

Ю.М. ТАРАНУХО, кандидат біологічних наук
Національний університет біоресурсів і природокористування України

М.П. ТАРАНУХО, О.І. КИТАЄВ, кандидати біологічних наук,
В.А. КРИВОШАПКА, кандидат сільськогосподарських наук
Інститут садівництва НААН України

ЖОВТА ПЛЯМИСТІСТЬ МАЛИНИ

На насадженнях ягідних культур виявлено жовту плямистість малини, встановлено розміри вірусних часток збудника. Досліджено вплив вірусу жовтої плямистості малини на біохімічний склад плодів, вміст хлорофілу в листках і стан фотосинтетичного апарату рослин.

вірус жовтої плямистості малини, малина, біохімічний склад, хлорофіл, фотосинтетичний апарат, індукція флуоресценції

Малина є надзвичайно корисною ягідною культурою і користується значним попитом не тільки в Європі, але й у всьому світі. Експорт садивного матеріалу та врожаю цієї рослини — економічно важливий для багатьох країн. Проте дана культура зазнає великої шкоди від шкідників і збудників хвороб, серед яких великого поширення набули віруси. Хронічний характер цих захворювань, вегетативне розмноження малини та відсутність фітосанітарного контролю за її насадженнями зумовлюють накопичення та розповсюдження вірусної інфекції.

На видах *Rubus* описано понад 30 вірусних хвороб, що спричиняють зменшення врожайності, погіршення якості садивного матеріалу. До найпоширеніших захворювань малини відносяться мозаїка, кільцева плямистість, хлороз жилок, кущова карликовість, жовта плямистість тощо. В даній статті наведено результати більш детального вивчення вірусу жовтої плямистості малини та його шкідливого впливу на культуру.

Методика досліджень. Об'єктами досліджень були рослини малини з симптомами жовтої плямистості, взяті з колекційних насаджень дослідного господарства (ДГ) “Новосілки” Інституту садівництва (ІС) НААН України (Київська область). Досліди провадили протягом 2007—2009 рр.

Морфологію вірусних часток вивчали із застосуванням методу електронної мікроскопії ультратонких зрізів [5].

Вміст сухих розчинних речовин у плодах малини визначали реф-

рактометричним методом, цукрів, аскорбінової кислоти і фенольних речовин — спектрофотометричним, а кислотність — титруванням [6].

Хлорофіл із листків екстрагували 96м етиловим спиртом. Їх концентрацію встановлювали за щільністю спиртової витяжки, визначеною з використанням спектроколориметра КФК-3. Кількість пігментів обчислювали за формулою Веттштейна [1].

Вплив вірусної інфекції на стан фотосинтетичного апарату (ФСА) рослин вивчали методом індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ), використовуючи портативний прилад “Флоратест” [4].

Результати досліджень. У колекційних насадженнях малини ДГ “Новосілки” були виявлені кущі з симптомами жовтої плямистості. На листках спостерігали розкидані великі неправильної форми яскраво-жовті плями, які часто зливалися у суцільні ділянки (рис. 1). Збудником жовтої плямистості малини є *Raspberry yellow blotch virus* (вірус жовтої плямистості малини).

Наявність вірусної інфекції підтверджували методом електронної мікроскопії.

Досліджуючи ультратонкі зрізи тканин листків малини з типовими ознаками жовтої плямистості, виявили крупні сферичні вірусні частки, розмір яких в середньому становить $112 \pm 2,82$ нм. Вони локалізуються в основному в цитоплазмі та перинуклеарному просторі (рис. 2).

Важливим показником якості плодів ягідних культур є кислотність, яка в поєднанні з цукристістю і фенолами визначає смакові властивості продукції. З метою визначення шкідливого впливу збудника жовтої плямистості



Рис. 1. Діагностичні ознаки жовтої плямистості на листку малини

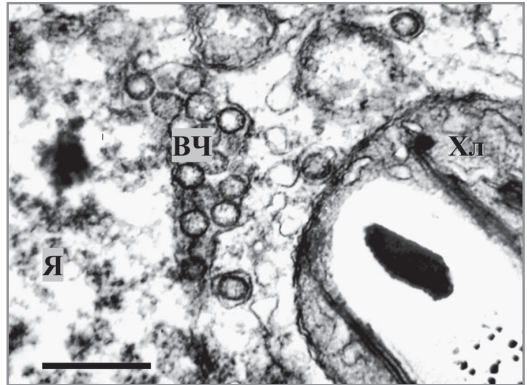


Рис. 2. Сферичні частки вірусу жовтої плямистості малини у перинуклеарному просторі ядра клітин рослини (ВЧ — вірусні частки, Я — ядро, Хл — хлоропласт). Розмір маркера — 500 нм.

малини на якісні показники плодів провадили їх біохімічний аналіз (табл. 1).

1. Біохімічний аналіз плодів малини (сорт Новокітайівська, ІС НААН)

Плоди з рослин	Сухі розчинні речовини, %	Кислотність, %	Загальна кількість цукрів, %	Вміст вітаміну С, мг/100 г	Фенольні речовини, мг/100 г
Здорових	10,03	1,35	5,12	24,28	475,00
Інфікованих	7,50	3,12	3,35	20,44	820,70
НІР ₀₅	0,05	0,04	0,04	0,05	0,07

За одержаними результатами можна зробити висновок, що кислотність інфекційних плодів порівняно з контрольними збільшилася в 2,3 рази, вміст фенольних речовин зріс на 72,8%, а загальна кількість цукрів і вітаміну С зменшилася відповідно на 34,6 і 15,8%. Одержані дані біохімічного аналізу плодів здорових та хворих рослин підтверджують шкідливий вплив вірусу жовтої плямистості малини на хімічний склад врожаю, що значно погіршує його смакові якості й цінність як продукту харчування та сировини для переробних галузей промисловості.

Хлорофіл *a* і *v* — зелені пігменти листків рослини — не тільки визначають його колір, але й беруть безпосередню участь у поглинанні квантів енергії світла, її міграції до реакційних центрів фотосистем хлоропластів та подальшому перетворенні в енергію хімічних зв'язків. Метою досліджу було встановити вплив збудника жовтої плямистості малини на вміст фотосинтетичних пігментів у листках (табл. 2).

Результати наших досліджень свідчать, що в активний період росту малини сумарна кількість хлорофілів (*a*+*b*) в інфікованих листках, одержана з розрахунку на одиницю маси і площі листової пластинки, зменшується відповідно на 22,7 та 30,2% порівняно з контролем. Це свідчить про патологічну дію вірусу жовтої плямистості малини, що проявляється у гальмуванні синтезу хлорофілу і деструкції хлоропластів.

2. Вміст зелених пігментів у листках малини (сорт Новокітайівська, ІС НААН)

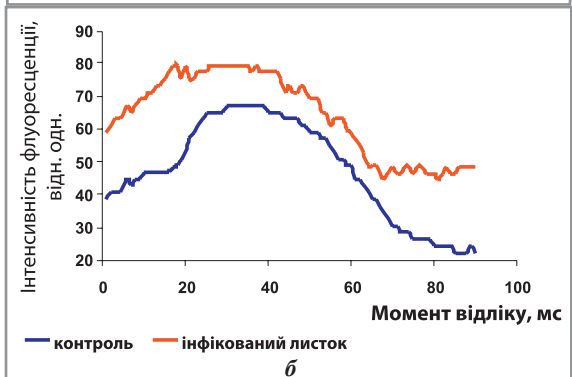
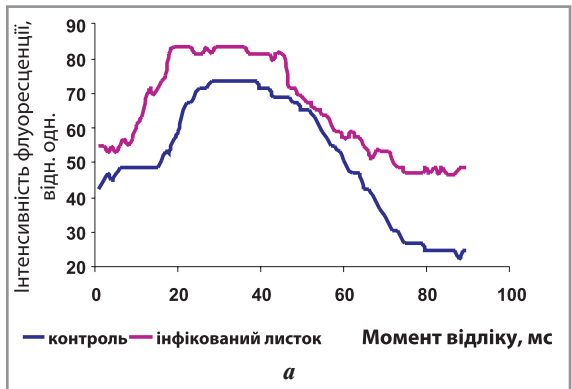
Листки з рослин	Хлорофіл <i>a</i> , мг/г	Хлорофіл <i>b</i> , мг/г	Сума хлорофілів (<i>a</i> + <i>b</i>), мг/г	Хлорофіл <i>a</i> , мг/дм ²	Хлорофіл <i>b</i> , мг/дм ²	Сума хлорофілів (<i>a</i> + <i>b</i>), мг/дм ²	<i>a</i> / <i>b</i>
Здорових	2,67	0,95	3,62	2,78	0,99	3,77	2,8
Інфікованих ВЖПМ	2,04	0,76	2,80	1,91	0,72	2,63	2,6
НІР ₀₅	0,05	0,05	0,09	0,06	0,05	0,09	—

тів. Вміст хлорофілу a , виражений на одиницю маси і площі листкової поверхні, у хворих листках був нижчим відповідно на 23,6 і 31,3%, ніж показниками концентрації хлорофілу b — 20,0 і 27,3%.

Аналіз співвідношення хлорофілів a/b у хлоропластах листків рослини показав, що вірус жовтої плямистості малини зумовлює зниження його величини на 7,1%. У літературі дані стосовно цього показника розрізнені і суперечливі. Результати наших досліджень узгоджуються з думкою В.З. Улинець [8], О.О. Дьячкової [2], Л.А. Єфремової [3] та Л.Т. Міщенко [7] про те, що вірусна інфекція спричиняє зниження співвідношення хлорофілів a/b у фотосинтетичних мембранах.

Вплив вірусної інфекції на стан ФСА рослин вивчали методом індукції флуоресценції хлорофілу. Інтенсивність флуоресценції хлорофілу залежить від стану ФСА рослин і може змінюватись у значних межах, що особливо проявляється при освітленні листкової пластинки, попередньо адаптованої до темряви. Це явище було відкрито Каутським і носить назву “ефект Каутського” або ІФХ. Згідно з гіпотезою Дюйзенса та Свірса, інтенсивність флуоресценції хлорофілу залежить від окислювально-відновлювального стану первинного акцептора електронів (Q_a) фотосистеми 2 (ФС₂) [4].

Вплив вірусу жовтої плямистості малини на функціональний стан рослини визначали за допомогою портативного приладу “Флоратест”, аналізуючи зміни інтенсивності флуоресценції хлорофілу ($\lambda_{\max} = 680$ нм) у листках у часі за їх опромінення синім



Графік 1. Індукційні зміни флуоресценції хлорофілу листків малини сорту Новокітайська під впливом вірусу жовтої плямистості: а) до цвітіння; б) після цвітіння

світлом ($\lambda_{\max} = 460$ нм). Вказаний прилад дає змогу реєструвати індукційну криву флуоресценції (“криву Каутського”), за параметрами якої можна з’ясувати перебіг процесів світлової і темної фаз фотосинтезу.

Встановлено, що показники індукційних змін флуоресценції хлорофілу, які відображають процеси перетворення енергії на початкових етапах фотосинтезу, відрізняються у здорових та уражених рослин (графік 1).

Під дією вірусної інфекції фоновий рівень флуоресценції F_0 зріс порівняно з контролем до і після цвітіння відповідно на 27,7 і 52,8%, максимальне значення флуоресценції (F_p) — на 14,1 і 18,4%, а її стаціонарний рівень F_t — більш ніж у 2,2 раза. Такі зміни в індукції флуоресценції зумовлені збільшенням кількості неактивного хлорофілу, який не передає енергію збудження реакційним центрам ФС2. Вони супроводжуються зростанням “інтеграла індукційних втрат”, тобто збільшенням кількості енергії, що не використовується у процесі фотосинтезу і висвічується за повільних фаз індукції Каутського.

Серед параметрів ІФХ найбільш виразно характеризує вплив вірусної інфекції, а саме її патологічну дію на функціональний стан рослин, коефіцієнт плато $K_{pl} = (F_{pl} - F_0) / (F_p - F_0) = dF_{pl} / F_p$, де $dF_{pl} = F_{pl} - F_0$ — амплітуда плато флуоресценції, F_{pl} — тимчасове сповільнення флуоресценції; $F_v = F_p - F_0$ — варіабельна флуоресценція. Значення K_{pl} збільшується до і після цвітіння відповідно в 2,9 і 2,7 раза порівняно з контролем.

Коефіцієнт індукції флуоресценції $K_j = (F_p - F_t) / F_p$, який характеризує ефективність перебігу темнових фотосинтетичних процесів і, передусім, активності рибульозобіфосфаткарбоксілази (основний фермент циклу Кальвіна), порівняно з контролем зменшується на 37,3—41,8%, що свідчить про істотне інгібування фотофізичних і фотохімічних процесів фотосинтезу.

ВИСНОВКИ

У результаті обстеження колекційних насаджень ягідних культур виявлено жовту плямистість малини. У тканинах уражених листків рослини виявлено ізометричні частки розміром $112 \pm 2,82$ нм. Встановлено вплив вірусу жовтої плямистості малини на хімічний склад плодів культури: кислотність плодів збільшилася в 2,3 раза, вміст фенольних речовин зріс на 72,8%, загальна кількість цукрів і вітаміну С зменшилася відповідно на 34,6 і 15,8%. Вірусна інфекція спричинила зменшення кількості хлорофілу в листках малини на 22,7 та 30,2% порівняно з контролем. Методом аналізу індукційних змін флуоресценції хлорофілу досліджували стан ФСА інфікованих рослин. Коефіцієнт плато K_{pl} порівняно з контролем збільшується до і після цвітіння відповідно в 2,9 і 2,7 раза, коефіцієнт індукції флуоресценції хлорофілу — зменшується на 37,3—41,8%, що свідчить про істотне інгібування фотофізичних і фотохімічних процесів фотосинтезу.

БІБЛІОГРАФІЧНИЙ СПИСОК

1. Гродзинский А.М., Гордзинский Д.М. Краткий справочник по физиологии растений. — К.: Наукова думка, 1972. — 592 с.
2. Дьячкова О.О. Физиологические реакции перцю (*Capsicum annuum* L.) на вирусную реакцию: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.12 “Физиология растений”. — К., 2003. — 17 с.
3. Ефремова Л.А. Влияние селективного света на морфогенез и гормональный баланс кукурузы, инфицированной мозаичным вирусом карликовости: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук: спец. 03.00.05 “Ботаника”, 03.00.12 “Физиология и биохимия растений”. — Томск, 2003. — 11 с.
4. *Інструментальне вивчення фотосинтетичного апарату за допомогою флуоресценції хлорофілу. Методичні вказівки для студентів біол. фак-ту /* Брайон О.В., Корнев Д.Ю., Снегур О.О., Китаев О.І. — К.: Видав-поліг. центр «Київський університет», 2000. — 13 с.
5. Каруну В.Я. Электронная микроскопия. — К.: Вища школа, 1984. — 208 с.
6. Кондратенко П.В. Методика оцінки якості плодово-ягідної продукції / П.В. Кондратенко, Л.М. Шевчук, Л.М. Левчук. — К.: Інститут садівництва УААН, 2008. — 80 с.
7. Міщенко Л.Т. Смугаста мозаїка пшениці (Wheat streak mosaic virus) в природних умовах і в трансформованому середовищі: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. біол. наук: спец. 03.00.06 “Вірусологія” / Л.Т. Міщенко. — К., 2004. — 40 с.
8. Улинець В.З. Вплив вірусної інфекції на спектральні характеристики фотосинтетичного апарату рослин родини *Solanaceae*: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.06 “Вірусологія”. — К., 2002. — 22 с.

Таранухо Ю.Н., Таранухо Н.П., Китаев О.И., Крывошапка В.А.
Жёлтая пятнистость малины

В насаждениях ягодных культур обнаружена жёлтая пятнистость малины, установлены размеры вирусных частичек возбудителя. Изучено влияние вируса жёлтой пятнистости малины на биохимический состав плодов, содержание хлорофилла в листьях и состояние фотосинтетического аппарата растений.

Taranukho J.M., Taranukho M.P., Kitayev O.I., Kryvoshaпка V.A.
Raspberry yellow spot

The authors have detected Raspberry yellow blotch virus among Rubus and they have determined of vision's sizes. The effect of Raspberry yellow blotch virus on the biochemical composition of berries, the chlorophyll content in leaves and state of the plants photosystem was considered.