

УДК 578.85/86

Сенчугова Н. А.

## ДІАГНОСТИКА ВІРУСНИХ ХВОРОБ ЕФІРООЛІЙНИХ КУЛЬТУР МЕТОДОМ ЕЛЕКТРОННОЇ МІКРОСКОПІЇ

*Вивчення морфології виділених вірусів показало, що троянда та м'ята уражуються паличкоподібними вірусами з розмірами 300 x 18 нм, які мають серологічну спорідненість із вірусом тютюнової мозаїки. Лаванда уражується переважно вірусом із розмірами 650-800x113 нм і має серологічну спорідненість з потівірусами.*

Серед ранніх методів діагностики значного поширення набула електронна мікроскопія, що стала однією із найважливіших складових комплексу діагностичних методів у фітовірусології [1]. Метод дозволяє з великою точністю виявляти наявність вірусної інфекції в рослинах. При дослідженні вірусів препарати звичайно готують безпосередньо із соку інфікованих частин рослини або очищеного вірусу. Електронну мікроскопію використовують для ідентифікації збудника і диференціальної діагностики поряд з іншими методами, тому що розміри й морфологія часток характерні для кожного виду вірусу і є одним із критеріїв симптоматики. Водночас метод електронної мікроскопії має ряд недоліків, один із яких - низька концентрація вірусів безпосередньо в соці рослини. Іншим чинником, що зни-

жує цінність електронної мікроскопії як діагностичного методу, є суб'єктивність в інтерпретації результатів, а також неможливість диференціювати віруси різних таксономічних груп.

### Матеріали та методи

Для визначення морфологічних показників і розмірів вірусів, виділених з ефіроолійних рослин, використовували метод електронної мікроскопії [2,3]. Електронномікроскопічне дослідження очищених препаратів вірусів здійснювали на електронному мікроскопі 1200 EX (Японія) при 80 кіловольтях. Переглядали препарати при інструментальному збільшенні 40-60 тис. Досліджували віруси кількома способами: методом занурення і методом нанесення на сіточку суспензії соку [3].

Перший метод полягає в занурюванні свіжого надрізу інфікованого листка в сіточку з дистильованою водою на 1-2 хв. Другий - на сіточку з плівкою-основою поміщають краплю рослинного соку або очищеного вірусного препарату, висушують при кімнатній температурі і негативно контрастують 2 %-вим розчином фосфорно-вольфрамової кислоти (ФВК), (рН 6,8) [1].

### Результати та їх обговорення

Зразки, відібрані з промислових плантацій, під час візуального обстеження групувалися за такими симптомами: зміна забарвлення (мозаїка, хлороз, плямистість, різнобарвність пелюсток) та змінені форма окремих частин рослин — листків та стебла (скручування верхівок, карликовість, виродження паростків, деформація). Досліджували як сік хворих рослин, так і очищені препарати вірусів. Проводячи експерименти протягом річного циклу з рослинами, які зростають на плантаціях в агроценозі, ми дійшли висновку, що найкраще «виловлювалися» вірусні частки навесні в соці молодих листочків та влітку в суцвіттях.

При дослідженні соку вже відібраних зразків різних сортів троянди ефіроолійної, таких як Кримська красна, Таврида, Райдуга, Лань, Україна, Фестивальна і деяких із колекційного розплідника, нами було виявлено вірусні частки різних розмірів [4]. Сорт «Кримська красна» дуже виділявся серед інших обстежених сортів (рис. 1).

Аналізуючи отримані результати (див. рис. 1), необхідно підкреслити, що під час перегляду пре-

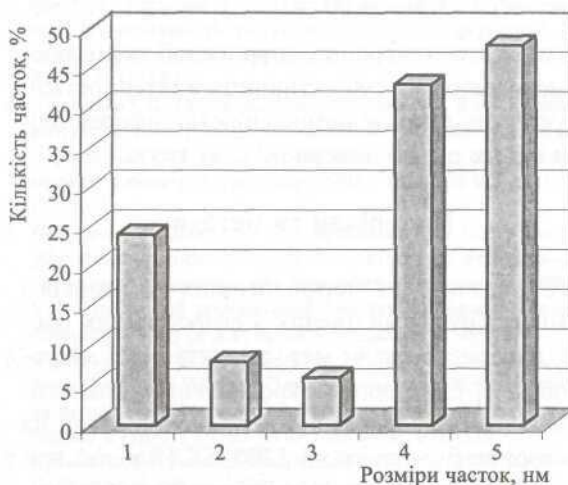


Рис. 1. Розміри часток вірусів при дослідженні в електронному мікроскопі соку троянди ефіроолійної сорту «Кримська красна». Розміри часток: 1 - до 50 нм; 2-до 100 нм, 3-до 200 нм; 4-до 350 нм; 5-до 760 нм

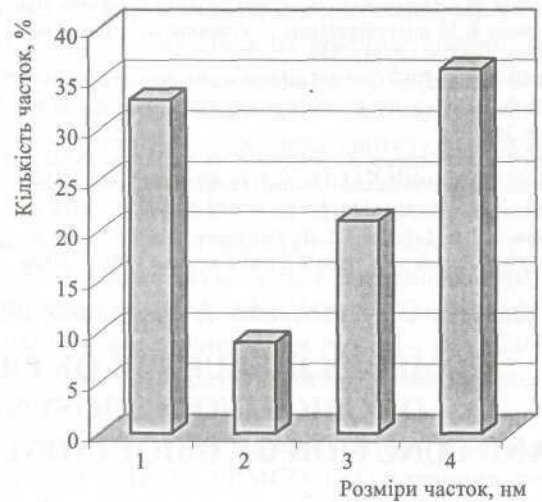


Рис. 2. Розподіл вірусних часток, виявлених методом електронної мікроскопії в соку рослин троянди ефіроолійної сорту «Райдуга». Розміри часток: 1 - до 242 нм; 2 - до 300 нм; 3 - до 580 нм; 4 - до 730 нм

паратів під електронним мікроскопом були виявлені вірусні частки, розміри яких дуже варіювали. З них близько 30 % склали частки з розмірами  $730 \pm 20$  нм; 26 % - близько 300 нм; 14 % - до 50 нм; 4 % - до 100 нм; 3 % - до 200 нм.

Цікавим є той факт, що не тільки в зразках із листків виявлено вірусні частки, а й у пелюстках також. З пелюсток троянди ефіроолійної із симптомами різного забарвлення нами виявлено частки ниткоподібної форми.

При обстеженні іншого промислового сорту троянди - «Райдуга» - ми також знаходили вірусні частки різної морфології. Аналіз отриманих електронномікроскопічних даних показав, що в соку з рослин троянди сорту «Райдуга» співвідношення розмірів часток було таким: найбільша кількість вірусних часток (52 %) відповідала довжині  $242 \pm 50$  нм; 36 % -  $730 \pm 30$  нм, 8 % -  $535 \pm 50$  нм, а 4 % мали довжину 300 нм (рис. 2).

Не менш цікаві результати отримано при дослідженні методом електронної мікроскопії соку рослин м'яти. Попередній візуальний аналіз за сортами визначив найбільш уражений сорт «Прилуцький-6» — саме йому була приділена особлива увага. Як і в попередніх дослідженнях, ми вивчали сік із листків та пагонів (рис. 3).

За результатами підрахунку (див. рис. 3) одержано таку картину: найбільша кількість часток (55 %) мала розміри близько 100 нм. Далі розміри розподілялися так: 21 % -  $300 \pm 5$  нм; 16 % -  $50 \pm 10$  нм; 6 % -  $570 \pm 30$  нм, а 2 % - більше  $850 \pm 50$  нм. Отже, в результаті електронномікро-

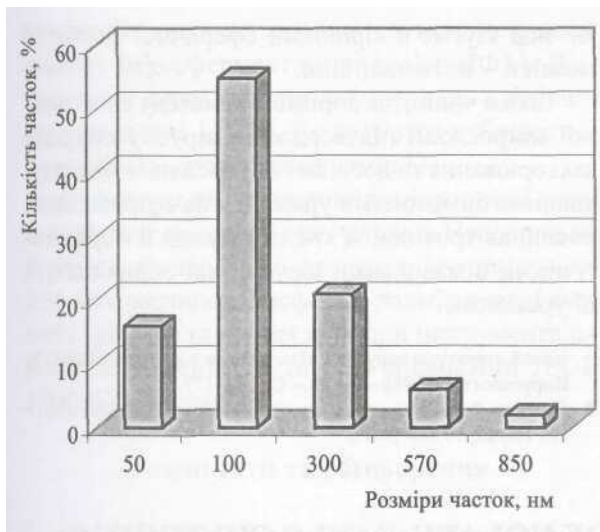


Рис. 3. Діаграма розподілу вірусних часток, виявлених у рослинному матеріалі з кореневищ м'яти сорту «Прилуцький-6»

скопичних досліджень відібраних при візуальному обстеженні кореневищ м'яти сорту «Прилуцький-6» було виявлено вірусні частки різних розмірів, що підтвердило наше припущення про вірусну природу хвороби на м'яті.

Відібрані при візуальних обстеженнях зразки лаванди основного виробничого сорту «Степна», так само, як і попередні види ефіроолійних рослин, вивчали методом негативного контрасту-

вання. Оскільки за існуючими посиланнями наукової літератури всі інфекційні хвороби на лаванді вважаються мікоплазменими, перед нами постало нелегке завдання відстояти свою думку й довести вірусну природу хвороби на лаванді. Тому для аналізу бралися такі самі зразки, що й для попередніх досліджень.

У зразках із соку листків лаванди з симптомами всихання і скручування верхівок ми виявили вірусні частки ниткуватої форми з розмірами близько  $700 \pm 30$  нм і діаметром біля 12 нм та сферичної форми - 28 нм у діаметрі, а в зразках із симптомами жовтяниці - ниткуваті вірусні частки.

Перевірка соку відібраних зразків інших сортів і гібридів лаванди дала можливість переконатись у слушності нашого припущення щодо їхньої вірусної природи. Серед обстежених рослин найбільш ураженими виявилися гібриди 121 та 112/23.

Таким чином, у результаті електронномікроскопічних досліджень соку ефіроолійних рослин із різноманітними візуальними симптомами нами було знайдено віруси кількох типів симетрії: ниткоподібної форми завдовжки 600-850 нм і діаметром 12-15 нм, жорсткопаличкоподібної форми завдовжки 270-350 нм і діаметром 18 нм, а також ізометричної - із діаметром 28 нм та 32 нм. Ми спробували дослідити співвідношення між симптомами на рослинах та їх морфологією (рис. 4).

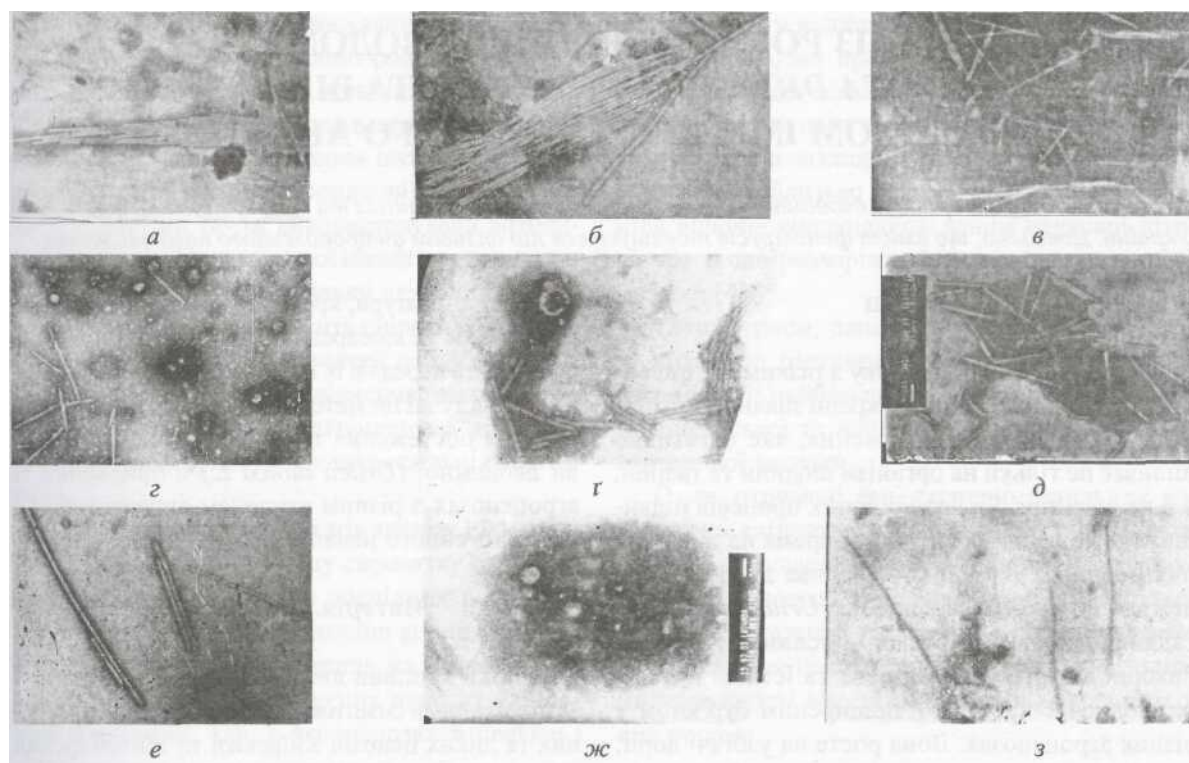


Рис. 4. Електроннограми часток вірусів із соку ефіроолійних рослин: а-в - троянди; г-д - м'яти; е-з - лаванди. Масштабна лінія відповідає 50 та 100 нм

Аналізуючи дані, отримані при дослідженні в електронному мікроскопі відібраних з ефіроолійних культур проб, ми дійшли висновку, що майже в усіх зразках є вірусні частки різної морфології. Отримані результати дають підставу зробити таке узагальнення: у рослин із симптомами деформації, виродження, затримки росту виявляються переважно частки жорсткої паличкоподібної форми. Симптоми скручування верхівок

ми пов'язуємо з віріонами сферичної форми, а мозаїки - ниткоподібної.

Таким чином, за допомогою методу електронної мікроскопії підтверджено вірусну природу захворювання та досліджено кореляцію між візуальними симптомами ураження на ефіроолійних рослинах троянди, м'яти та лаванди й морфологічними показниками вірусів, які спричиняють ці ураження.

1. Миронов А. А., Комиссарчик Я. Ю., Миронов В. А. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине.- СПб.: Наука, 1994.-399 с.
2. Королев М. Б. Электронно-микроскопический анализ анти-

генной структуры вирусов // Итоги науки и техники ВИНТИ. Вирусология.- 1986.-№ 12.-С. 142-177.

3. Гнутова Р. В. Серология и иммунохимия вирусов растений.- М: Наука, 1993.-300 с.

*N. Senchugova*

## **VIRAL DISEASE DIAGNOSTICS OF VOLATILE OILS CULTURES BY ELECTRONIC MICROSCOPY METHOD**

*This thesis is dedicated to study the spread of viral infection in the three main volatile-oil crops of Crimea region: rose, mint and lavender. Morphological study of isolated viruses had shown that rose and mint are infected by rod-shaped viruses with the dimensions of 300x18 nm, which are serologically linked to tobacco mosaic virus. Lavender is mainly infected by filiform viruses with the dimensions 650-800x13 nm and serologically linked to potyvirus.*