

Л. В. Юзвенко, О. Б. Серденко, Л. Ф. Діденко, Л. Д. Варбанець,
В. К. Шевчук, член-кореспондент НАН України М. Я. Співак

Фізико-хімічні властивості вірусу опіку гречки

Вірус опіку гречки (ВОГ) за морфологічними ознаками належить до родини Rhabdoviridae. Віріони ВОГ мають бацилоподібну форму і розміри 230–270 × 75–90 нм. Він містить структурні білки з молекулярними масами 126, 70, 48, 34, 24 кДа. У складі ВОГ ідентифіковані жирні кислоти: пальмітинова, транс-олеїнова, цис-олеїнова, гідроксиміристинова та міристинова, а також вуглеводи: маноза, арабіноза, рибоза, ксилоза, рамноза, галактозамін.

На полях гречки в Хмельницькій області виявлено вірусне захворювання, яке завдає значних збитків цій цінній культурі, знижуючи врожай до 80%. Первинні ознаки захворювання виявляються в значному зближенні міжвузлів, потовщенні вузлів, утворенні недорозвинутих пагонів, що призводить до обмеження росту і карликовості рослин. На новоутворених зменшених листках з'являються некротичні плями, які поширюються по всій листовій пластинці. У результаті листки засихають і рослини здаються опаленими. Симптоми хвороби і визначили її назву — вірусний опік гречки. До кінця вегетації рослини залишаються низькорослими з недорозвинутими генеративними органами, що призводить до значної втрати врожаю.

Мета нашого дослідження полягала у визначенні морфології та складу вірусу опіку гречки (ВОГ) та його фізико-хімічних властивостей.

Для ідентифікації збудника опіку гречки вірусні частинки в соку хворих рослин контрастували фосфорновольфрамовою кислотою і досліджували в електронному мікроскопі JEM-1200 EX. У результаті проведених електронно-мікроскопічних досліджень був виявлений бацилоподібний вірус розміром 230–270 × 75–90 нм (рис. 1). За своєю морфологією вірус може бути віднесений до родини Rhabdoviridae. Для більш точного визначення ві-

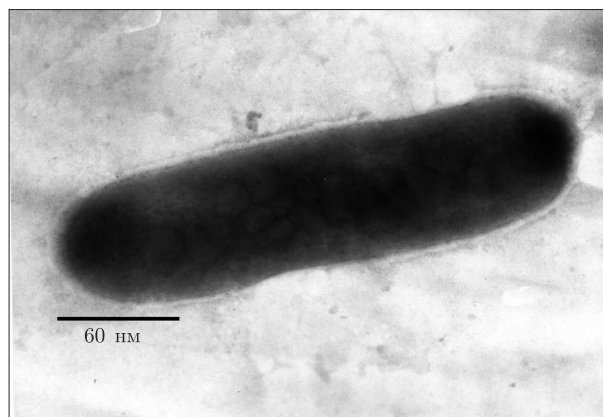


Рис. 1. Вірус опіку гречки, розміри якого становлять 230–270 × 75–90 нм

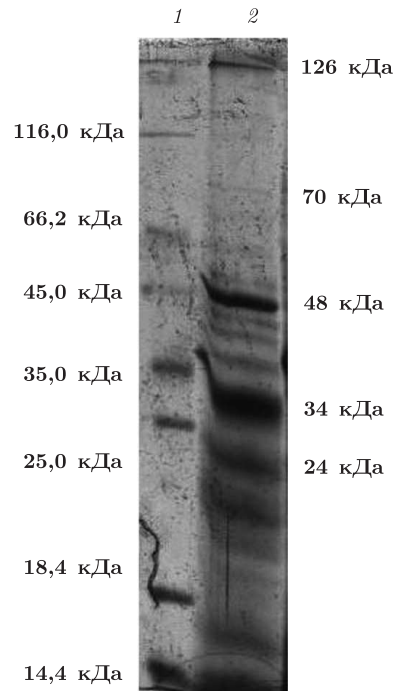


Рис. 2. Електрофорез білків ВОГ: 1 — маркери; 2 — препарат ВОГ

рису досліджували його структурні компоненти. Для цього очищений вірусний препарат одержували з використанням ПЕГ-6000 та диференційного центрифугування в сахарозному градієнті [1].

Спектрофотометричний аналіз вірусного препарату показав, що спектр поглинання в ультрафіолетових променях є максимальним за довжини хвилі 260 нм і має дещо згладжений мінімум за довжини хвилі 245 нм, що може свідчити про наявність вуглеводів у вірусних препаратах.

Відомо, що для рабдовірусів характерна бацилоподібна або кулеподібна форма. Вони мають п'ять структурних білків та містять ліпіди та вуглеводи [2]. Тобто вірусний генوم кодує п'ять основних білків, що містяться у віріоні і кожен з яких виконує певні важливі функції.

За даними електрофоретичного аналізу в поліакриламідному гелі [3], молекулярні маси структурних вірусних білків становлять 126, 70, 48, 34, 24 кДа (рис. 2). За деякими літературними джерелами класифікація білків є такою: G (65–90 кДа) — глікопротеїн, розташований на поверхні віріону; M1 (27–44 кДа) і M2 (22–25 кДа) — мембранні білки, які заповнюють простір між нуклеокапсидом та ліпідною оболонкою; N (47–62 кДа) — структурний білок, що формує чохол, в якому міститься геномна РНК; Р (40–50 кДа) та L (150–190 кДа) — нуклеокапсидні білки, які мають транскриптазну активність [4].

У подальших експериментах були вивчені інші структурні компоненти ВОГ — вуглеводи та ліпіди.

Як відомо [5], поверхневий білок рабдовірусів є глікозильованим, що визначає його основні функції: перш за все він бере участь на ранніх етапах взаємодії вірусу з клітиною і забезпечує транспорт і субклітинну локалізацію вірусних частинок, формує і підтримує необхідні для прояву імунологічних властивостей конформації глікопротеїнів та захищає

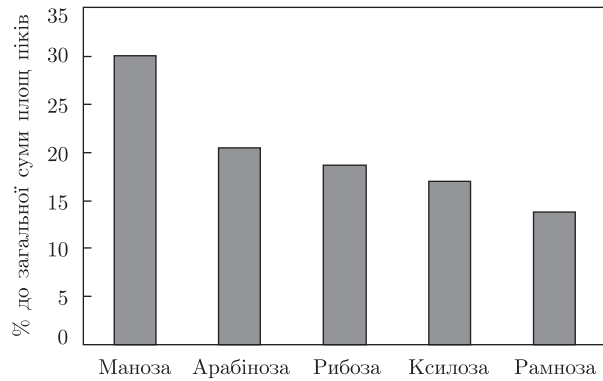


Рис. 3. Моносахаридний склад ВОГ

поліпептидний ланцюг глікопротеїнів від неспецифічного розщеплення протеїназами клітини [5].

Таким чином, вуглеводний структурний компонент рабдовірусів відіграє значну роль на певних етапах їх репродукції. У зв'язку з цим становить інтерес вивчення його моносахаридного складу, вміст якого сягає 3% сухої маси вірусної частинки і який виконує важливу функціональну роль в експресії вірусного геному.

Ідентифікацію нейтральних моносахаридів визначали на хромато-маспектрометричному приладі “Agilent 6890N/5973 inert” (США), гексазамінів — на аналізаторі амінокислот КЛА (“Hitachi”, Японія).

Аналіз моносахаридного складу показав, що у збудника вірусного опіку гречки як домінуючі присутні: маноза 30%, арабіноза 20,5%, рибоза 18,7%, ксилоза 17%, рамноза 13,8% (рис. 3) (у відсотках до загальної суми площ піків). Значний вміст рибози (18,7%), вірогідно, пояснюється наявністю нуклеїнової кислоти. Поряд з моносахарами виявлено також аміносахар — галактозамін.

Порівняння моносахаридного складу фіторабдовірусів ВОГ із вірусом плямистості айру (ВПА) [9], вірусом кучерявої карликовості картоплі (ВККК) [1] і зоопатогенним рабдовірусом — вірусом везикулярного стоматиту (ВВС) [9] виявило у всіх випадках присутність манози, але привертає увагу факт відсутності галактози у складі оболонки ВОГ на відміну від ВПА, ВККК і ВВС.

Фіторабдовіруси в своїй структурі також містять 20–35% ліпідів, які, як і вуглеводи, детерміновані клітинним геномом. Ліпіди формують бішарову оболонку віріонів. Будова оболонки є схожою до клітинної мембрани [6], коли гідрофобні ділянки сховані до середини, а гідрофільні виступають назовні. Ліпопротеїнова оболонка вірусів виконує різні функції, а саме відіграє важливу роль у захисті та забезпеченні максимальної інфекційності, тому що інфекційні властивості нуклеокапсиду, який не містить оболонки, значно знижені [7].

Отже, ліпіди є невід'ємними складовими компонентами структури рабдовірусів і впливають на розвиток вірусної інфекції. Виходячи з цього, становить значний інтерес дослідити жирнокислотний склад ліпідної оболонки ВОГ. Для визначення якісного і кількісного складу жирних кислот ВОГ аналіз метилових ефірів жирних кислот проводили на хромато-маспектрометричній системі “Agilent 6890N/5973 inert” (США) [8]. Обробку результатів проводили за допомогою персонального комп'ютера і стандартної суміші метилових ефірів жирних кислот (“Serva”, США).

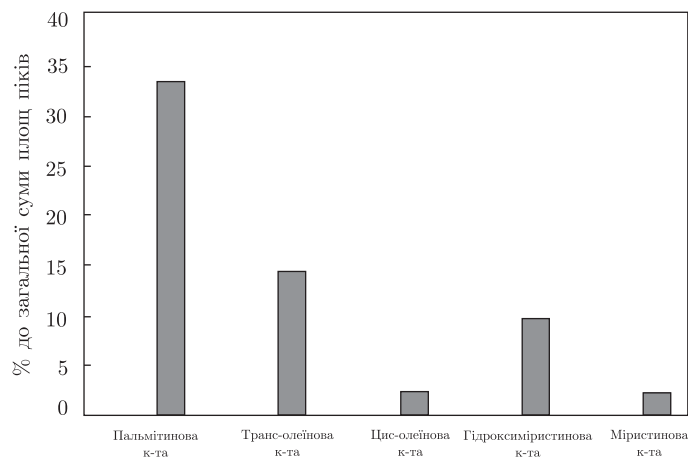


Рис. 4. Жирнокислотний склад ВОГ

За даними досліджень встановлено, що домінуючою жирною кислотою ВОГ є пальмітинова (33,5%). У значній кількості присутня транс-олеїнова кислота (14,4%), у меншій кількості виявлені цис-олеїнова (2,4%), гідроксиміристинова (9,7%) і міристинова (2,2%) кислоти (рис. 4). Зазначимо, що присутність пальмітинової кислоти є характерною ознакою для представників родини Rhabdoviridae. Вона виявлена в значній кількості як у фітопатогенних вірусів (ВПА, ВККК, вірус жовтої сітчастості осоту (ВЖСО) [10], вірус жовтої карликовості картоплі (ВЖКК) [11]), так і зоопатогенних рабдовірусів [12], хоча ці представники відрізняються за кількісним і якісним складом деяких жирних кислот.

Отже, збудник вірусного опіку гречки за своєю морфологією, складом білків, ліпідів, вуглеводів належить до родини Rhabdoviridae. Вивчення його структурних компонентів дозволить наблизитись до детального дослідження механізмів репродукції ВОГ — особливо шкідливого патогену для цінної круп'яної культури роду *Fagopyrum* — гречки.

1. Диденко Л. Ф., Пархоменко Н. И., Максименко Л. А., Дяченко И. С., Зарицкий Н. М., Варбанец Л. Д., Броварская О. С. Некоторые свойства структурных компонентов фиторабдовируса курчавой карликовости картофеля // Биополимеры и клетка. – 2001. – № 4. – С. 308–313.
2. Murphy F. A., Fauquet C. M., Bishop D. H. L. et al. Virus taxonomy classification and nomenclature of viruses. Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of viruses // Arch. Virol. – 1995. – Supl. 10. – P. 275–288.
3. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. – 1970. – **227**, No 5259. – P. 680–685.
4. Wagner R. R., Prevec L., Brown F. et al. Classification of rhabdovirus proteins; a proposal // Virology. – 1972. – **10**. – P. 1228–1230.
5. Деревицкая В. А. Гликопротеины РНК-содержащих оболочечных вирусов // Биоорган. химия. – 1983. – **9**, № 5. – С. 581–615.
6. McCreedy B. J. Jr., Lyles D. S. Distribution of M protein and nucleocapsid protein of vesicular stomatitis virus in infected cell plasma membranes // Virus Res. – 1989. – **14**. – P. 189–205.
7. Francki R. J., Randles J. W. Rhabdoviruses infecting plants // Rhabdoviruses / Ed. by D. H. L. Bishop. – Florida CRC Press, 1980. – Vol. 3. – P. 135–165.
8. Васюренко З. П., Чернявская Э. Н., Опенько Л. В. Особенности состава жирных кислот липидов у *Providencia alcalifaciens* и *Providencia stuarti* // Микробиология. – 1982. – **51**, № 1. – С. 54–59.
9. Мандріка Т. Ю., Серденко О. Б., Діденко Л. Ф., Варбанець Л. Д., Броварська О. С., Васильев В. М., Співак М. Я. Характеристика бациловидного вірусу плямистості айру // Мікробіол. журн. – 2007. – № 5. – С. 49–58.

10. *Selstam E., Jackson A. O.* Lipid composition of sonchus yellow net virus // J. Gen. Virol. – 1983. – **64**. – P. 1607–1613.
11. *Ahmed M. E., Black L. M., Perkins E. G. et al.* Lipid in potato yellow dwarf virus // Biochem. and Biophys. Res. Commun. – 1964. – **17**. – P. 107.
12. *Blough H. A., Tiffany J. M.* Lipids in viruses // Adv. Lipid Res. – 1973. – **11**. – P. 267–339.

Інститут мікробіології і вірусології
ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ
Подільський державний аграрно-технічний університет,
Кам'янець-Подільський

Надійшло до редакції 18.06.2009

**L. V. Yuzvenko, O. B. Serdenko, L. F. Didenko, L. D. Varbanets,
V. K. Shevchuk**, Corresponding Member of the NAS of Ukraine **M. Ya. Spivak**

Physical and chemical properties of the burn virus buckwheat

The burn virus of buckwheat (BVB) behind morphological indicators belongs to family Rhabdoviridae. Virions of BVB have a bacillus-like form and dimensions 230–270 × 75–90 nm. It contains structural proteins with molecular weights of 126, 70, 48, 34, and 24 kDa. In the virion structure, the fatty acids (palmitic, trans-oleic, cis-oleic, hydroxymyristinic, and myristinic) and carbohydrates (mannose, arabinose, ribose, xylose, rhamnose, galactosamine) have been identified.