

РОЗПОДІЛ КАРЛАВІРУСНОГО НАВАНТАЖЕННЯ В РОСЛИНАХ ХМЕЛЮ (*HUMULUS LUPULUS* L.)

Н.П. Сус¹, О.А. Бойко², Л.В. Проценко³, О.А. Демченко⁴,
Н.О. Тимошок⁴, А.В. Білецький², А.Л. Бойко¹

¹ Інститут агроекології і природокористування НААН (м. Київ, Україна)
e-mail: nazar.sus@gmail.com; ORCID: 0000-0001-6919-0920
e-mail: boiko.anatolii@email.ua; ORCID: 0000-0002-5577-9600

² Національний університет біоресурсів і природокористування України (м. Київ, Україна)
e-mail: olga_bojko@ukr.net; ORCID: 0000-0002-8216-0491

³ Інститут сільського господарства Полісся НААН (м. Житомир, Україна)
e-mail: lidiya.procenko@mail.ru; ORCID: 0000-0002-7746-0270

⁴ Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України (м. Київ, Україна)
e-mail: oleksandr.demchenko@email.ua; ORCID: 0000-0003-1457-143X
e-mail: n_timoshok@ukr.net; ORCID: 0000-0002-4207-4492

Знання особливостей розподілу вірусного навантаження у рослині є важливим як для вірусологічних досліджень загалом, так і для формування безвірусного посадкового матеріалу зокрема. Поряд із тим не менш важливим є розроблення заходів профілактики поширення вірусних хвороб. Розглянуто особливості розподілу карлавірусного навантаження в рослинах хмелю (*Humulus lupulus* L.), визначено ефективні заходи зі стимулювання росту і розвитку та профілактики поширення вірусів хмелю. Наведено результати дослідження розподілу карлавірусного навантаження в рослинах хмелю, а також дієвості застосування кліноштатування, біокомпозиції Біоєкофунге-1 та наночастинок діоксиду церію у вирощуванні хмелю. Встановлено, що у вегетаційний період рослин хмелю найбільше скупчення вірусів спостерігається в листових пластинках та молодих пагонах у верхній частині стебла (на відстані 150–200 см від кореневої шийки), тоді як у зимовий період — у бруньках підземних етіолованих пагонів. Виявлено, що ефективним заходом зі стимулювання росту і розвитку рослин хмелю, а також профілактики поширення карлавірусів хмелю є комбіноване застосування Біоєкофунге-1 та наночастинок діоксиду церію — приріст кореневої системи у цьому разі становив 32%. З'ясовано, що кліноштатування сприяє оздоровленню, а також стимулює ріст і розвиток рослин хмелю. Водночас слід зауважити, що в проведеному дослідженні було ідентифіковано лише родові положення карлавірусів та іларвірусів хмелю, а також встановлено, що ці віруси формували змішані інфекції, тому є необхідним продовжити дослідження в умовах моноінфекцій.

Ключові слова: вірусне навантаження, розподіл вірусного навантаження, карлавіруси хмелю, Біоєкофунге-1, кліноштатування.

ВСТУП

Ще донедавна хмелярство мало вагоме значення для АПК України. Проте за дії різних чинників останніми роками галузь втратила своє лідерство серед європейських країн. Нагадаємо, що сировину хмелю використовують пивоварна, харчова, фармацевтична та оборонна галузі промисловості [1]. У дослідженнях як вітчизняних, так і іноземних вчених контамінованість сировини хмелю вірусами

роду *Carlavirus* становить 28–63% [2; 3]. Новизною результатів дослідження є розроблення та модифікування методик вивчення карлавірусної інфекції як в умовах культивування рослин *in vitro*, так і під час росту і розвитку рослин у природних умовах. Водночас, зважаючи на розподіл вірусного навантаження у рослині, здійснено відбір матеріалу для культури тканин та формування здорових рослин-донорів. Унікальність цієї роботи полягає ще й у тому, що в ній було застосовано нові методики дослідження вірусних інфекцій та їх

© Н.П. Сус, О.А. Бойко, Л.В. Проценко, О.А. Демченко,
Н.О. Тимошок, А.В. Білецький, А.Л. Бойко, 2020

патогенезу [4–5], а також нові противірусні засоби [6], що досі не використовувалися в різнопланових дослідженнях хмелю.

Метою роботи було дослідити особливості розподілу карлавірусного навантаження у рослинах хмелю, а також визначити ефективні заходи зі стимулювання росту і розвитку та профілактики поширення вірусів культури.

АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Розподіл вірусного навантаження (англ. *viral load distribution*) є нерівномірним, зокрема найбільша кількість вірусних частинок трапляється у верхніх органах рослин [7]. Водночас розподіл вірусного навантаження визначається особливостями «коротковідстанного» (англ. *short-distance movement*) та «довговідстанного» (англ. *long-distance movement*) руху вірусів рослин [7–10]. Коротковідстанний рух видів роду *Carlavirus*, як і видів родів *Potexvirus*, *Allexivirus*, *Mandariivirus*, *Foveavirus*, *Hordeivirus*, *Benyivirus*, *Pomovirus* та *Pecluvirus*, здійснюється трьома білками потрійного блоку генів (англ. *triple gene block*) [8]. Ці віруси, а також властиві їм білки, поділяються на гордееподібні (англ. *hordei-like*) та потексоподібні (англ. *potex-like*), до яких належать карлавіруси та їх білки потрійного блоку генів. Зокрема, у коротковідстанний рух потексоподібних, на відміну від гордееподібних вірусів, залучається також білок оболонки [8–10]. Загалом слід зауважити, що як коротковідстанний, так і довговідстанний рух видів роду *Carlavirus* є маловивченими, особливо останній [8–10].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Віруси ідентифікували зануренням зрізу в контрастну речовину (уранілацетат, фосфорновольфрамова кислота) та розгляданням препарату в трансмісійному електронному мікроскопі JEM-1400 за інструментального збільшення (25000–35000 разів). Вірусним навантаженням (англ. *viral load*) вважалася кількість віріонів, що спостерігалася в полі зору мікроскопа.

Окрім того, електронно-мікроскопічні дослідження вірусу проводили за розробленою нами експрес-методикою [4], що дало змогу здійснювати підготовку препарату на досліджуваному біологічному об'єкті (кореневищі, бруньках, стеблі тощо).

Для світлової мікроскопії препарати готували за загальноприйнятими методами.

Щоб встановити потенційні наслідки впливу карлавірусних інфекцій на якість сировини хмелю, досліджували структурні ознаки лупулінових залоз у польових умовах [5].

Для стимулювання росту і розвитку кореневої системи клонів хмелю в умовах лабораторно-вегетаційних дослідів було застосовано обприскування рослин емульсією 0,5%-вої композиції Біоекофунге-1 та 0,0001%-ого розчину наночастинок діоксиду церію, а також одновісне горизонтальне кліностакування (щоденне 6-годинне обертання впродовж 12 діб з частотою 2 об./хв) [5; 6].

Біоекофунге-1 є композицією «біохімічних речовин, яка є по суті біологічним препаратом, що підвищує продуктивність сільськогосподарських культур і одночасно знижує інфекційний процес, який викликається фітопатогенними бактеріями, мікроскопічними грибами і вірусами» [11]. Цей засіб містить екстракти «плодових тіл печериці двоспорової та гливи звичайної, а також ліофілізованих суцвіть, молодих листків та стебел хмелю (*Humulus lupulus* L.)» [11].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз результатів дослідження засвідчив, що карлавірусне навантаження в органах хмелю залежить від фази розвитку рослини та розвитку власне органу (табл.).

Встановлено, що карлавіруси хмелю репродукуються в бруньках та пагонах кореневища (маточному корені). До того ж скупчення карлавірусів спостерігається методом електронної мікроскопії в бруньках кореневища навіть в зимовий період. Карлавіруси хмелю також було виявлено у верхівках бруньок (пагонів) та меристема-

Розподіл карлавірусного навантаження в рослинах хмелю

Місце відбору зразків	Кількість віріонів у полі зору електронного мікроскопа (середнє із 5-ти повторностей)
Пагони кореневища, бруньки, 5–15 мм	1,2
Молоде листя, стебла, близько 100 см	1,8
Молоде листя, стебла, близько 150 см	3,2
Молоде листя, стебла, близько 200 см	3,8
Верхівка стебла, 5–15 мм	0,4

тичній частині рослини. Проте найменшу кількість вірусів ми виявляли у верхівках бруньок (5–15 мм від вершини бруньки), це підтверджує наші попередні висновки, що не всі клітини цього типу є безвірусними. Отже, ми простежили за розподілом карлавірусного навантаження у рослинах хмелю під час вегетації. Зауважимо, що як модельну систему досліджували виткі стебла висотою 100–200 см. Слід зауважити, що карлавіруси хмелю виявляли в змішаній інфекції із іларвірусами, бактеріями (*Pseudomonas* sp.), рабдоподібними вірусами, фітоплазмами.

Слід наголосити, що інфіковані рослини хмелю завжди були пригніченими, й карлавірус на таких рослинах на перших фазах інфекції індукував ледь помітне скручування листової пластинки (ймовірно, вірус мозаїки хмелю). Тривалі спостереження за інфікованими рослинами засвідчили, що поступово ці симптоми спричиняють їх значне відставання в рості та розвитку, і ці рослини не можуть бути біологічним матеріалом для формування посадкового матеріалу (живців, саджанців та мікроживців).

За результатами наших попередніх досліджень ефективними заходами як для оздоровлення вірусінфікованих рослин інших видів (соняшнику, томата, клена, сосни, гречки, пшениці, тютюну, цукрового буряку), так і контролю поширення вірусів, що їх уражували, були: композиція Біоекофунге-1, що містить екстракт полісахаридів з грибів-базидіоміцетів, а також комбіноване застосування 0,5%-вої композиції Біоекофунге-1 з 0,0001%-вим розчином наночастинок діоксиду церію та кліноостатування із застосуванням установ-

ки «Еколог» [12]. Зважаючи на отримані результати, ми обприскували посадковий матеріал хмелю (мериклони) емульсією 0,5%-вої композиції Біоекофунге-1 та 0,0001%-ого розчину наночастинок діоксиду церію. Було встановлено, що цей захід сприяв приросту кореневої системи в середньому на 32% з подальшим інтенсивним ростом і розвитком рослин. Заслужовують на увагу досліді з використанням кліноостатування, що прискорювало ріст рослин хмелю за умов відповідних параметрів запропонованого прийому.

ВИСНОВКИ

Було виявлено залежність вірусного навантаження від фази росту і розвитку органу рослини хмелю. Зокрема встановлено, що під час вегетаційного періоду найбільше скупчення вірусів спостерігається в листових пластинках та молодих пагонах у верхній частині стебла, тоді як у зимовий («сплячий») період — у бруньках підземних етіолованих пагонів.

Виявлено, що ефективним заходом стимулювання росту і розвитку рослин хмелю, а також профілактики поширення карлавірусів культури є комбіноване застосування Біоекофунге-1 та наночастинок діоксиду церію. Водночас було з'ясовано, що кліноостатування сприяє оздоровленню, а також стимулює ріст і розвиток рослин хмелю.

З огляду на те, що у цій роботі ми ідентифікували лише родові положення як карлавірусів, так і іларвірусів хмелю, а також на те, що вказані віруси формували змішані інфекції, необхідним є проведення подальших досліджень в умовах моноінфекцій.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ляшенко Н.И., Михайлов Н.Г., Рудык Р.И. Физиология и биохимия хмеля. Житомир: Полісся, 2004. 408 с.
2. Бойко А.Л. Вирусы и вирусные заболевания хмеля и розы эфиромасличной. Киев: Наукова думка, 1976. 111 с.
3. Pethybridge Sarah J. et al. Viruses and Viroids Infecting Hop: Significance, Epidemiology, and Management. *Plant Disease*. 2008. No. 3. Vol. 92. P. 324–338. DOI: <https://doi.org/10.1094/pdis-92-3-0324>
4. Boiko A. et al. General method of bacteria, their phages and other pathogens detection in fungi and plants. *Агроекологічний журнал*. 2017. No. 1. P. 131–133.
5. Бойко А.Л. та ін. Economically profitable novel quality evaluation method for raw hop (*Humulus lupulus* L.). *Біоресурси і природокористування*. 2018. № 3–4. С.5–10. DOI: <https://doi.org/10.31548/bio2018.03.001>
6. Бойко О.А., Весельський С.П., Григорюк І.П., Мельничук М.Д. Створення біопрепаратів на основі біохімічних компонентів різних видів базидіоміцетів та вищих рослин. *Науковий вісник НУБіП України. Серія: Біологія, біотехнологія, екологія*. 2014. № 204. С. 120–126.
7. Plotnikov K., Ryabinina V., Khodakova A. and Blazhko N. Viral Load Distribution of Cucumber Green Mottle Mosaic Virus in Leaves. *The Fifth Technological Order: Prospects for the Development and Modernization of the Russian Agro-Industrial Sector (TFTS 2019) : Proceedings of the International Scientific Conference*, city Omsk, 15.10.2019, 2020. P. 210–212. DOI: <https://doi.org/10.2991/assehr.k.200113.171>
8. Seo Jang-Kyun, Kim Kook-Hyung. Long-Distance Movement of Viruses in Plants. *Current Research Topics in Plant Virology* / Ed. by Aiming Wang, Xueping Zhou. Cham: Springer, 2016. P. 153–172. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-32919-2_6
9. José A. Navarro, Jesus A. Sanchez-Navarro and Vicente Pallas. Key checkpoints in the movement of plant viruses through the host. *Advances in Virus Research*. 2019. Vol. 104. P. 1–64. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2019.05.001>
10. Ur Rehman Atta et al. The Coat Protein of Citrus Yellow Vein Clearing Virus Interacts with Viral Movement Proteins and Serves as an RNA Silencing Suppressor. *Viruses*. 2019. Issue 4. Vol. 11. P. 1–17. DOI: <https://doi.org/10.3390/v11040329>
11. Бойко О.А. та ін. Композиція біохімічних речовин для стимуляції продуктивності та захисту від хвороб сільськогосподарських рослин : Пат. 53983 Україна. № u201004473; заявл. 16.04.2010; опубл. 25.10.2010. Бюл. № 20.
12. Діденко П.В. та ін. Ріст і розвиток посадкового матеріалу сосни звичайної (*Pinus sylvestris* L.) за впливу біоорганічних композицій з базидіоміцетів та наночастинок діоксиду церію. *Сільськогосподарська мікробіологія*. 2019. № 30, С. 61–68. DOI: <https://doi.org/10.35868/1997-3004.30.61-68>

REFERENCES

1. Lyashenko N.I., Mihaylov N.G. & Rudik, R.I. (2004). *Fiziologiya i biokhimiya hmelya [Physiology and biochemistry of hops]*. Zhitomir: Polesye [in Russian].
2. Boyko, A.L. (1976). *Virusy i virusnyye zabolevaniya khmelya i rozy efiromaslichnoy [Viruses and viral diseases of hops and oil-bearing roses]*. Kyiv: Naukova dumka [in Russian].
3. Pethybridge, S.J. et al. (2008). Viruses and Viroids Infecting Hop: Significance, Epidemiology, and Management. *Plant Disease*, 92(3), 324–338. DOI: <https://doi.org/10.1094/pdis-92-3-0324> [in English].
4. Boiko, A. et al. (2017). General method of bacteria, their phages and other pathogens detection in fungi and plants. *Ahroekolohichnyi zhurnal – Agroecological journal*, 1, 131–133 [in English].
5. Boyko, A. et al. (2018). Economically profitable novel quality evaluation method for raw hop (*Humulus lupulus* L.). *Bioresursy i pryrodokorystuvannia – Bioresources and Nature Management*, 10(3–4), 5–10. DOI: <https://doi.org/10.31548/bio2018.03.001> [in English].
6. Boyko, O.A., Veselskiy, S.P., Grygoryuk, I.P. & Melnychuk, M.D. (2014). Stvorennia biopreparativ na osnovi biokhimichnykh komponentiv riznykh vydiv bazydiomitsetiv ta vyshchychk roslyn [The creation of biopreparation based on biochemical components of different basidiomycetes species and higher plants]. *Naukovyy visnyk NUBiP Ukrayiny. Seriya: Biologiya, biotekhnologiya, ekologiya, 204*, 120–126 [in Ukrainian].
7. Plotnikov, K., Ryabinina, V., Khodakova, A. & Blazhko, N. (2020). Viral Load Distribution of Cucumber Green Mottle Mosaic Virus in Leaves. *Proceedings of the International Scientific Conference The Fifth Technological Order: Prospects for the Development and Modernization of the Russian Agro-Industrial Sector (TFTS 2019)*. DOI: <https://doi.org/10.2991/assehr.k.200113.171> [in English].
8. Seo, J.-K., & Kim, K.-H. (2016). Long-Distance Movement of Viruses in Plants. *Current Research Topics in Plant Virology*, 153–172. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-32919-2_6 [in English].
9. Navarro, J.A., Sanchez-Navarro, J.A., & Pallas, V. (2019). Key checkpoints in the movement of plant viruses through the host. *Advances in Virus Research*, 1–64. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2019.05.001> [in English].
10. Ur Rehman, A. et al. (2019). The Coat Protein of Citrus Yellow Vein Clearing Virus Interacts with

- Viral Movement Proteins and Serves as an RNA Silencing Suppressor. *Viruses*, 11(4), 329. DOI: <https://doi.org/10.3390/v11040329> [in English].
11. Boiko, O.A. et al. (2010). Kompozytsiia biokhimichnykh rehovyn dlia stymuliatsii produktyvnosti ta zakhystu vid khvorob silskohospodarskykh roslyn: Patent 53983 na korysnu model [Composition of biochemical substances for stimulating productivity and protection from diseases of agricultural plants: Patent 53983 for a utility model]. № u 2010 04473. *Bull. No. 20* [in Ukrainian].
 12. Didenko, P.V. et al. (2019). Rist i rozvytok posadkovoho materialu sosny zvychnoi (Pinus sylvestris L.) za vplyvu bioorhanichnykh kompozytsii z bazydiomitsetiv ta nanochastynok dioksydu tseriuu [Growth and development of planting material of Scots pine (Pinus sylvestris L.) under the influence of bioorganic compositions from basidiomycetes and cerium dioxide nanoparticles]. *Silskohospodarska mikrobiolohiia – Agricultural Microbiology*, 30, 61–68. DOI: <https://doi.org/10.35868/1997-3004.30.61-68> [in Ukrainian].

Стаття надійшла до редакції журналу 24.04.2020
