

Laboratoriya mashg'uloti: O'simlik viruslarini indikator o'simliklar yordamida aniqlash.

O'simlik hujayralaridagi virus kiritmalari qaqida birinchi marta rus olimi D.I. Ivanovskiy "Tamakining mozaika (chiporlanish) kasalligi" (1902) kitobida tamaki hujayrasini mozaikali qismida qandaydir rangsiz, kristallsimon moddalar borligini aytgan edi. Bulardan tashqari ularni oldida (kasal hujayralar yadrosi yaqinida) hujayraning boshqa tar kibi qismlaridan farqlanadigan amyobalarga o'xshash plazma to'plamlari uchraydi. Bu xildagi kiritmalar keyinchalik amyobasimon tanalar, vakuollashgan yoki X-tanalar deb nomlandi.

M.I. Goldin tomonidan virus bilan kasallangan odam va hayvon hujayralarida ham mayda timonuklein kislota tutuvchi elementlar tanachalar-virus zarralari borligi aniqlandi. Ko'pincha o'simlik, odam va hayvon virus kasalliklarida X-tanalar diagnostika maqsadlarida ham o'rganiladi. Tamakining mozaikali qismidagi kristall kiritmalari bor tuqimaga 0,1 n NS1 ta'sir ettirilganda kristall kiritmalar ignasimon kristallarga parchalanib ketadi, bunday kristallar tozalangan virus prenatlarida uchraydi. Demak, kristall virus kiritmalari virus zarralaridan tuzilgandir. Tamaki mozaikasi virusining "yashiringan" (maskirovannyi shtamm) shtamm kiritmalari hujayrada TMIGA qaraganda ancha kam to'planadi (Beale, 1936). Lingviston va Duggarlar virus zarralari ning lokalizatsiyasini o'rganishib, virusni asosiy qismi protoplazmada bo'lishini aniqlashdi.

TMV bilan kasallangan tamaki tutuamalarida kristallsimon virus kiritmalari bir tekisda tarqalmagan. Masalan, ba'zi tamaki yoki tomat barglaridagi tuklarda kristall virus kiritmalari umuman ko'rinmasligi mumkin, ba'zilarida esa juda ko'p bo'lishi mumkin. Tadqiqotlarning ko'rsatishicha, kiritmalar virus to'plamlari yoki hujayrada virus to'planishi bilan borliq, bo'lgan mahsulotdir. Bular M.I. Goldining ma'lumotlariga qaraganda, virus bilan kasallangan tamaki yoki tomatning barg tuklarida va epidermisida to'planadi. M.I. Goldin tadqiqotlari natijasiga ko'ra virus suyuqltirilganda, yuqumliligining svqlanish darajasi 10^8 mcha deb hisoblansa, virus kiritmasi 20 mkm (2×10^{-3}) sm bo'lsa, uning hajmi $4 (10^{-3})^3 \text{ sm}^3$ ga yaqin bo'lar ekan. Bitta kiritmaning og'irligi $4 (10^{-9}) \text{ g}$ bo'ladi. Suyulish darajasini 10^8 bo'lishi uchun 4 ml suvda 10 ta kiritma bo'lishi zarur bo'ladi. Mikromanipulyator yordamida X-tanalarni ajratib olib, bir necha marta yuvib, so'ngra hosil bo'lgan suspenziya bilan glyutinozani kasallantiriladi va 60 m kasallantirilgan bargda 15 nekroz hosil bo'lishi kuzatilgan. Tajribada natijasiga ko'ra, kiritmalarda virus borligi va u sezilarli darajadaligi aniqlanadi. Goldin fikricha, TMV bilan kasallangan bargdagi kiritmalarda virus bo'ladi. Goldin va Sheffild tajribalarining ko'rsatishicha Ivanovskiy kristallari va X-tanalar TMV ning to'plamidir. Tamaki boshqa virus bilan kasallantirilsa, o'simlik hujayrasida amorf kiritmalar hosil bo'ladi, ular ham virus zarralarining to'plamlaridan iborat bo'lishi aniqlanilgan.

Hisoblashlarning ko'rsatishicha, bitta kristallning massasi 1/125000 mg ga teng bo'lar ekan. Ivanovskiy kristallari, odatda, geksagonal ko'rinishda bo'ladi. TMVning boshqa shtammi bilan kasallangan tamakida ipsimon shaklli kiritmalar ham uchraydi. Ba'zan ikkilama kiritma bir vaqtning o'zida bitta hujayrada uchrashi mumkin. Har xil o'simlik bir xil virus bilan kasallangan bo'lsa, uning shakli o'zgarmaydi. Har xil moddalar ta'sirida (masalan, 0,1 n HCl) TMV ning kasallangan o'simlik hujayralarida dugsimon kristallar uchrashi mumkin. Sheffild (1939)

fikricha, TMV bilan kasallangan tamaki hujayralarida X-tanalarning hosil bo'lishi kuzatilganda, virus yuqtirilgandan bir necha kun o'tgach, hujayra protoplazmasi ancha zichlashadi va harakatchan bo'ladi. Plazma oqimida oqsil zarralar ko'payib boradi va ular bir-birlari bilan to'qnashib qo'shiladi va kattaroq, massa hosil qiladi. Bular ko'pincha dumaloq shaklga kiradi va zichlashadi. Bir oylardan so'ng bu X-tanalar degeneratsiyaga uchraydi. Ba'zan kiritmaning amorf materiali ipsimon kristallarga aylanadi. Ammo M.I.Goldin bunga ba'zi dalilni karama-qarshi qo'yadi, chunki u virus yuqtirilgandan so'nggi birinchi kunlardayoq tipik kristallsimon kiritmalarni kuzatadi va X-tanalarning parchalanishi- dan Ivanovskiy kristallari xosil bo'ladi deyishni notug'ri deb hisoblaydi.

Goldinning (1963) fikricha, hujayra va virus orasidagi munosabatlarning kechishiga qarab yoki X-tana yoki Ivanovskiy kristallari hamda ipsimon ko'rinishga ega bo'lgan mahsulotlar hosil bo'lishi mumkin (spika-kristallar). Ba'zan X-tanadan avvalroq ham kristall kiritmalar hosil bo'ladi. X-tanalar hujayradagi turlardan hosil bo'ladi. X-tanalar hosil bo'lgandan so'ng ham turlar hosil bo'lib turadi. SHuning uchun hujayrada bir vaqtning o'zida kristallar, iplar, turlar va X-tanalarni kuzatish mumkin.

Kristall kiritmalarining ba'zi fizikaviy va kimyoviy xossalari. Ivanovskiy kristallariga eng xos xususiyatlardan biri, ular hujayraning salgina buzilishidan tezgina erib ketadi. Ularga 0,1 n giposulfat yoki 1% li sistein 1 % li pikrin kislotasi, 20-25% ammoniy sulfatlar eritmalarini ta'sir ettirib erib ketishidan caiyvani mumkin. Pikrin kislotasi kristallari fiksatsiya qilishda yaxshi natijalar beradi va ular fuksin, fenosafranin kabi 6o'yoqlap bilan yaxshi bo'yaladi.

To'qimalarning nozik kesmalarini ba'zi stabillashtiruvchi eritmalarga solib, mikromanipulyator yordamida Ivanovskiy kristallarini, ipchalarini o'simlik tuklaridan ajratib olish mumkin. Virus kiritmalarini tadqiq qilish o'simlik viruslarini o'rganishning yorug'lik mikroskopi yordamida bajariladigan metodlaridan biridir (kiritmalar metodi). Kiritmalarni analiz qilish virus kasalliklarini diagnostikasini osonlashtiradi va ularni klassifikatsiya qilishda, yashirin infeksiyani aniqlashda ma'lum rol o'ynaydi.

Quyida X-tana, kristall kiritmalari yaxshi o'rganilgan bazi o'simlik viruslarining ro'yxati berilgan.

X -tana hosil buladigan virus kasalliklari

1. Tomat mozaikasi virusi guruhi, Kartosh kaning X-virusi, Kartoshkaning U-virusi, Kartoshka bargining buralishi, Bug'doy mozaikasi, SHoli pakanaligi (karlikovost), Mais mozaikasi, SHakarqamishning 1-virusi, SHakarqamishning xlorotik nekrozi, P iyoz mozaikasi, Piyozning sariq pakanaligi, Kartoshkagul mozaikasi va pakanaligi, gulsafsar mozaikasi, Paporotnik mozaikasi, Lavlagi yuqori qismining buralishi, Tok bo'g'imlarining qisqarishi virusi, SHolg'om mozaikasi virusi, SHaftoli sarg'ayishi, Tut mozaikasi, Tomat barglarining zarhallanishi bilan kasallangan o'simliklarda virus kiritmalari hosil bo'lishi mumkin. Quyida esa virus kasalliklarida kristall yoki kristallsimon tanalar (ko'pincha X -tanadan tashkari) hosil bo'ladigan kasalliklar keltirilgan: Tomat virusi guruhi, Tamakining halqasimon dog'liligi, Tamaki naqshinkorligi, bodring mozaikasi virusi №2, qizil beda mozaikasi, Loviya sariq mozaikasi, No'hat mozaikasi virusi №2, Lavlagi mozaikasi, Lolaning atlaslanishi (pyostralepestnost), Zubtutum mozaikasi.