

виявлено відмінності у показниках молекулярної маси капсидних білків досліджуваних вірусів та ВТМ. За результатами імуноферментного аналізу виділені ізоляти взагалі не мають сероло-

гічної спорідненості з ВТМ, що зумовлено низьким ступенем серологічної спорідненості (за літературними даними).

1. *Одинцова Т. И., Андреева Э. Н., Пухальский В. А., Мусолямов А. Х., Егоров Ц. А.* Структурный анализ белка оболочки вируса крапчатой мозаики огурца // Биохимия.– 2000.– Т. 65.– Вып. 5.– С. 672–679.

2. *Laemmli U. K.* Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature.– 1970.– 227.– N 15.– P. 608–685.

3. *Virus Taxonomy. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.*– Academic Press, 2000.– 1162 p.

A. Ryzhkova, V. Polishchuk

BIOLOGICAL PROPERTIES TWO VIRUSES ISOLATED FROM GREENHOUSES UKRAINE

Characterized and research properties two viruses causing cucumbers in greenhouses. These viruses are isolates of cucumber green mottle mosaic tobamovirus.

УДК 574.64

Шевченко О. В., Будзанівська І. Г., Шевченко Т. П., Поліщук В. П.

ВПЛИВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА ПЕРЕБІГ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ ТЮТЮНУ

*Внаслідок суттєвого забруднення ґрунтів деяких регіонів України сполуками важких металів виникла потреба дослідити їх вплив на розвиток фітовірусної інфекції (Х-вірус картоплі). Виявилося, що внесення важких металів у ґрунт у ГДК не впливало на строк появи симптоматики на рослинах тютюну (*Nicotiana tabacum* cv. *trapeson*). Однак сумісний вплив важких металів та вірусної інфекції призводив до збільшення концентрації хлорофілу у дослідних рослинах і частково компенсував вплив вірусної інфекції на рослини. Це свідчить про те, що підвищена концентрація окремих важких металів у ґрунті може частково нівелювати вплив біотичного стресу, спричиненого вірусною інфекцією рослин.*

Останнім часом у зв'язку з бурхливим розвитком промисловості спостерігається значне підвищення рівня важких металів в навколишньому середовищі. Збільшені концентрації важких металів можуть призводити до загальних неспецифічних фізіологічних та біохімічних змін, серед яких виділяють пошкодження мембран, зміну активності ферментів, інгібування росту коренів та ін. [7, 8, 9]. Ці первинні зміни можуть спричинити гормональний дисбаланс, дефіцит

окремих елементів, інгібування фотосинтезу, порушення транспорту фотоасимілятів та водного режиму. Результатом цих змін є уповільнення росту рослини [5, 6].

Водночас треба зважати на те, що разом з абіотичним компонентом стресу (радіоактивним чи хімічним забрудненням) у біоценозах існує ще й біотичний компонент [10]. Одним з індукторів біотичного стресу рослин є вірусна інфекція.

Метою даної роботи було прослідкувати можливі зміни перебігу вірусної інфекції в умовах підвищеної концентрації окремих важких металів.

Експерименти проводили у модельній системі Х-вірус картоплі – рослини *Nicotiana tabacum* cv. *trapeson*. Метали (Cu, Zn та Pb) вносили кожний окремо у формі розчинних солей ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$, ZnSO_4 , PbNO_3) у концентраціях, визначених для району Зміївської ДРЕС Харківської області [1], близьких до встановлених ГДК [2, 13]. Рослини уражували ХВК у концентрації 50 мкг/мл механічно у два листки за допомогою карборунду. Концентрацію вірусу в рослинах визначали за допомогою непрямого ІФА за загальноприйнятою методикою [7, 11] кожного тижня протягом експерименту. Наважка зразків становила 60 мг, кінцеве розведення після низькошвидкісного центрифугування (5000 об./хв, 15 хв) – 1 : 50 у карбонатному буфері. Для діагностики вірусного антигена в соку використовували поліклональну кролячу сироватку (Україна, Чернігів) у робочому розведенні 1 : 80000. В якості індикаторних антитіл використовували баранячі антикролячі IgG (Sigma), кон'юговані з пероксидазою хрому. Вимірювання проводили при довжині хвилі 492 нм. Концентрацію хлорофілу визначали паралельно з визначенням концентрації вірусу в рослинах за методом Арнона [4, 14] з використанням 80 %-го ацетону. Розведення становило 5 мл. Вимірювання проводили при довжині хвиль 649, 652 та 665 нм. Концентрацію сумарного хлорофілу розраховували за формулою (мг/л):

$$C_{a+b} = (E_{652} \times n) / 34,5,$$

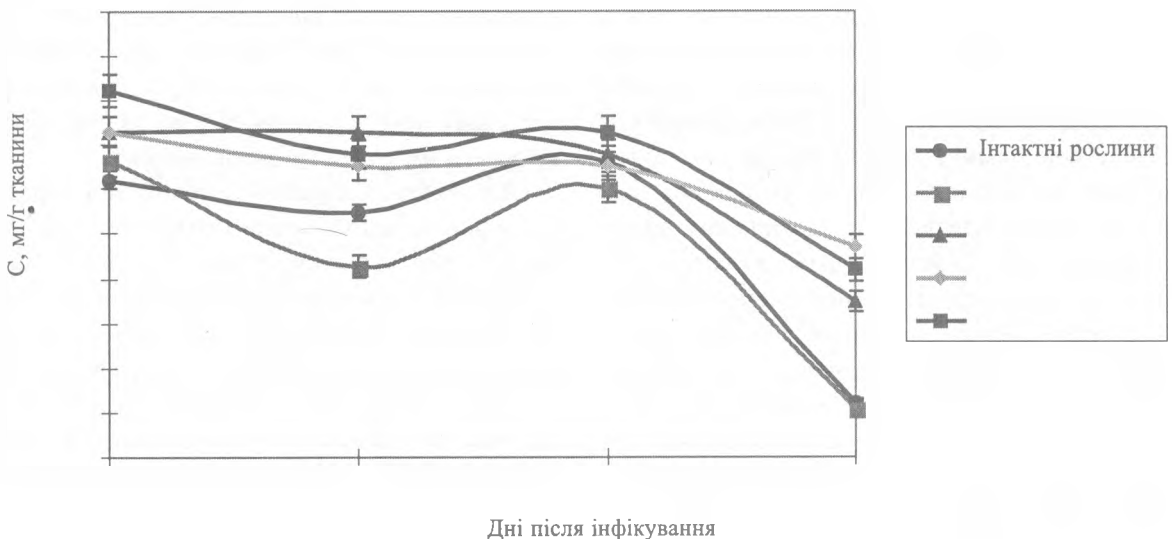


Рис. 1. Концентрація сумарного хлорофілу уражених рослин з та без додавання важких металів

де n – розведення (5 мл), після чого, знаючи масу наважок, розраховували концентрацію у мг/г тканини.

Попередні дослідження показали, що спостерігається певна кореляція між підвищеною концентрацією важких металів у ґрунтах в районі Зміївської ДРЕС Харківської області та ступенем ураженості рослин вірусами. Зрозуміло, що у біоценозі неможливо відокремити вплив окремих металів на рослину в умовах вірусної інфекції [12]. Проведені раніше експерименти [1] показали, що сумісний вплив суміші сполук важких металів пригнічує ріст та розвиток рослин, особливо за наявності ще й вірусної інфекції. Тому метою даних модельних експериментів була спроба виявити вплив окремих металів на перебіг фітовірусної інфекції, показати можливі зміни у концентрації хлорофілу, яка, фактично, відображає активність фотосинтезу, тобто стан рослини в цілому.

Проведені дослідження показали, що, незалежно від додавання сполук важких металів у ґрунт, симптоми у вірус-уражених рослин з'являлися на 16-й день після інфікування (дпі). Симптоми були типові для інфекції тютюну Х-вірусом картоплі: м'яка мозаїка з наступним переходом до чорних некротичних круглих плям.

Аналіз динаміки вмісту хлорофілу показав, що за відсутності впливу важких металів для уражених рослин характерна менша концентрація хлорофілу у порівнянні зі здоровими інтактними рослинами (рис. 1). Як було показано раніше [3], пригнічення фотосинтетичної активності є типовим проявом системної вірусної інфекції на рівні рослинного організму.

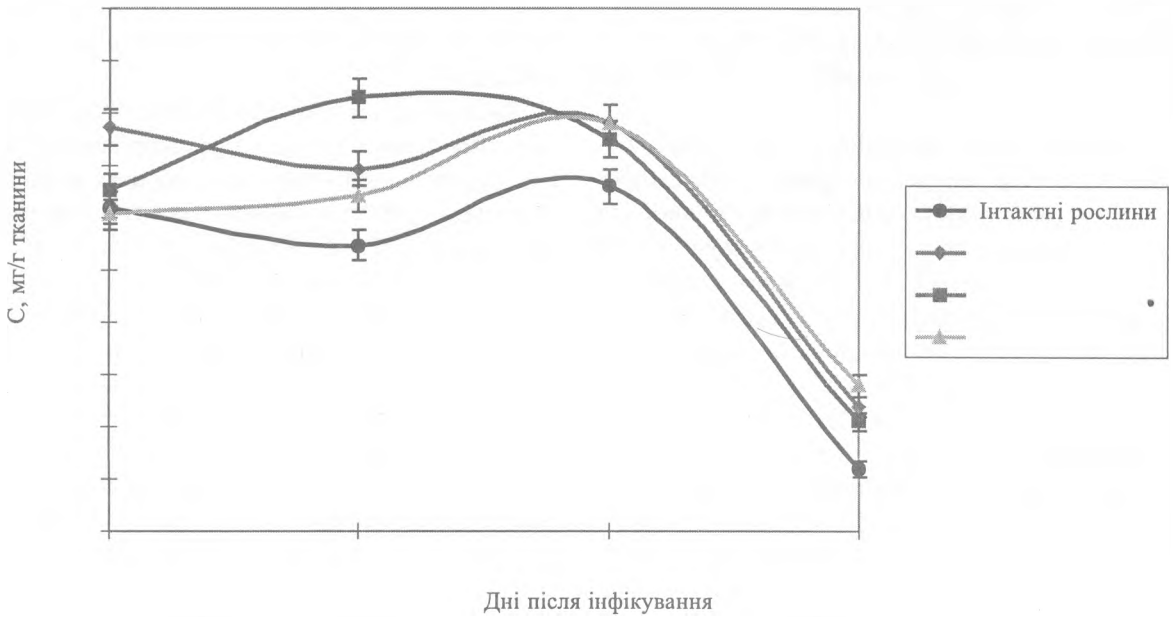


Рис. 2. Концентрація сумарного хлорофілу неуражених рослин

На противагу цьому, за відсутності вірусної інфекції у рослин, що вирощувалися у ґрунті з додаванням важких металів, вміст був більший, ніж у інтактних рослин (рис. 2).

Більше того, в усіх уражених рослинах, які вирощувалися у ґрунті з додаванням окремої сполуки важкого металу (міді, цинку або свинцю), концентрація хлорофілу була вищою, ніж в усіх інших рослин, в тому числі й інтактних, які не були уражені та вирощувалися у ґрунті без додавання важких металів (рис. 1). Тобто присутність окремих важких металів у концентрації, близькій до ГДК, в даному випадку є фактором, здатним компенсувати вплив вірусної інфекції на рослини.

Відомо, що цинк та мідь входять до складу рослинних ферментів, які беруть участь у процесах фотосинтезу. Тому їх наявність у ґрунті у перманентно високих концентраціях, нижчих за ГДК, є нормальним явищем [9]. За відсутності вірусної інфекції внесення сполук окремих важких металів призводить до підвищення вмісту хлорофілу (рис. 2), яке свідчить, що молоді рослини активно поглинають мікроелементи з ґрунту в процесі свого зростання, і їх внесення у формі розчинних солей компенсує їх дефіцит. Разом з тим відомо, що такі елементи, як цинк та кобальт, входять до складу комплексних сполук, які підвищують стійкість рослин до вірусних інфекцій. Таким чином, в невеликих дозах ці метали (кожний окремо) можуть стимулювати захисні реакції рослин [5, 13].

Результати імуноферментного аналізу показали поступове підвищення концентрації вірусного антигена в соковій експериментальних рослин з часом, що корелює зі зменшенням концентрації хлорофілу в усіх зразках рослин після 47 днів.

Узагальнюючи отримані результати, можна дійти висновку, що підвищення вмісту важких металів у ґрунті спроможне компенсувати вплив біотичного стресу, спричиненого вірусною інфекцією рослин. Однак ці дані не узгоджуються з результатами, отриманими раніше [1]. Це може бути пояснене тим, що у попередніх досліджах була використана суміш сполук важких металів в аналогічних концентраціях, яка суттєво пригнічувала ріст рослин внаслідок її синергічної дії з вірусною інфекцією. У нашому дослідженні дія окремих металів має антагоністичний характер у поєднанні з вірусною інфекцією, причини чого не зовсім зрозумілі на даний момент.

Дослідження перебігу фітовірусної інфекції під впливом радіоактивного чи хімічного забруднення і моніторинг циркуляції вірусів рослин та їх векторів дасть змогу виявити генетично стійкі до вірусних інфекцій рослини, пояснити природу штамової різноманітності вірусів рослин й розробити ефективні захисні заходи. Ймовірно, що знаючи оптимальне співвідношення вмісту мікроелементів у ґрунтах для конкретного виду рослини, можливо спрогнозувати раціональне використання земельних угідь, забруднених важкими металами.

1. Будзанівська І. Г., Поліщук В. П., Бойко А. Л. Підвищена концентрація важких металів в ґрунті – великий ризик розвитку вірусних інфекцій рослин // Наук. вісник УжНУ. Сер.: Біологія.– 2001.– Вип. 9.– С. 96–99.
2. Костишин С. С., Руденко С. С., Дмитрук Ю. М., Курек С. І. Пирій повзучий як модель для дослідження поглинання важких металів // Физиология и биохимия культурных растений.– 1995.– Т. 27.– № 1–2.– С. 65–70.
3. Улинець В. З., Поліщук В. П., Шадчина Т. М., Немченко А. М. Успіхи і проблеми в розробці методів дистанційної діагностики фітовірусних інфекцій // Наук. вісник УжНУ. Сер.: Біологія.– 2001.– Вип. 9.– С. 73–76.
4. Физиология растений: Практикум / Під ред. Мусієнка М. М.– К.: Вища школа, 1995.–191 с.
5. Гуральчук Ж. З. Механізми устойчивости растений к тяжелым металлам // Физиология и биохимия культурных растений.– 1994.– Т. 36.– № 2.– С. 107–117.
6. Ильин В. Б. Тяжелые металлы в системе почва-растение.– Новосибирск: Наука, 1991.– 151 с.
7. Clark M. F., Adams A. N. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses // J. Gen. Virol.– 1977.– V. 34.– P. 475–483.
8. Foy C. D., Chaney R. L., White M. C. The physiology of metal toxicity in plants // Ann. Rev. Plant Physiol.– 1978.– V. 29.– P. 511–566.
9. Kabbata-Pendias A., Pendias H. Trace elements in soils and plants / CRC press, Inc.– Florida: Boca Raton, 1986.– 349 p.
10. Kegler H., Spaar D. et al. Viruses in soil and ground water (review) // Arch. Phytopath. Pflanz.– 1995.– N 29.– P. 349–371.
11. Methods in molecular biology. ELISA: theory and practice / Ed. by Crowther J. R.– Humana Press, 1995.– 223 p.
12. Peterson P. J. Adaptation to toxic metals // Metals and micro-nutrients: uptake and utilisation by plants / Ed. D. A. Robb, W. S. Pierpoint.– New York: Academic Press, 1983.– P. 51–69.
13. Rauser W. E., Dumbroff E. B. Effects of excess cobalt, nickel and zinc on the water relations of *Phaseolus vulgaris* // Env. Exp. Bot.– 1981.– V. 21.– N 2.– P. 249–255.
14. Wellburn A. R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution // J. Plant Physiol.– 1994.– V. 144.– P. 307–313.

O. V. Shevchenko, I. G. Budzanivska, T. P. Shevchenko, V. P. Polishchuk

EFFECT OF HEAVY METALS ON THE COURSE OF VIRUS INFECTION OF TOBACCO

Due to serious heavy metal pollution of soils of some Ukrainian regions, we studied effects of some heavy metal compounds on the course of plant virus infection (Potato virus X). Bringing in of heavy metals in soil in MPC did not influence the time of appearance of virus infection symptoms on tobacco (Nicotiana tabacum cv. trapeson) plants. Contrary to this fact, combined effect of heavy metal together with virus infection caused an increase of chlorophyll concentration in experimental plants, and therefore partially compensated the impact of virus infection on plants. This may lead to the conclusion that a slight increase of some heavy metals' content in soil may grade in part the influence of the biotic stress caused by plant virus infection.

УДК 616–001.28+616.15:599.323.45

Носова Л. І., Алесіна М. Ю.

СТАН КЛІТИННОЇ ЛАНКИ В СИСТЕМІ НЕСПЕЦИФІЧНОГО ЗАХИСТУ ОРГАНІЗМУ ОПРОМІНЕНИХ ЩУРІВ

У статті наведено результати дослідження динаміки показників неспецифічної резистентності білих лабораторних щурів, яких піддавали хронічному (впродовж 12 міс.) радіаційному навантаженню в умовах зони відчуження ЧАЕС. Встановлено, що при тривалому внутрішньому і зовнішньому опроміненні у діапазоні малих доз (від 0,2 до 50 сГр) стан клітинної ланки природного імунітету тварин залежить переважно від тривалості формування поглиненої дози на тіло (від різних джерел іонізуючого випромінювання), а не від її величини.

Природний імунітет (або неспецифічна резистентність) виявляється в здатності всіх живих

організмів протистояти дії несприятливих чинників навколишнього середовища завдяки су-