоюз. совещ. по иммунитету о.-х. растений. - Рига, 1986. - Ч. III. - С.43-44.
22. Порембская Н.В., Колесник Л.В., Павленко Л.А., Краева Г.В.

- Вирусные болезни сахарной свеклы на Украине // Там же. - С.63.
23. Колесник Л.В. Ультраструктурное и цитохимическое исследование чувствительных и устойчивых к вирусным инфекциям сортов сахарной свеклы // Тез. докл. XIII Всесоюз. конф. ции по электр. микроскопии. - Звенигород, 1988. - С.245.
24. Колесник Л.В. Ультраструктура цитоплазматических включений, индуцированных вирусом слабого пожелтения свеклы // "Recent Results in Plant Virology", Symp. mit inter. at. Beteiligung in Eberswalde. - DDR, 1989. - S.49-50.
25. Колесник Л.В. Особенности инфекции растений сахарной свеклы вирусами огуречной и табачной мозаики // Там же. - С.51-52.
26. Колесник Л.В. Естественная и индуцированная устойчивость растений сахарной свеклы к вирусам мозаики огурца и свеклы // Тез. докл. Всесоюз. семинара "Индукцированная устойчивость с/х культур к фитопатогенам" (Терскол, 1989). - Ростов-н/Д, 1989. - С.43-44.
27. Колесник Л.В. Инактивация инфекционности некоторых фитовирусов ооком из листьев сахарной свеклы // Фитонциды. Бактериальные болезни растений: Тез. д. л. - Киев-Львов, 1990. - Ч.1. - С.37.
28. Kolesnik L.V. Studies on nature and mode of action of antiviral component from sugar beet leaves // Abstr. Internat. Conf. "Fundamental and applied problems in phytopathology". - Ukraine, Crimea, Yalta, 1994. - P.20.
29. Колесник Л.В. Дослідження транспортної форми деяких паличко- та нитковидних фітовірусів // Тези доп. І з'їзду УМТ.-Одеса, 1993. - Мікробіол. журн.-1994.-55, №5.- С.83.

КОЛЕСНИК Л.В. CYTOLOGICAL ASPECTS OF VIRUS RESISTANCE OF SUGAR-BEET PLANTS AT THE DIFFERENT TYPES OF THE INFECTIOUS PROCESS

Doctor of Sciences Dissertation (manuscript) by speciality 03.00.06 - virology, Institute of Microbiology and Virology, National Ukrainian Academy of Sciences, Kiev, 1996.

It is defended 40 scientific works containing results of the experimental investigation of interrelations between viruses and sugar beet plants at the different types of the infectious process to study of the natural cellular mechanisms of virus resistance of plants. It has formulated cytological conception on realization of the cellular mechanisms of virus resistance of tested plants according to its interrelations between viral and cellular genomes have induced of the ultrastructural cellular reconstruction expressing into metabolic changes, lysosomal compartment activation, use of the antiviral cellular components, formation of the virus-specific inclusions. Realization of the cellular mechanisms of virus resistance is carried out depression of replication, destruction and restriction systemic transport of viruses, and on organism level is resulted with different reveals of infection.

КОЛЕСНИК Л.В. ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВИРУСОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА

Диссертация (рукопись) на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.00.06 - вирусология Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины, Киев, 1996. Защищается 40 научных работ, которые содержат результаты экспериментальных исследований взаимоотношений вирусов и растений сахарной свеклы при различных типах инфекционного процесса, с целью изучения естественных клеточных механизмов вирусостойчивости растений. Сформулирована цитолитическая концепция реализации клеточных механизмов в вирусостойчивости испытанных растений, согласно которой взаимоотношения между вирусным и клеточным геномами индуцируют ультраструктурные перестройки клетки, которые выражаются в метаболических изменениях, активации лизосомального компартмента, использовании антивирусных клеточных компонентов, формировании вирусоспецифических включений. Реализация клеточных механизмов вирусостойчивости приводит к угнетению репликации, разрушению, ограничению системного транспорта вирусов и на уровне организма выражается различными проявлениями инфекции.

Ключові слова: цукрові буряки, фітовіруси, ультраструктура, лізосомальний компартмент, резистентність, транспорт.

Колесник

Підп. до друку 10.07.96. Формат 60×84/16. Папір офсетний. Офс. друк.
Ум. друк. арк. 2,79. Обл.-вид. арк. 2,0. Ум. фарбо-відб. 2,91. Тир. 100 прим.
Зам. 308.

Редакційно-видавничий відділ з поліграфічною дільницею
Інституту кібернетики імені В. М. Глушкова НАН України
252022 Київ 22, проспект Академіка Глушкова, 40

436692

AB 35.321