

ВПЛИВ ВІРУСІВ РОДИНИ *POTYVIRIDAE* НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН І АКТИВНІСТЬ ФОТОСИНТЕТИЧНОГО АПАРАТУ БОБОВИХ

А.М. Кириченко¹, К.В. Гринчук², І.О. Антіпов²

¹ Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

² Національний університет біоресурсів і природокористування України

Досліджено вплив вірусної інфекції на функціональний стан і активність фотосинтетичного апарату рослин, а також на метаболізм фотосинтетичних пігментів у динаміці розвитку вірусної інфекції. У рослинах бобів під дією вірусу звичайної мозаїки квасолі кількість хлорофілу, що не бере участі у фотосинтетичному перенесенні енергії на реакційні центри, зростає у 1,4–2, а зниження квантової ефективності ФС II — у 2–3 рази порівняно з контролем. У динаміці розвитку вірусної інфекції в інфікованих вірусом жовтої мозаїки квасолі рослинах спостерігається істотне зниження вмісту хлорофілу Chl a, b і каротиноїдів — на 64, 53 та 36% відповідно. Значення ключових параметрів індикації флуоресценції хлорофілу свідчать про істотне інгібування фотофізичних і фотохімічних процесів фотосинтезу та порушення злагодженості реакцій циклу Кальвіна. Метод флуоресценції хлорофілу може бути використаний для швидкого скринінгу процесів фотосинтезу і надасть змогу оцінити фізіологічний стан рослин за вірусного ураження.

Ключові слова: хлорофіл, каротиноїди, флуоресценція хлорофілу, вірус жовтої мозаїки квасолі, вірус звичайної мозаїки квасолі.

Найпоширенішими симптомами вірусного ураження, що свідчать про деструктивний вплив вірусної інфекції на фотосинтетичний апарат інфікованої рослини, є мозаїка та хлороз листків. Зміни функціональної активності фотосинтетичного апарату позначаються безпосередньо на ефективності фотосинтетичних процесів і, відповідно, на продуктивності культурних рослин. Порушення стану фотосинтетичних мембран під впливом зовнішніх чинників супроводжується відповідною зміною оптичних властивостей хлорофілу (Chl) а фотосистеми II (ФС II). Оскільки флуоресценція хлорофілу є протилежним фотосинтетичній асиміляції вуглецю процесом, дослідження змін вмісту фотосинтетичних пігментів та відповідних параметрів флуоресценції хлорофілу можуть бути використані під час аналізу стану і активності фотосинтетичного апарату за дії вірусної інфекції.

Вивчення впливу вірусної інфекції на фотосинтетичний апарат ураженої росли-

ни розпочалось ще на початку минулого століття. Модифікації фотосинтезу дослідниками вважались загальною і консервативною стратегією вірусного патогенезу, а порушення компонентів та функцій хлоропластів — чинником виникнення хлорозів [1]. Дослідженню процесів функціонування хлоропластів приділяється дедалі більше уваги, а кількість наукових робіт щодо взаємодії різних чинників хлоропластів з вірусними компонентами щорічно зростає. Висвітлено, що ці чинники беруть участь у реплікації вірусів, їх транспортуванні, виникненні симптомів та функціонуванні захисних реакцій [2]. Результати нещодавніх досліджень, проведених з використанням протеомних і транскриптомних підходів, свідчать про патологічний вплив вірусної інфекції, насамперед на експресію генів, що обумовлено дією хлоропластів або процесом фотосинтезу (chloroplast-, photosynthesis-related genes, CPRGs) [3]. Віруси викликають структурні та функціональні пошкодження хлоропластів шляхом селективного пригнічення експресії генів [4], знижують рівень експресії білків

хлоропластів, порушуючи ефективність фотосинтезу [5], спричиняють набрякання хлоропластів, накопичення крохмалу і пластоглобуліну, а також дезінтеграцію гран тилакоїдів [4, 6]. Природним результатом таких взаємозалежностей між вірусами і живителями є пошкодження ультраструктури та/або функції хлоропластів. Загалом, результати останніх наукових досліджень свідчать про існування унікального взаємозв'язку між хлоропластами та вірусами, що утворився у процесі їх коеволуції.

Незважаючи на доволі ґрунтовні знання щодо впливу вірусної інфекції на рослинний організм, загальні механізми, що призводять до змін метаболізму і розвитку симптомів хвороби, залишаються маловивченими. Метою роботи було дослідження впливу вірусів родини *Potyviridae*, зокрема, вірусу звичайної мозаїки квасолі (ВЗМК) та вірусу жовтої мозаїки квасолі (ВЖМК) на функціональний стан і активність фотосинтетичного апарату, а також на вміст фотосинтетичних пігментів у динаміці розвитку вірусної інфекції.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Були вивчені критичні параметри індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ), які відображають вплив вірусної інфекції на функціональні ланки ФС II, а також зміни вмісту Chl *a*, Chl *b* та каротиноїдів у листках рослин сої за вірусного ураження. Дослідження патологічного впливу вірусної інфекції на фотосинтетичний апарат і метаболізм фотосинтетичних пігментів проводили на рослинах *Vicia faba* L. та *Glicine max* Merr. Рослини були вирощені у весняно-літній період в умовах вегетаційного будиночка. Інфікування рослин здійснювали вірусомісним екстрактом механічно за допомогою скляного шпателя. Для приготування інюкулюму інфіковане листя з системно інфікованих рослин подрібнювали в 0,01 М-фосфатному буфері (1:10, г / мл), рН = 7,2; екстракт втирали у попередньо опудрені карборундом листки. Контрольні рослини були оброблені у такий самий спосіб буфером.

Ідентифікацію вірусів здійснювали методом полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР). Сумарну РНК виділяли з використанням спеціального комерційного набору «РИБО-Сорб» (AmpliSens, Росія). Реакцію зворотної транскрипції визначали за допомогою комерційного набору «Реверта-L-100» (AmpliSens, Росія) згідно з протоколом виробника. У роботі використовували праймери, які дають змогу ідентифікувати фрагмент нуклеотидної послідовності, що кодує ген білка оболонки ВЗМК з нуклеотидними послідовностями, як-от: прямий праймер 5'-tgttggtacaatgtgtgaagg-3' та зворотний 5'-gccttcatctgtgetactgct-3'; розмір продукту ампліфікації становив 391 п. н. [7]. Для діагностики ВЖМК використовували праймери ВУМV1f, ВУМV2g [8]. Синтез праймерів на наше замовлення виконано ТОВ «Біолабтех ЛТД» (Київ, Україна). Як контроль під час здійснення ідентифікації вірусу використовували інфіковані (позитивний контрольний зразок, «К+») та здорові (негативний контрольний зразок, «К-») рослини сої та бобів.

Дослідження змін функціонального стану і активності фотосинтетичного апарату здорових і уражених вірусами рослин проводили біофізичним методом ІФХ, фіксуючи дані портативним приладом вітчизняного виробництва «Флоратест» [9]. Після штучного інфікування вірусами проводили серію 4-хвилинних вимірювань ІФХ на листках різних ярусів. Повторність вимірювань у кожному варіанті — трикратна. Темнову адаптацію листків перед вимірюваннями (не менше 20 хв) створювали штучно, притіняючи листки цупким папером.

Отриманий масив цифрових даних обчислювали у кожному варіанті, результати наводили у графічному вигляді (криві Каутського). На графіках позначали відповідні індукційні точки та критичні параметри ІФХ, що відображають вплив досліджуваних чинників на функціональні ланки ФС II. Наведено проаналізовані критичні параметри досліджуваного: фонові флуоресценція (F_0); максимальна квантова ефективність

PS II, яку розраховували як F_v/F_m ; кількість QB-невідновлювальних комплексів, що не беруть участі у лінійному транспорті електронів (коефіцієнт K_{pl}); коефіцієнт K_i , що корелює із інтенсивністю рибулозо-1,5-біфосфат карбоксилази/оксигенази (Рубіско) або ланкою темної фіксації вуглецю.

Для визначення вмісту пігментів у листках інфікованих та здорових рослин сої використовували спектрофотометричний метод [10]. Проби відбирали у літню денну пору доби, коли відбувалась найбільша активність фотосинтетичного апарату. Пігменти екстрагували 90% етанолу. Оптичну густину витяжок встановлювали за допомогою спектрофотометра СФ-101 3-хвильовим методом, визначаючи оптичну густину (E) витяжки за довжини хвилі 665, 649 і 440 нм, що відповідає максимумам поглинання Chl *a*, Chl *b* та каротиноїдів відповідно. Концентрацію (C) Chl *a* і *b* розраховували за рівняннями (Wintermans та De Motts, 1965) для етанолу [11]:

$$C_a = 13,70 \cdot E_{665} - 5,76 \cdot E_{649}, \text{ (мг/л)}, \quad (1)$$

$$C_b = 25,80 \cdot E_{649} - 7,60 \cdot E_{665}, \text{ (мг/л)}. \quad (2)$$

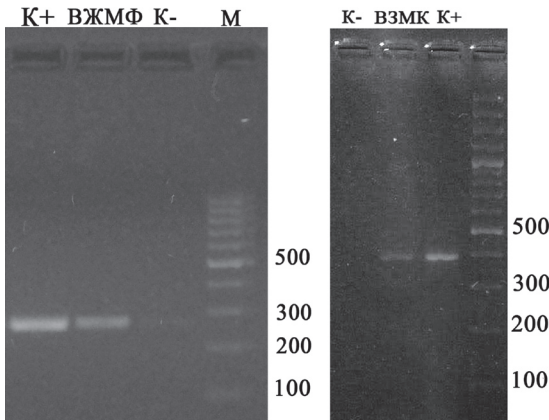


Рис. 1. Електрофореграми продуктів ПЛР-аналізу визначення ВЗМК і ВЖМК в екстрактах інфікованих рослин через 7 днів після інюкуляції вірусом: М — маркер молекулярної маси (O'GeneRuler™ DNA Ladder, #SM1203), К— — негативний та К+ — позитивний контроль

Концентрацію каротиноїдів у сумарній витяжці пігментів обчислювали за рівнянням (Wettstein 1957) [12]:

$$C_k = 4,7 \cdot E_{440} - 0,27 \cdot C_{(a+b)}, \text{ (мг/л)}, \quad (3)$$

де E_{665} , E_{649} та E_{440} — оптична густина витяжки за довжини хвилі 665, 649 та 440 нм відповідно; C — концентрація пігментів у витяжці, мг/л.

Визначивши концентрацію пігменту у витяжці, розраховували його вміст у досліджуваній тканині за формулою:

$$F = (V \cdot C) / P, \quad (4)$$

де F — уміст пігменту в рослинному матеріалі, (мг/г сирієї речовини); V — об'єм витяжки, л; C — концентрація пігменту, мг/л; P — наважка рослинного матеріалу, г.

Статистичну обробку даних проводили з використанням пакетів Microsoft Excell і Statistica.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Оскільки дослідження проводили в динаміці вірусної інфекції через 1–21 день після штучної інюкуляції рослин, наявність вірусної РНК в уражених рослинах виявляли методом ПЛР ще до появи вірусспецифічних симптомів (рис. 1).

Під час дослідження впливу вірусної інфекції на фотосинтетичний апарат бобових було встановлено, що показники індукційних змін флуоресценції хлорофілу, які відображають процеси перетворення енергії на початкових етапах фотосинтезу, відрізняються у здорових та уражених рослин (рис. 2). За вірусної інфекції часова залежність інтенсивності флуоресценції хлорофілу мала характерний вигляд кривої з кількома максимумами, що графічно відображає ефект Каутського. Форма кривих Каутського демонструє, що в листках нижнього ярусу фонова флуоресценція під дією вірусної інфекції зроста порівняно з контролем. Це свідчить про збільшення кількості хлорофілу, що не бере участі у фотосинтетичному перенесенні енергії на реакційні центри в ушкоджених листках.

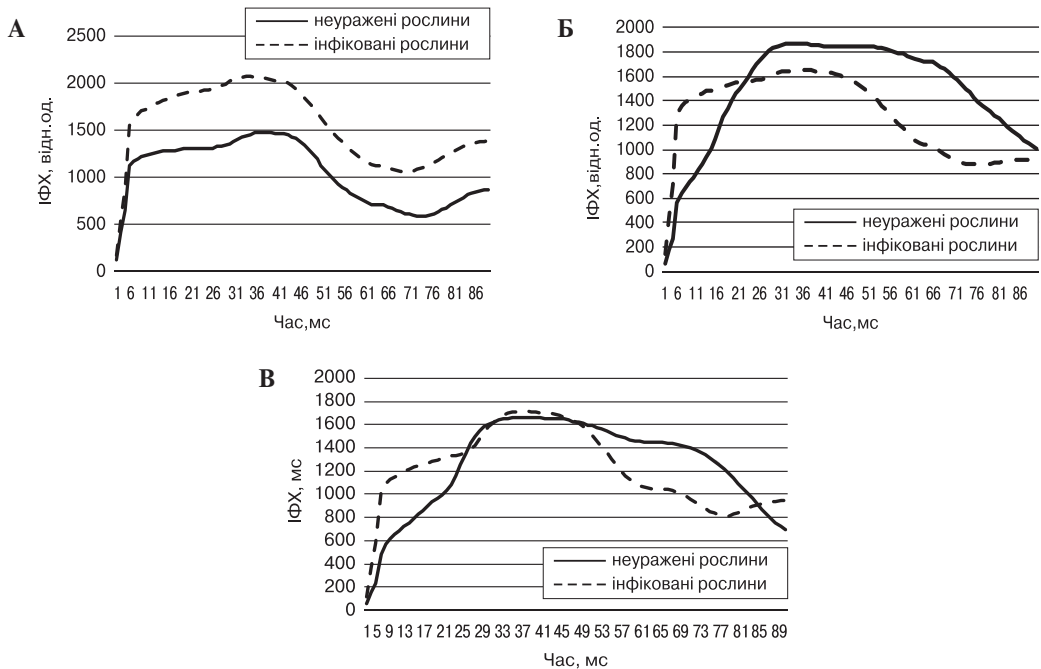


Рис. 2. Криві індукції флуоресценції хлорофілу листків неуражених та інфікованих ВЗМК рослин бобів (криві Каутського): А — листки нижнього та Б — середнього ярусу, В — листки верхівки

Графіки індукції флуоресценції хлорофілу в листках верхнього ярусу здорових та уражених рослин майже не відрізняються, що пояснюється незначним патологічним впливом вірусу на PS II у молодих листках (молоде листя за фізіологічним станом ще «здорове»).

За параметрами флуоресценції можна охарактеризувати стан рослини. Так, за активного фотосинтезу, коли всі реакційні центри (РЦ) перебувають у відкритому робочому процесі, використовується майже вся поглинута енергія сонячного світла, і тільки невелика її кількість (близько 3%) переходить в енергію світла у вигляді фонові флуоресценції (F_0). Як правило, величина F_0 за нормальних умов має невисокі значення, що обумовлено активним використанням клітинами енергії поглинутого світла [13]. За вірусної інфекції чи інших несприятливих умов порушується стан фотосинтетичних мембран, і реакційні центри стають неактивними, призупиняючи потік

електронів. Водночас поглинута енергія світла вже не може використовуватися в процесі фотосинтезу, і тому флуоресценція хлорофілу зростає.

Підвищення величини F_0 у листках бобів, інфікованих ВЗМК, свідчить про зростання функціонально неактивного хлорофілу (рис. 3-а). Так, під дією вірусної інфекції фоновий рівень флуоресценції F_0 зріс порівняно з контролем на 37% у листках нижнього- та майже вдвічі — у листках середнього ярусу і верхівки.

Найвищим інтегрованим показником, що характеризує ефективну структуру організації пігментної системи ФС II, є коефіцієнт F_v/F_p . Параметр F_p характеризує найвищий рівень флуоресценції хлорофілу, що реєструється як максимум на індукційній кривій. У цій точці фотосинтез відповідає мінімальному рівню, а його значення залежить від динамічного зрівноваження між процесами флуоресценції, фотохімії та теплової дисипації. Для оцінювання

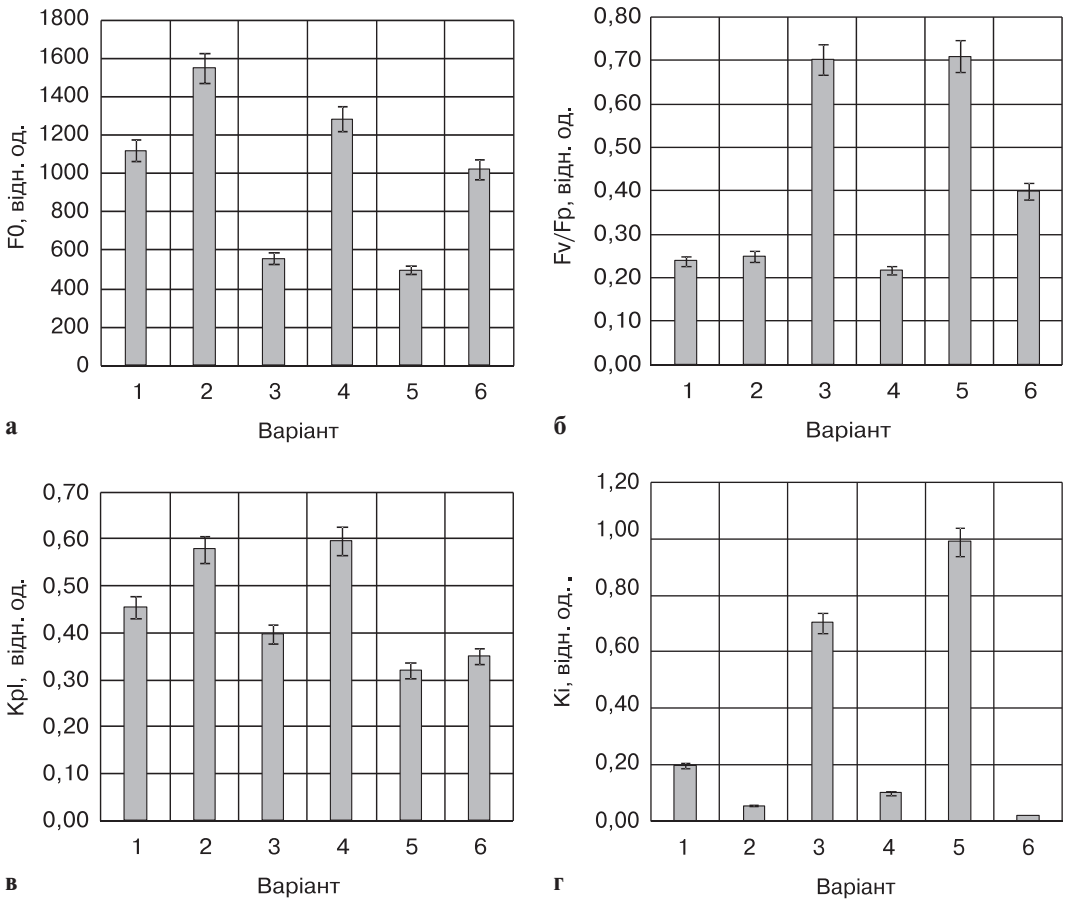


Рис. 3. Критичні параметри ІФХ листків бобів за вірусного зараження (F_0 , K_{pl} , F_v/F_p , K_t): 1, 3, 5 — контроль (інтактні рослини); 2, 4, 6 — вірус-інфіковані рослини; 1, 2 — листки нижнього та 3, 4 — середнього ярусу, 5, 6 — листки верхівки

індукції флуоресценції хлорофілоносних тканин використовують розрахунковий параметр — змінну флуоресценції хлорофілу (F_v), що виражається як різниця показника найвищого рівня флуоресценції і фонові флуоресценції ($F_p - F_0$), інформуючи про величину амплітуди змін кривої Каутського. Максимальну ефективність первинних процесів фотосинтезу, що обумовлено фізіологічним станом рослини, характеризує параметр F_v/F_p . Ефективність фотосинтезу, як і вказаний параметр, залежить від інтенсивності впливу абіотичних чинників.

Отримані дані демонструють зниження квантової ефективності ФС II (пригнічен-

ня фотосинтетичної активності) в листках середнього ярусу та верхівки, що свідчить про деструктивний вплив вірусної інфекції на фотосинтетичний апарат бобових (рис. 3-б).

Слід зауважити, що серед усіх досліджуваних параметрів ІФХ найвиразніше характеризує вплив вірусної інфекції, а саме її патологічну дію на функціональний стан рослин — коефіцієнт плато (K_{pl}):

$$K_{pl} = (F_{pl} - F_0) / (F_p - F_0) = dF_{pl} / F_v \quad (6)$$

де $dF_{pl} = F_{pl} - F_0$ — амплітуда плато флуоресценції; F_{pl} — тимчасове сповільнення

Вплив вірусної інфекції на вміст фотосинтетичних пігментів у рослинах сої *Glicine max* Merr

Показник	Уміст пігментів											
	4 дні			8 днів			14 днів			21 день		
	К*	Д**	Д/К	К	Д	Д/К	К	Д	Д/К	К	Д	Д/К
Хлорофіл <i>a</i>	1,86	1,78	0,96	1,81	0,75	0,42	1,79	0,68	0,38	1,83	0,67	0,36
Хлорофіл <i>b</i>	0,71	0,7	0,99	0,69	0,38	0,55	0,67	0,34	0,51	0,66	0,31	0,47
Каротиноїди	0,55	0,59	1,07	0,53	0,48	0,9	0,30	0,19	0,63	0,31	0,20	0,64
Chl <i>a</i> / Chl <i>b</i>	2,62	2,54		2,62	1,97		2,67	2,0		2,77	2,16	

Примітка: * К – неуражені та **Д – інфіковані ВЖМК рослини.

флуоресценції; $F_v = F_p - F_0$ – варіабельна флуоресценція.

Так, на листках бобів усіх ярусів за вірусного ураження спостерігалось зростання показника K_{pb} , що свідчить про стрес і скорочення пулу акцепторів електронів у електрон-транспортному ланцюзі, тобто зростання частки QB-невідновлювальних комплексів ФС II (рис. 3-в).

Дослідження впливу вірусної інфекції на ефективність головного ферменту циклу Кальвіна рибулозо-1,5-біфосфат карбоксилази / оксигенази (РБФК/О ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, Rubisco), що тісно корелює із коефіцієнтом індукції флуоресценції, який характеризує ефективність перебігу темнових фотосинтетичних процесів, продемонструвало істотне зниження його активності в листках усіх ярусів заражених рослин (рис. 3-г):

$$K_j = (F_p - F_t) / F_p. \quad (7)$$

Одержані дані свідчать про істотне інгібування фотофізичних і фотохімічних процесів фотосинтезу.

Для характеристики пігментних систем визначали уміст хлорофілу та каротиноїдів у листках рослин бобів. За результатами спектрофотометричних досліджень було встановлено, що в інфікованих вірусами зразках через 1–4 дні після інокуляції вміст як хлорофілу *a*, так і хлорофілу *b* майже не змінився (табл.). У динаміці розвитку вірусної інфекції через 8, 14 та 21 день після інокуляції сумарний уміст хлорофілу порівняно із здоровими рослинами знижувався – в 2,21, 2,41 та 2,54 раза від-

повідно. Зменшення вмісту фотосинтетичних пігментів у інфікованих листках може бути зумовлено збільшенням активності хлорофілази або пригніченням синтезу хлорофілу.

Показники співвідношення Chl *a* / Chl *b* дослідниками використовуються для оцінки ступеня впливу вірусної інфекції на рослину. Так, зниження показників Chl *a* / Chl *b* за вірусної інфекції може свідчити про спрямованість метаболічних процесів у бік запасання асимілятів, деградації ламел та зростання показників ФС II / ФС I, що призводить до підсилення синтезу АТФ, а також про руйнування реакційних центрів фотосистеми II унаслідок пролонгованого порушення транспорту електронів у процесі фотосинтезу [14]. За результатами наших вимірювань, на ранніх етапах інфекції співвідношення хлорофілу *a* і *b* в інфікованих ВЖМК рослинах майже не відрізнялось від контролю, однак спостерігалось істотне зниження цього параметра на пізніших етапах інфекційного процесу. Різне зниження вмісту каротиноїдів через 14 діб після інокуляції свідчить про значні порушення антиоксидантних систем інфікованих рослин, що спричиняє дисбаланс транспорту електронів до O_2 та надмірний синтез видів реактивного кисню.

ВИСНОВКИ

Віруси родини *Potyviriidae* спричиняють зниження активності фотосинтетичного апарату інфікованих рослин незалежно від просторового розташування листків. Так, у рослинах бобів під дією ВЖМК кількість

хлорофілу, що не бере участі у фотосинтетичному переносі енергії на реакційні центри, зростає у 1,4–2, а зниження квантової ефективності ФС II (пригнічення фотосинтетичної активності) – у 2–3 рази порівняно з контролем. За вірусного ураження на листках усіх ярусів спостерігалось істотне зниження активності ферменту Rubisco та підвищення коефіцієнта плато, що своєю чергою свідчить про інгібування фотофізичних і фотохімічних процесів фотосинтезу та скорочення пулу акцепторів електронів у електрон-транспортному ланцюзі. Такі патологічні зміни зумовлено зниженням вмісту активного хлорофілу (складової пігмент-білкових комплексів ФС II) та його деструкцією. Величини ключових параметрів ІФХ свідчать про істотне інгібування процесів фотосинтезу та порушення злагодженості реакцій циклу Кальвіна. Наслідком пошкодження фотосинтетичного апарату рослин є зниження вмісту пігментів фотосинтезу, оскільки ці метаболічні перетворення визначаються локальними змінами в структурі і функціях хлоропластів. Так, сумарний уміст хлорофілу в інфікованих ВЖМК рослинах сої через 8, 14 та 21 день після інокуляції знижувався в 2,21, 2,41 та 2,54 рази порівняно з неуряженими рослинами відповідно. Біофізичний метод індукції флуоресценції хлорофілу може використовуватись для ранньої діагностики вірусного патогенезу.

Автори висловлюють глибоку подяку кандидату біологічних наук, старшому науковому співробітнику відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного Ганні Борисівні Гуляєвій за допомогу у проведенні біофізичних вимірювань індукції флуоресценції хлорофілу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Light quantity and photosystem function mediate host susceptibility to Turnip mosaic virus via a salicylic acid-independent mechanism / A. Manfre, M. Glenn, A. Nucez et al. // *Mol. Plant Microbe Interact.* – 2011. – No. 24(3). – P. 315–327.
2. Chloroplast in Plant-Virus Interaction / J. Zhao, X. Zhang, Y. Hong, Y. Liu // *Front Microbiol.* – 2016. – doi:10.3389/fmicb.2016.01565.

3. Why mosaic? Gene expression profiling of African cassava mosaic virus-infected cassava reveals the effect of chlorophyll degradation on symptom development. / J. Liu, J. Yang, H. Bi, P. Zhang // *Integr. Plant Biol.* – 2014. – 56. – P. 122–132.
4. A geminivirus betasatellite damages the structural and functional integrity of chloroplasts leading to symptom formation and inhibition of photosynthesis / D. Bhattacharyya, G. Prabu, K. K. Reddy et al. // *J. Exp. Bot.* – 2015. – Vol. 66. – P. 5881–5895.
5. Depletion of the photosystem II core complex in mature tobacco leaves infected by the flavum strain of Tobacco mosaic virus / K. Lehto, M. Tikkanen, J. Hirriart et al. // *Mol. Plant-Microbe Interact.* – 2003. – Vol. 16. – P. 1135–1144.
6. The evidence of Tobacco rattle virus impact on host plant organelles ultrastructure / K. Otulak, M. Chouda, J. Bujarskib, G. Garbaczewska // *Micron.* – 2015. – Vol. 70. – P. 7–20.
7. Антипов І.О. Розробка ПЛР-систем для ідентифікації вірусу звичайної мозаїки квасолі (Bean Common Mosaic Virus) / І.О. Антипов, К.В. Гринчук, О.Т. Дупляк // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. – 2016. – Вип. 234. – С. 40–46. – (Серія: Біологія, біотехнологія, екологія). – Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnuai_biol_2016_234_7
8. Антипов І.О. ПЛР діагностика та ідентифікація вірусу жовтої мозаїки квасолі (*Bean yellow mosaic virus*) / І.О. Антипов, К.В. Гринчук, О.П. Сидоренко // Біологічні дослідження – 2014: Збірник наукових праць V Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених і студентів. – К., 2014. – С. 22–23.
9. Груша В.М. Інформаційні технології для дослідження індукції флуоресценції хлорофілу / В.М. Груша // Комп'ютерні засоби, мережі та системи. – 2014. – № 13. – С. 109–116.
10. Починок Х.Н. Методи біохімічного аналізу рослин / Х.Н. Починок. – К.: Наукова думка, 1976. – 336 с.
11. Wintermans F.G.M. Chlorophyll determination. A suitable method for Chlamydomonas / F.G.M. Wintermans, A. De Mots // *Biochim. biophys. acta.* 1965. – Vol. 109. – P. 448–453.
12. Wettstein D. Formula of chlorophyll determination / D. Wettstein // *Exp. Cell Res.* – 1957. – Vol. 12 (3). – P. 427–489.
13. Рубин А.Б. Биофизические методы в экологическом мониторинге / А.Б. Рубин // *Соросовский образовательный журнал.* – 2000. – Т. 6, № 4. – С. 7–13.
14. Tinoco-Ojanguren C. A comparison of light quality and quantity effects on the growth and steady-state and dynamic photosynthetic characteristics of three tropical tree species / C. Tinoco-Ojanguren, Y.R.W. Percy // *Functional Ecology.* – 1995. – No. 9. – P. 222–230.

REFERENCES

1. Manfre, A., Glenn, M., Nucez, A., Moreau, R.A., Dardick, C. (2011). Light quantity and photosys-

- tem function mediate host susceptibility to Turnip mosaic virus via a salicylic acid-independent mechanism. *Mol Plant Microbe Interact*, 24(3), 315–327 [in English].
- Zhao, J., Zhang, X., Hong, Y., Liu, Y. (2016). Chloroplast in Plant-Virus Interaction. *Front Microbiol*, 7. doi:10.3389/fmicb.2016.01565 [in English].
 - Liu, J., Yang, J., Bi, H., Zhang, P. (2014). Why mosaic? Gene expression profiling of African cassava mosaic virus-infected cassava reveals the effect of chlorophyll degradation on symptom development. *J. Integr. Plant Biol*, 56, 122–132 [in English].
 - Bhattacharyya, D., Prabu, G., Reddy, K. K., Kushwaha, N. K., Sharma, V. K., Yusuf, M. A., Chakraborty, S. (2015). A geminivirus betasatellite damages the structural and functional integrity of chloroplasts leading to symptom formation and inhibition of photosynthesis. *J. Exp. Bot*, 66, 5881–5895 [in English].
 - Lehto, K., Tikkanen, M., Hiriart, J. B., Paakkanen, V., Aro, E.M. (2003). Depletion of the photosystem II core complex in mature tobacco leaves infected by the flavum strain of Tobacco mosaic virus. *Mol. Plant-Microbe Interact*, 16, 1135–1144 [in English].
 - Otulak, K., Choudaa, M., Bujarski, J., Garbaczewska, G. (2015). The evidence of Tobacco rattle virus impact on host plant organelles ultrastructure. *Micron*, 70, 7–20 [in English].
 - Antipov, I., Hrynchuk, K., Duplyak, O. (2016). Rozrobka PLR-system dlya identyfikatsiyi virusu zvychnoyi mozayiky kvasoli [Development PCR systems for identification of mosaic virus ordinary beans (Bean common mosaic virus)]. *Naukovyy visnyk NUBIP Ukrayiny – Scientific herald of NULES of Ukraine*, 234, 40–46 [in Ukrainian].
 - Antipov, I., Hrynchuk, K., Sidorenko, O.P. (2014). PLR diahnozyka ta identyfikatsiya virusu zhovtoi mozaiky kvasoli (Bean yellow mosaic virus) [PCR diagnosis and identification of the Bean yellow mosaic virus] '14: *V Vseukrainska naukovo-praktychna konferentsiya molodykh uchenykh i studentiv – 5th All-Ukrainian scientific conference of young scientists and students* (pp. 22–23). Kyiv [in Ukrainian].
 - Hrusha, V.M. (2014). Informatsiini tekhnologii dlia doslidzhennia induktsii fluorestsentsiyi khlorofilu [Information technologies for research of chlorophyll fluorescence induction]. *Komp'uterni zasoby, merezhi ta systemy – Computer tools, networks and systems*, 13, 109–116 [in Ukrainian].
 - Pochynok, Kh.N. (1976). *Metody byokhymycheskoho analiza rasteniyi [Methods of biochemical analysis of plants]*. Kyiv: Nauk. dumka [in Ukrainian].
 - Wintermans, F.G.M., De Mots, A. (1965). Chlorophyll determination. A suitable method for *Chlamydomonas*. *Biochim. biophys. acta*, 109, 448–453 [in English].
 - Wettstein, D. (1957). Formula of chlorophyll determination. *Exp. Cell Res*, 12 (3), 427–489 [in English].
 - Rubyn, A.B. (2000). Byofyzycheskye metody v ekolohycheskom monitorynhe [Biophysical methods of ecological monitoring]. *Sorosovskiy obrazovatel'nyi zhurnal – International Soros Science Education Program*, 4, 7–13 [in Russian].
 - Tinoco-Ojanguren, C., Pearcy, Y. R.W. (1995). A comparison of light quality and quantity effects on the growth and steady-state and dynamic photosynthetic characteristics of three tropical tree species. *Functional Ecology*, 9, 222–230 [in English].

Стаття надійшла до редакції журналу
30.04.2019