

УДК 578.24:577.359:632.938:633.1

Л.Т. Міщенко, канд. біол. наук, В.В. Тороп, пров. інж., О.В. Молчанець, канд. біол. наук,
Л.В. Токарчук, канд. біол. наук, Г.С. Янішевська, пров. інж., Т.В. Кучинова, пров. інж.

ДОСЛІДЖЕННЯ РЕАКЦІЇ ЗЕРНОВИХ КУЛЬТУР НА РОЗВИТОК ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ МЕТОДОМ ЕЛЕКТРОПРОВІДНОСТІ

Досліджено розвиток вірусної інфекції при зараженні зернових культур вірусом смугастої мозаїки пшениці в контрольованих умовах візуальним, електрометричним та імунологічним методами. Обговорюється залежність між електрометричними показниками та стійкістю рослин до вірусної інфекції. Показано, що електрометричні вимірювання доцільно використовувати для раннього виявлення вірусу й попередньої оцінки толерантності генотипів зернових культур до вірусної інфекції.

The development of wheat streak mosaic virus in a number of small grain crops infected under controlled conditions has been investigated by visual, the electrical calculations and immunologic procedures methods was researched. The dependence is discussed between electrometric characteristics and plant resistance to viral infection. The electrical calculations have been shown very desirable for virus detection at the early stages of infection and preliminary estimation of the small grain-crops genotypes' tolerance to viral infection.

Вступ. Електрометричні методи набули широкомасштабного застосування для дослідження реакції рослин у відповідь на стреси, викликані різноманітними абіотичними чинниками. Існує цілий ряд способів оцінки фізіологічного та патологічного стану рослин за дії абіотичних чинників, основаних на реєстрації зміни електропровідності (ЕП) їхніх тканин [1, 2].

Досліджуючи зміну проникності та ЕП штучних і біологічних мембран рослинної клітини, Д.К. Кларксон [3] виявив, що йонна проникність біологічних мембран значно зростає під дією деяких антибіотиків, що виробляються бактеріями і грибами. Руїнування мембран, плазмоліз клітин, інфікованих вірусом тютюнової мозаїки та витікання електролітів у міжклітинний простір спостерігали в роботі [4].

Розвиток адаптивних реакцій у толерантних до вірусної інфекції рослин – модифікації клітинних стінок, що включають синтез нових структурних білків і поліфенольних речовин, які разом формують трьохвимірну сітку навколо клітини, утворення полісахаридів (пектин, целюлоза) або поліфенолів (лігнін, суберин) [5, 6] – усі ці процеси також впливають на проникність і ЕП тканин.

Зерновому господарству України значної шкоди завдає вірус смугастої мозаїки пшениці (ВСМП) [7]. Гена стійкості до ВСМП не існує, проте виділяють генотипи, які відрізняються чутливістю до цієї інфекції [8].

Метою наших досліджень було виявити реакцію тканин листків на стрес, викликаний вірусом смугастої мозаїки пшениці й простежити за розвитком інфекційного процесу в різних за чутливістю сортів зернових культур методом вимірювання ЕП тканин інтактних листків рослин-хазяїв, одночасно використовуючи класичні вірусологічні методи діагностики.

Об'єкт і матеріали досліджень. Об'єктом вірусологічних досліджень був полтавський ізолят ВСМП.

Для інфікування використовували озиму пшеницю сортів Лада, МIRONІВСЬКА-65, МIRONІВСЬКА-67, Колективна-3, Одеська-167; овес сортів Таращанський, Скакун; ячмінь сортів Таращанський, Рось.

Штучну інокуляцію дослідних рослин проводили у фазі 2-х листків шляхом втирання соку рослин-накопичувачів, отриманого за допомогою фосфатного буферу рН 7,2. Контрольні рослини натирали самим лише фосфатним буфером.

За розвитком вірусної інфекції спостерігали візуально, констатуючи появу зовнішніх симптомів, вимірюючи ЕП листків та визначаючи наявність антигену (АГ) в ІФА зразків досліджуваних рослин протягом 28 діб.

Для електрометричних досліджень нами застосовано електромір Е7-13, оснащений голчастими молібденови-

ми електродами довжиною 9 мм з міжелектродною відстанню 1 см. Методику використання описано раніше [2].

Виявлення АГ здійснювали у твердофазному імуноферментному аналізі (ІФА) з використанням специфічних діагностичних сироваток до ВСМП [9], які одержували за стандартною методикою [10]. Оптичну густину зразків в ІФА вимірювали на рідері фірми Termo Labsystems Opsis^{MR} з програмним забезпеченням Dynex Revolution Quicklik (США) при довжинах хвиль 405/630 нм.

Відносну оптичну густину дослідних зразків визначали за формулою $E = E_i / E_k$ де E – відносна оптична густина; E_i – оптична густина інфікованого зразка; E_k – оптична густина контрольного зразка.

Повторюваність для електрометричних досліджень – 10-кратна, для імунологічних – 3-кратна.

Дисперсійний і кореляційний аналіз проведено з використанням комп'ютерних програм Microsoft Excel та AGROSTAT.

Результати та їх обговорення. Відомо, що озима пшениця є найчутливішою до ураження ВСМП восени й навесні, менш чутливий овес, а ячмінь – більш толерантний до ураження цією інфекцією. Остаточну оцінку чутливості сортів зернових культур можна дати лише за аналізом урожайності, біологічної та господарської продуктивності. Нами було зроблено спробу знайти залежність між проявом візуальних симптомів, ЕП і вмістом вірусу, визначеним за відносною оптичною густиною в ІФА досліджуваних зразків.

Появу перших візуальних симптомів захворювання ВСМП спостерігали на 12–14-у добу після інокуляції та оцінювали за 4-бальною шкалою (табл. 1).

Перші симптоми у вигляді слабкої світло-зеленої мозаїки з'явилися на рослинах сорту МIRONІВСЬКА-67 через 12 діб після інфікування. На 14-у добу симптоми спостерігали і в інших сортів, крім пшениці Одеська-167 та ячменю Рось. Через 18 діб після інфікування на листках пшениці сорту МIRONІВСЬКА-67 відмічено появу інтенсивної зелено-жовтої мозаїки та смужок. Ще через 2 доби всі досліджувані рослини мали такі симптоми, крім пшениці сортів Колективна-3 і Одеська-167. На 24-у добу після інокуляції симптоми у вигляді поховіння та засихання інтенсивністю 3 бали відмічено на рослинах пшениці сорту МIRONІВСЬКА-67, і лише симптоматику сорту Одеська-167, як і раніше, було оцінено в 1 бал. Такий стан зберігався впродовж 24-ї та 28-ї діб досліді.

Для оцінки фізіологічної реакції уражених вірусом рослин проводили вимірювання показників ЕП тканин інтактних листків. При дослідженні в динаміці в чутливого сорту Лада вже на 5-у добу спостерігалася достовірне підвищення їх порівняно з контролем на 20–25 % (рис. 1).

Таблиця 1. Динаміка проявлення симптомів ураження ВСМП на рослинах злаків при штучній інокуляції

Культура, сорт	Час появи симптомів (доба після інокуляції) у балах						
	12 доба	14 доба	16 доба	18 доба	20 доба	24 доба	26 доба
Пшениця Миронівська-67	1	1	1	2	2	3	3
Пшениця Миронівська-65	0	1	1	1	2	2	2
Пшениця Колективна-3	0	1	1	1	1	2	2
Пшениця Одеська-167	0	0	0	0	1	1	1
Овес Таращанський	0	1	1	1	2	2	2
Овес Скакун	0	1	1	1	2	2	2
Ячмінь Таращанський	0	1	1	1	2	2	2
Ячмінь Рось	0	0	1	1	2	2	2

0 – симптоми ураження відсутні; 1 – слабка світло-зелена мозаїка; 2 – інтенсивна зелено-жовта мозаїка, смугастість; 3 – поховтіння та засихання листків.

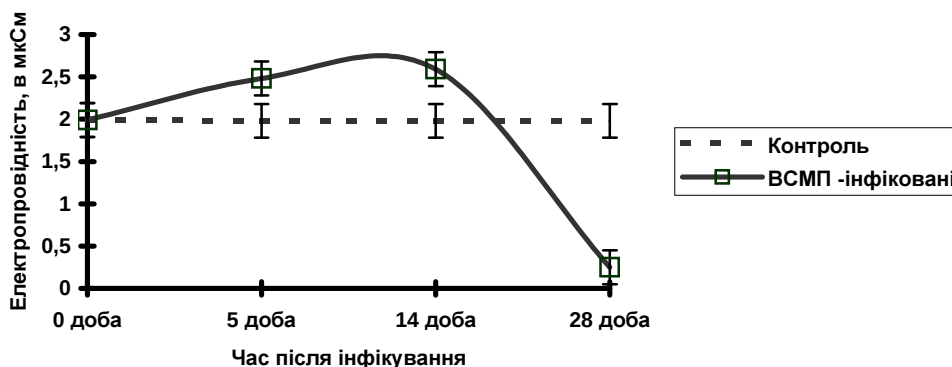


Рис. 1. Визначення ЕП тканин перших (інфікованих) листків пшениці чутливого сорту Лада в динаміці інфекційного процесу

ЕП тканин листків спочатку зростала, а починаючи з 12-ої доби почала знижуватися і на 28-у добу досягла фонових значень – 0,25 мікросименса (мкСм). Перші інфіковані листки засохли. Зростання ЕП відмічено і в молодих (3–5 листках) інфікованих рослин порівняно з контрольними.

Такий характер зміни показників ЕП спостерігався у чутливих сортів. У менш чутливих культур на 5-у добу після інфікування електропровідність зростала лише на 10–15 %, або не змінювалася, а в толерантних – дещо знижувалася.

Дослідження, проведені в різних ділянках листової пластинки показали, що наймолодша (базальна) частина листка є тим місцем, де відбуваються найістотніші зміни ЕП, що реєструються при інфікуванні.

У здорових листків ЕП базальної частини була істотно вищою порівняно з центральною і верхньою. У перші 2 тижні після інфікування це співвідношення ще зберіглося, але після появи симптомів ураження воно суттєво змінювалося. Різниця між показниками ЕП у різних частинах листка ставала незначною. Установлено, що як найбільш значиме, зниження ЕП у наймолодшій (базальній) частині листової пластинки інфікованих листків, яке корелює з локалізацією АГ, може бути тестовим показником для попереднього виявлення вірусної інфекції.

Одночасно з електрометричними дослідженнями проводили ідентифікацію вірусного АГ методом ІФА. В інфікованих рослинах вірус виявлявся лише на 12–14-у добу залежно від сорту, ярусу та ділянки листової пластинки.

Для визначення ступеня толерантності різних злакових до ураження вірусом нами застосовано кореляційний аналіз. При детальному аналізі розвитку інфекційного процесу виявлено пряму залежність (коефіцієнт кореляції $r = 0,81$) між зміною ЕП на 5-у добу після інфікування та показниками відносної оптичної густини в ІФА зразків інфікованих рослин на 16-у добу.

Вважаємо, що зміна ЕП тканин, яка корелює з кількістю патогену, можливо, зумовлена порушеннями цілісності клітинних стінок рослин-хазяїв під впливом вірусної інфекції в чутливих генотипів і захисними реакціями, що розвиваються у відповідь на біотичний стрес у толерантних сортів. Це узгоджується також з роботами [5, 6].

За інтенсивністю зміни ЕП і кількістю вірусного АГ, що виявлявся в ІФА, досліджувані зернові культури розмістилися в такому порядку: пшениці Миронівська-67 > Миронівська-65 > Колективна-3 > Одеська-167 > вівси Таращанський > Скакун > ячмені Таращанський > Рось. Можна вважати, що толерантність досліджуваних культур і сортів до вірусної інфекції в наведеному ряду зростає. Це підтверджується також спостереженнями за розвитком візуальних симптомів захворювання та попереднім досвідом.

Висновки. При використанні методу визначення ЕП тканин інфікованих рослин зміни, які асоціюються із стресовим станом, реєструються вже на 5-у добу після інфікування, тоді як вірусний АГ і візуальні симптоми інфекції виявляються лише на 12–14-у добу.

Існування прямої залежності між зміною ЕП тканин інфікованих рослин на ранніх етапах та їхньою ураженістю на більш пізніх етапах інфікування дає змогу попередньо оцінювати чутливість нових генотипів до вірусної інфекції в контрольованих умовах.

Чутливий, експресний і бездеградаційний метод визначення ЕП, що дозволяє отримувати статистично достовірні результати швидко та одночасно в різних точках тканин і органів живої рослини, буде ефективним також при дослідженні транспорту вірусної інфекції.

Знайдена залежність між зміною ЕП і накопиченням вірусу в тканинах наймолодшої (базальної) частини листової пластинки дозволяє рекомендувати цей метод у комплексі з ІФА для попередньої оцінки інфікованості тканин зернових культур під час моніторингових обстежень.

1. Fensom D.S. // Canadian J. Plant Science. – 1986. – Vol. 46, № 2. – P. 169–173. 2. Тороп В.В. Проблеми моніторингу в садівництві. – К., 2003. – С. 145–154. 3. Кларксон Д. Транспорт іонів і структура растительной клетки. – М., 1978. 4. Wright K.M. Duncan G.H. et al. // Plant Physiology. – 2000. – Vol. 123. P. 1375–1385. 5. Колесник Л.В. // Физиология растений. – 1991. – Т. 38, вып. 5. – С. 1005–10013. 6. Колесник Л.В., Щербатенко І.С. // Доп. НАН України. – 2003. – № 1. – С. 161–166. 7.

Мищенко Л.Т., Бойко А.Л. // Доп. НАН України. – 2004. – № 2. – С. 176–180. 8. Юхименко А.І., Гірко В.С. // Вісн. Київ. ун-ту. Біологія. – 2001. – Вип. 35. – С. 23 – 25. 9. Гнутова Р. В. Серология и иммунохимия вирусов растений. – М., 1993. 10. Антитела. Методы / Под ред. Д. Кэтти. – М., 1991. – Кн. 1.

Надійшла до редколегії 27.09.04

УДК 612.017:796.072.2

С.М. Футорний, канд. мед. наук, В.К. Позур, д-р біол. наук,
М.Ю. Макачук, д-р біол. наук

ВПЛИВ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ НА ГУМОРАЛЬНУ ІМУННУ ВІДПОВІДЬ

Узагальнено дані наукової літератури про вплив стресових факторів (інтенсивні фізичні навантаження) на стан гуморального імунітету.

In clause are generalized given of the scientific literature on influence of the stressful factors (intensive physical loadings) on condition of humoral immunity.

Широке застосування засобів і методів фізичної культури, залучення у фізкультурний і спортивний рух населення різного віку, недостатність фізичної активності, яка пов'язана з малорухомих способом життя людей, особливостями їхньої професійної діяльності, рівнем комунальних і транспортних послуг, який постійно підвищується, неминує веде до зменшення витрат фізичної сили. Це, у свою чергу, вимагає невідкладного вирішення ряду основних питань. Зокрема слід з'ясувати, які механізми забезпечують сприятливий вплив фізичних вправ на організм; яким мусить бути оптимальний рівень фізичної активності, необхідний для поліпшення здоров'я і профілактики захворювань серцево-судинної та інших систем; як усебічно й об'єктивно оцінити ефективність занять фізичними вправами з метою своєчасної їхньої корекції. Кожне з цих питань само по собі є багатоглядним, і всі ці аспекти можуть бути висвітлені лише при всебічному вивченні кожного з названих питань представниками різних медико-біологічних спеціальностей. Проте основним інтегральним показником, який може служити критерієм до вирішення кожного з цих питань, є оцінка ступінь адаптації організму до фізичних навантажень [1].

Заняття фізичними вправами викликають в організмі цілий комплекс фізіологічних і біохімічних змін, серед яких провідну роль відіграють зрушення імунологічної реактивності організму. Дослідження останніх років у галузі імунології показали, що імунна система не тільки визначає стійкість до інфекційних агентів, але й забезпечує імунологічний нагляд задля підтримки внутрішнього гомеостазу. При систематичному впливі фізичних факторів саме імунна система бере участь насамперед у формуванні адаптаційних реакцій у відповідь на ці впливи. У разі порушення імунного гомеостазу сумація тренувальних навантажень може призвести до перетренованості, перенапруги, що, у свою чергу, зумовлює розвиток передпатологічних станів, зниження резистентності організму до впливу факторів зовнішнього і внутрішнього середовища [2, 3].

Щодо впливу спортивних навантажень на імунітет досі немає єдиної думки. Ще А. Eberhardt A. [4] указував, що заняття фізичною культурою і спортом позитивно діють на організм, сприяють зниженню захворюваності, збільшують тривалість життя, поліпшують показники природного імунітету.

Однак роботи останніх десятиліть поступово змінюють цей погляд [5–7, 3]. Фізичні навантаження в сучасному спорті за останні 20–30 років зросли приблизно в 4–5 разів і є межевими для організму здорової людини. Ріст навантажень у спортсменів, зумовлений збільшенням обсягу тренувань, кількості змагань, усе частіше став поєднуватися з порушеннями функцій центральної

нервової системи і системи імунітету. Саме зі спортом пов'язана крайня форма імунodefіcиту, за якої виявлялося неможливим тестування окремих класів імунoglobulinів. Існує загальноприйнята думка, що загальна результативність спортсмена визначається його функціональним станом, рівнем мотивації та силою емоційного реагування, проте останніми роками все більш зрозумілим стає і те, що успіх будь-якого спортсмена визначає ще й стан його імунної системи.

Найвніше протиріччя даних наукової літератури щодо ролі імунної системи у спортивній діяльності пов'язане передусім з різними методичними підходами до вивчення даної проблеми, оскільки більшість досліджень проводилося на спортсменах різних за віком, спортивною кваліфікацією і спеціалізацією, стажем тренувань, інтенсивністю і тривалістю фізичних навантажень тощо [8, 9, 3].

Разом з тим динаміка показників гуморального і клітинного імунітету при фізичних навантаженнях різної інтенсивності та спрямованості в осіб, що займаються фізичною культурою і спортом, свідчить про виражений вплив таких навантажень на імунну систему. При цьому відзначається дозозалежний ефект: максимальні фізичні навантаження пригнічують імунну систему, адекватні, адаптогенні – нормалізують і стимулюють її [10, 11]. Існує також зворотна залежність: порушення діяльності імунної системи (імунологічна недостатність, в якій би формі вона не виявлялася) може виявитися одним з провідних чинників, які лімітують фізичну працездатність. Виходячи з цього, науковий і практичний інтерес для дослідників становлять визначення за допомогою імунологічних методів діапазону і режимів фізичних навантажень, які мають тренувальний, оздоровчий ефект, і рання діагностика симптомів перевантаження, стомлення, а також оцінка повноти відновлення.

Установлено, що зі зниженням імунологічної реактивності відповідно змінюються і гормональні показники, які відображають динаміку механізмів ендокринної регуляції адаптації організму спортсмена. Розглядаючи цей процес у плані загального адаптаційного синдрому, деякі автори [12] припускають, що організм спортсмена в період найвищої тренуваності перебуває в стадії резистентності, для якої характерним є підвищення опірності організму до стресору (у даному випадку – до тренувальних і змагальних навантажень) і зниження її стосовно інших факторів, наприклад, до інфекційних чи простудних захворювань.

Дослідженнями [13, 14] факторів неспецифічного захисту в підлітків, що піддавалися періодично помірним фізичним навантаженням під час занять фізичною культурою і спортом у спортивних гуртках, не було виявлено скільки-небудь значимих змін гуморальних показників порівняно з контрольною групою. У той же час у підлітків