

УЛЬТРАСТРУКТУРА КЛЕТОК МЕЗОФИЛЛА ЛИСТЬЕВ РАЗНЫХ СОРТОВ СОИ, СИСТЕМНО ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОМ МОЗАИКИ СОИ

© А. В. Реунов,¹ Л. А. Лапшина,¹ В. П. Нагорская,¹ А. М. Полякова,² С. Н. Лега^{2,*}

¹ Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН и

² Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток; * электронный адрес: piboc@stl.ru

Проведено сравнительное изучение ультраструктуры клеток мезофилла листьев трех сортов сои, различающихся по поражаемости вирусом мозаики сои (ВМС), при системном заражении их этим вирусом. Показано, что в инфицированных клетках наряду с накоплением вирусных частиц образуются вирус-специфические цилиндрические включения (ЦВк), а также происходят изменения, отражающие стимуляцию литических процессов. К таким изменениям относятся активация агранулярного эндоплазматического ретикулаума и аппарата Гольджи, образование цитоплазматических вакуолей, цитосегресом, миелоноподобных тел, а также различные нарушения в структуре клеточных органелл. Во многих зараженных клетках наблюдались микротельца с инвагинациями, в которых были локализованы ЦВк, часто обнаруживающие признаки деструкции. Обсуждается связь наблюдаемых вирусиндуцированных изменений в клетках с поражаемостью сортов ВМС.

Ключевые слова: вирус мозаики сои, клетки мезофилла листьев, сорта сои, ультраструктура.

Принятые сокращения: ВМС — вирус мозаики сои, ВТМ — вирус табачной мозаики, ХВК — Х-вирус картофеля, ЦВ — центральная вакуоль, ЦВк — цилиндрические включения, ЭР — эндоплазматический ретикулум.

Разработка мер борьбы с вирусными болезнями растений должна основываться на знании механизмов развития вирусиндуцированных патологических процессов. Однако, несмотря на многочисленные исследования вирозов растений-хозяев, вопрос о том, как вирусы вызывают у них заболевания, остается недостаточно изученным. Одним из подходов к изучению этого вопроса является сравнительный анализ цитологических, физиологических и биохимических особенностей зараженных вирусами растений, различающихся по интенсивности образующихся на них симптомов (Matthews, 1981; Van Loon, 1987).

Ранее нами при ультраструктурном изучении взаимодействия растений дурмана с различными по патогенности штаммами ХВК (Реунов, 1989), а также разных сортов табака и картофеля соответственно с ВТМ (Реунов, 1989) и ХВК (Реунов и др., 1999) было показано, что существует прямая зависимость между поражаемостью растений и развитием в их клетках литических процессов.

В настоящей работе представлены результаты сравнительного исследования ультраструктуры инфицированных ВМС клеток мезофилла листьев трех сортов сои, различающихся по степени поражаемости этим вирусом.

Материал и методика

Работа выполнена на сортах сои Приморская 529, Lablona Pres и Чайка, выращенных из коллекционных семян Приморского научно-исследовательского института сельского хозяйства. Семена обрабатывали в течение 10—15 мин слабым раствором перманганата калия и

проращивали на увлажненной фильтровальной бумаге в чашках Петри. Проросшие семена высаживали в горшки. Растения выращивали в теплице при 22—25 °С.

Через 10 сут после высаживания проросших семян на выращенных растениях заражали первый распустившийся лист, который напыляли карборундом и инокулировали соком листьев растений сои Приморская 494, инфицированных среднепатогенным штаммом ВМС (Полливанова и др., 1977), частицы которого имеют длину 750 нм, а диаметр — 12 нм (Такахаси и др., 1969).

На 10-е сут после заражения растений ВМС исследовали системно инфицированные вторые тройчатые листья, на которых наблюдались мозаичные симптомы в виде мелких участков ткани с различающимися по интенсивности оттенками зеленого и желтого цветов. Наиболее выраженными такие симптомы были на листьях сорта Приморская 529 и подобного ему по поражаемости сорта Lablona Pres, наименее — на листьях сорта Чайка. В качестве контроля служили подобные листья здоровых растений.

Кусочки листьев фиксировали 3 ч в 6.5%-ном растворе глутаральдегида, приготовленном на фосфатном буфере (рН 7.4), и 2 ч — в 1%-ной четырехокиси осмия. Затем образцы обезжизняли в спирте и ацетоне и заключали в аралдит. Ультратонкие срезы, полученные на ультратоме LKB-III (LKB, Швеция), контрастировали уранил-ацетатом и цитратом свинца и исследовали в электронном микроскопе JEM-7A (JEOL, Япония).

Морфометрические исследования проводили, используя известные методики (Киселева и др., 1974). Количество вирусных частиц в клетках оценивали по разработанному нами методу (Реунов, Лапшина, 1983).

Результаты

Как показали проведенные исследования, клетки мезофилла вторых тройчатых листьев здоровых растений различных сортов сои имеют насыщенную рибосомами цитоплазму (рис. 1, *а*, *б*). Ядра клеток характеризуются светлой нуклеоплазмой, содержащей фибриллярно гранулярный материал, и периферически расположенным гетерохроматином (рис. 1, *б*). В хлоропластах наблюдается достаточно развитая тилакоидная система, встречаются мелкие пластоглобулы (рис. 1, *а*, *б*), крахмальные зерна обнаруживаются редко. Митохондрии обычно имеют небольшое количество крист и умеренно плотный матрикс (рис. 1, *а*, *б*). ЭР и аппарата Гольджи развиты слабо. Иногда наблюдаются мелкие вакуоли (рис. 1, *а*). Встречаются микротельца и миелоноподобные тела (рис. 1, *б*).

В клетках, системно инфицированных ВМС, наблюдались различные вирусиндуцированные изменения, степень которых коррелировала с экспрессией симптомов и соответственно с поражаемостью сорта.

Наиболее устойчивыми к действию инфекции были ядра, которые в зараженных клетках всех исследованных сортов обычно выглядели так же, как и в здоровых клетках (рис. 2, *а*, *б*).

Хлоропласты в инфицированных клетках слабопоражаемого сорта Чайка часто мало отличались от контроля (рис. 2, *б*). Иногда сравнительно нормальная структура хлоропластов, в определенной степени сохраняющих структурированность тилакоидов и гран, наблюдалась

и в зараженных клетках более поражаемых сортов (рис. 2, *в*). Однако обычно в этом случае в хлоропластах происходили различные аномальные изменения — формировались крупные пластоглобулы (рис. 2, *г*, *д*) и крахмальные зерна (рис. 2, *в*, *д*), набухали либо слипались тилакоиды (рис. 2, *г*), граны превращались в плотные аморфные образования (рис. 2, *в*, *е*), подвергалась деструкции наружная мембрана (рис. 2, *в*).

В митохондриях инфицированных клеток нередко выявлялась морфологически интактная оболочка и наблюдалось значительное количество крист, погруженных в умеренно плотный матрикс (рис. 2, *д*), что свидетельствует о высокой функциональной активности органелл (Заварзин, Харазова, 1982). Во многих зараженных клетках, однако, митохондрии подвергались различным деструктивным изменениям. Наиболее часто аномальные митохондрии встречались в инфицированных клетках сильнопоражаемых сортов. В ряде случаев у этих органелл нарушалась целостность оболочки, матрикс становился светлым, а кристы подвергались растворению (рис. 2, *а*, *е*—*з*). В светлом матриксе митохондрий могли обнаруживаться кольцевидные мембранные профили, образующиеся, вероятно, при деструкции крист (рис. 2, *е*). Иногда у митохондрий формировались инвагинации. На рис. 2, *е* представлена одна из таких митохондрий, инвагинация которой ассоциирована с вакуолью.

В зараженных клетках, особенно у сильнопоражаемых сортов, значительно стимулируются в сравнении со здоровыми клетками аппарат Гольджи и ЭР. На это указывают

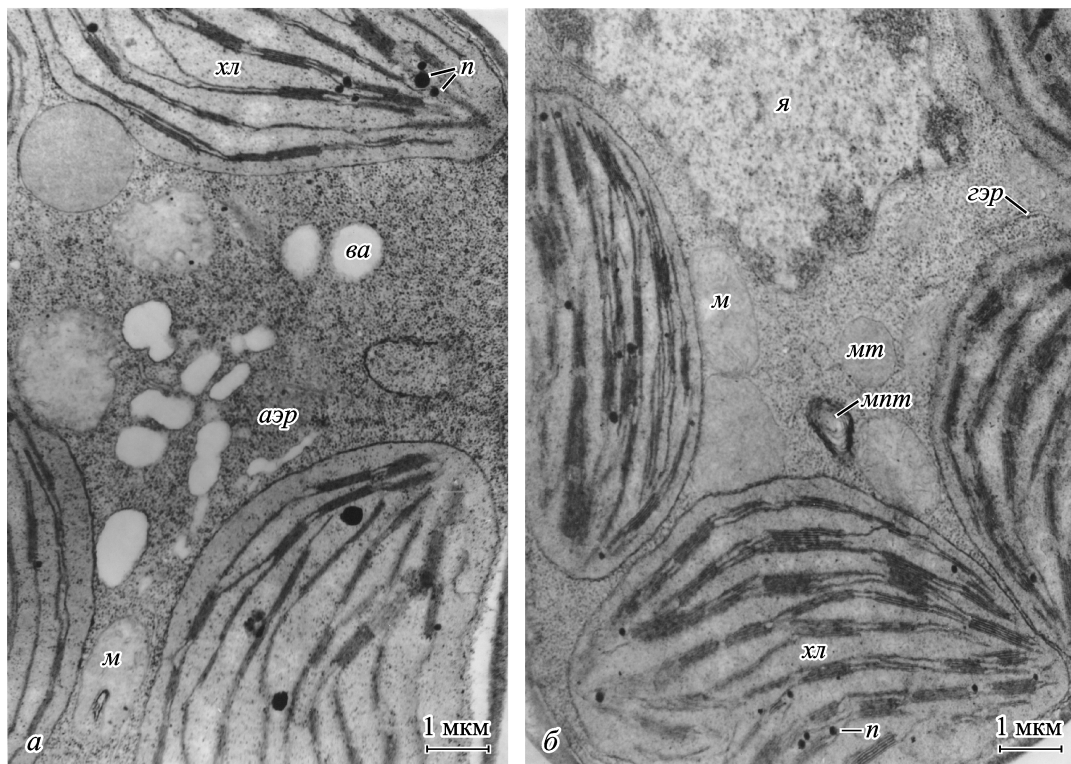


Рис. 1. Участки клеток мезофилла вторых тройчатых листьев растений сои сортов Приморская 529 (*а*) и Чайка (*б*).
я — ядро, хл — хлоропласт, n — пластоглобула, м — митохондрия, мм — микротело, гэр — гранулярный эндоплазматический ретикулум, аэр — агра-нулярный эндоплазматический ретикулум, ва — вакуоль, мпт — миелоноподобное тело.

Fig. 1. Parts of mesophyll cells of second trifoliate leaves of soybean plants cvs. Primorskaya 529 (*a*) and Chaika (*b*).
аэр — smooth endoplasmic reticulum, ва — vacuole, гэр — rough endoplasmic reticulum, м — mitochondrion, мм — microbody, мпт — myelin-like body, n — plastoglobule, хл — chloroplast, я — nucleus.

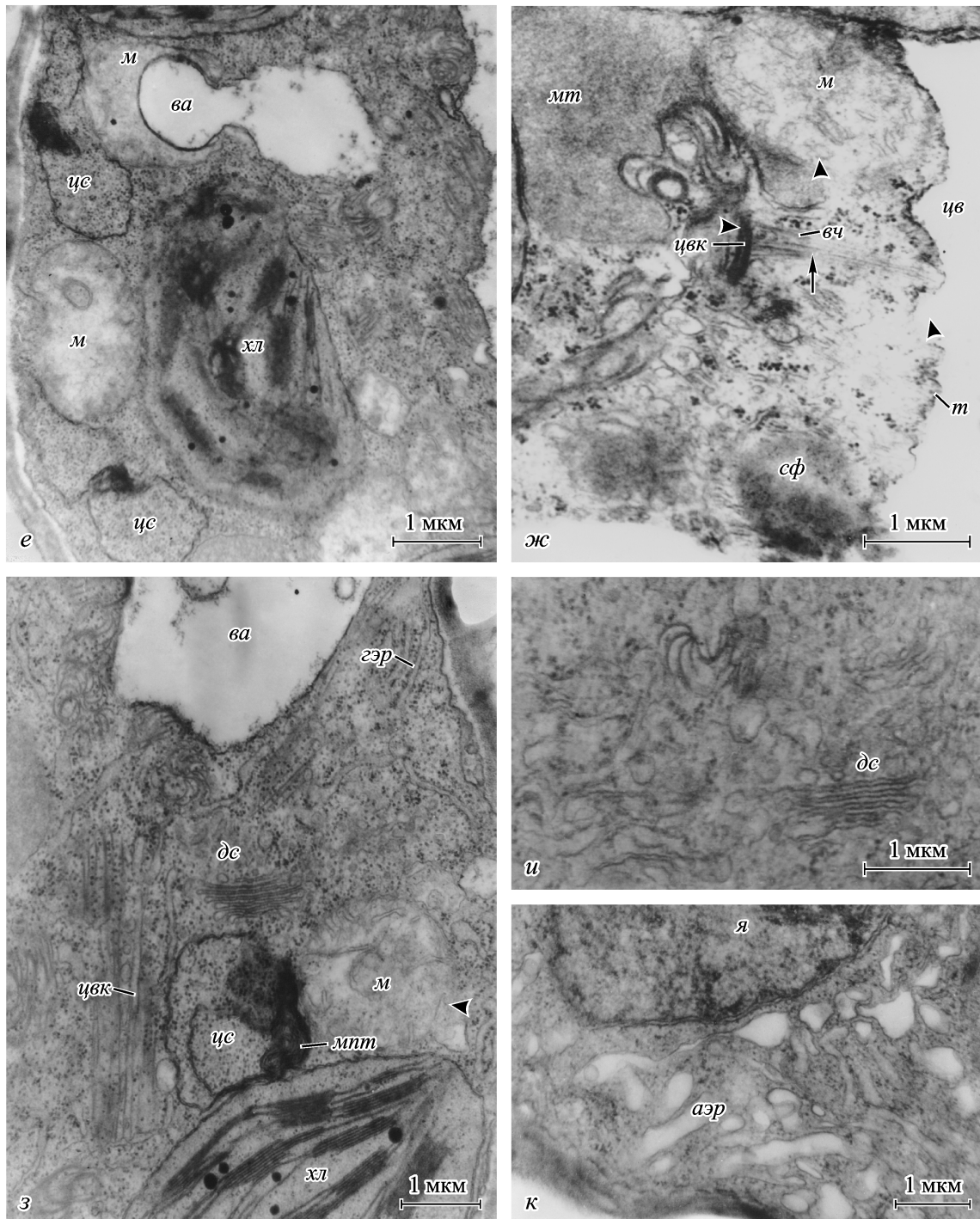


Fig. 2. The ultrastructure of mesophyll cells of second trifoliate leaves of soybean plants cvs. Primorskaya 529 (a, b, d, e, k, l, o, c), Lablona Prec (z, ж—u, m, n, n, p), and Chaika (o) systemically infected with SMV (10 days after plant infection).

In panel b, the right side chloroplast demonstrates a partially conserved structure of thylakoids and grana, while the left side chloroplast displays dense amorphous granules. Arrowheads show integrity disturbances in tonoplast (b, ж, m, n), outer membranes of chloroplast (b), mitochondria (b, e—z), and, also, indicate amorphous osmophilic parts of cylindrical inclusions (b, ж, m, n, n). Arrows show poorly stained SBM particles (l, m), and virions with varying contrast and diameter (ж), as well as parts of cylindric inclusions demonstrating a weak contrast (b, n, n). Asterisk (e) indicates mitochondrion, whose invagination is associated with a vacuole. av — autolytic vacuole, вч — virus particles, дс — dictyosome, кз — starch grain, лм — material undergoing lysis, cф — spherosome, м — tonoplast, цв — central vacuole, цвк — cylindrical inclusions, цс — cytoseresome. Other designations are the same as in Fig. 1.

часто наблюдаемые в инфицированных клетках (в отличие от здоровых) диктиосомы (рис. 2, з, u), секретируемые ими пузырьки (рис. 2, u), а также мембраны гранулярного (рис. 2, a, з) и агрегулярного (рис. 2, a, к) ретикулума. О вирусиндуцированной активации комплекса Гольджи и ЭР, коррелирующей с поражаемостью сорта, сви-

детельствуют и данные о поверхностной плотности диктиосом и ретикулярных мембран, полученные с помощью морфометрического анализа (см. таблицу). Следует отметить, что цистерны агрегулярного ретикулума в пораженных клетках часто приобретают набухший вид (рис. 2, к).

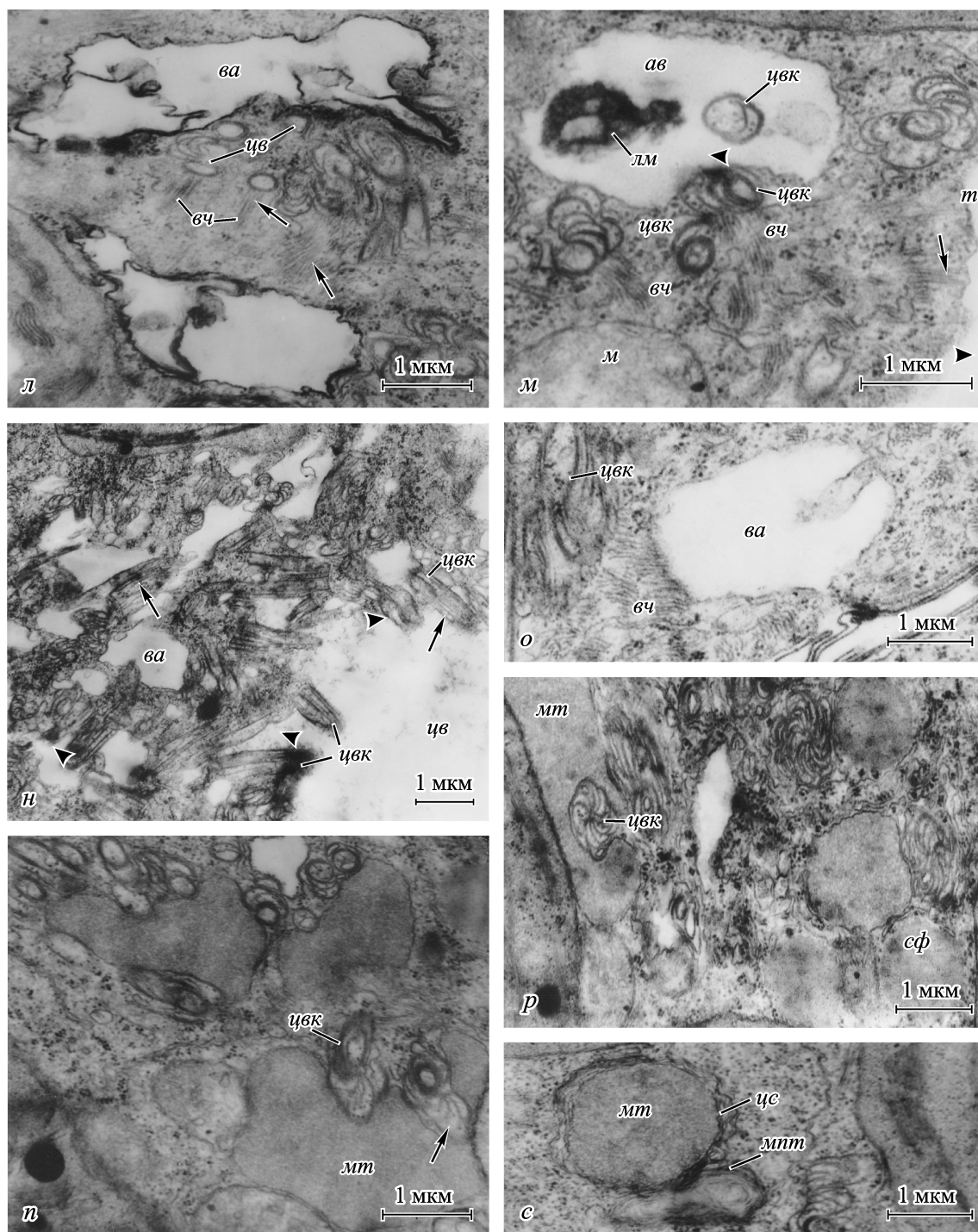


Рис. 2 (продолжение).

Одним из характерных вирусиндуцированных признаков клеток является образование в них цитоплазматических вакуолей (рис. 2, *з—е, л—о*), количество и объемная плотность которых, по данным морфометрического анализа, находятся в прямой зависимости от поражаемости сорта (см. таблицу). Иногда мембрана, ограничивающая вакуоли, отличалась повышенной осмиофильностью (рис. 2, *л*). Встречались автолитические вакуоли, в полости которых выявлялся лизируемый материал (рис. 2, *м*).

На срезах инфицированных клеток, особенно у сильнопоражаемых сортов, значительно чаще, чем на срезах

здоровых клеток, встречались микротельца (рис. 2, *н*), сферосомы (рис. 2, *д, ж, р*), цитосегресомы (рис. 2, *е, з, с*) и миелопоподобные тела (рис. 2, *з, с*).

В зараженных клетках сильнопоражаемых сортов наблюдались нарушения целостности тонопласта ЦВ (рис. 2, *в, ж, м, н, треугольник*). При этом участки цитозоля на границе с поврежденным тонопластом обычно выглядели просветленными. Подобные участки выявлялись и на границе с цитоплазматическими вакуолями, имеющими аномально осмиофильные мембраны (рис. 2, *л*).

Некоторые морфометрические параметры инфицированных ВМС и здоровых клеток мезофилла листьев сои

Параметр	Инфицированные сорта сои		Контроль (Приморская 529)
	Приморская 529	Чайка	
Площадь поверхности мембран гранулярного ЭР в 1 мкм ³ , мкм ²	1.30 ± 0.20	0.72 ± 0.08	0.25 ± 0.03
Площадь поверхности мембран агранулярного ЭР в 1 мкм ³ , мкм ²	1.55 ± 0.20	0.80 ± 0.09	0.20 ± 0.03
Площадь поверхности мембран диктиосом в 1 мкм ³ , мкм ²	0.70 ± 0.08	0.40 ± 0.05	0.09 ± 0.01
Число вакуолей в 100 мкм ³	8.20 ± 0.80	4.70 ± 0.05	2.10 ± 0.20
Объемная плотность вакуолей, % от объема клетки	4.30 ± 0.50	1.80 ± 0.20	0.80 ± 0.09
Число профилей частиц ВМС на 1 мкм ² среза клетки	2.50 ± 0.30	0.80 ± 0.09	—
Объемная плотность ЦВк, % от объема клетки	6.30 ± 0.70	2.40 ± 0.30	—

Примечание. Каждое среднее значение получено для 30 клеток. Стандартная ошибка вычислена с использованием *t*-критерия Стьюдента при $P = 95\%$.

Накопление ВМС в инфицированных клетках коррелировало с поражаемостью сорта. Количество профилей вирусных частиц в расчете на одинаковую площадь срезов клеток (1 мкм²) в сильнопоражаемом сорте Приморская 529 было в 3.1 раза выше, чем в менее поражаемом сорте Чайка (см. таблицу). Вирусные частицы были локализованы преимущественно в участках цитоплазмы, граничащих с ЦВ (рис. 2, ж, м), а также с цитоплазматическими вакуолями (рис. 2, л, м, о). Иногда вирионы находились в непосредственном контакте с вакуолярной мембраной (рис. 2, о). Во многих случаях наблюдаемые вирусные частицы имели повышенную плотность и выглядели набухшими, так что их диаметр превышал нормальный диаметр ВМС, равный 13 нм; в то же время выявлялись слабоконтрастные вирионы диаметром менее 13 нм (рис. 2, м). Следует отметить, что контрастность вирусных частиц и их диаметр часто уменьшались в участках цитозоля с пониженной электронной плотностью (рис. 2, л, м). Нередко наблюдались частицы ВМС, степень контрастирования которых, а соответственно и выявляемый диаметр значительно различались на отдельных участках вирионов. Подобные частицы представлены на рис. 2, ж: видно, что левая часть их имеет высокую плотность и диаметр, превышающий 13 нм, а правая выглядит слабоконтрастной и в различной степени «истончается».

Специфическим признаком развития в клетках ВМС-индуцированной инфекции является образование в них так называемых цилиндрических включений (ЦВк), являющихся диагностическим признаком вирусов, принадлежащих к роду *Potyvirus* (Edwardson, Christie, 1996). Наиболее активно такие включения формировались в клетках сильнопоражаемых сортов. Проведенный морфометрический анализ показал, что объемная плотность ЦВк в клетках сорта Приморская 529 была в 2.6 раза выше, чем в клетках сорта Чайка (см. таблицу). На поперечных срезах эти включения имели вид кольцевидных структур и завитков (рис. 2, в, г, ж, л, м, н) либо пинвилов («pinwheels») — расходящихся из одного центра тонких искривленных полос (рис. 2, а, б, р). На продольных срезах ЦВк приобретали форму различных ламинарных структур (рис. 2, а, б, з, н).

Часто ЦВк обнаруживались в участках цитоплазмы, граничащих с ЦВ (рис. 2, а, в, г, н). В таких участках цело-

стность тонопласта могла быть нарушена (рис. 2, в) либо он не выявлялся вообще (рис. 2, н), а ЦВк обычно утрачивали нормально присущую им структурированность: одни из них слипались и приобретали повышенную осmioфильность, другие, напротив, становились разрыхленными и слабоконтрастными (рис. 2, в, н). В ряде случаев ЦВк были локализованы вблизи цитоплазматических вакуолей (рис. 2, л—н). При этом электронная плотность их могла как снижаться (рис. 2, л, н), так и повышаться (рис. 2, н). Иногда ЦВк обнаруживались в полости вакуолей. Одно из таких включений на рис. 2, м локализовано в автолитической вакуоли, в которой наряду с ним выявляется плотный аморфный (очевидно, подвергнувшийся автолизу) материал; следует отметить различную степень контрастирования левой и правой частей наблюдаемого включения. Заметим также, что представленные на этом рисунке ЦВк, контактирующие с мембраной автолитической вакуоли, видимо, претерпевают аномальные изменения, в результате чего в месте контакта слипаются и приобретают повышенную плотность.

Во многих случаях ЦВк наблюдались в инвагинациях микротелец и прилегающих к ним участках цитоплазмы (рис. 2, ж, н, р). При этом включения могли быть частично слипшимися, осmioфильными (рис. 2, ж, н) либо, напротив, становились слабоконтрастными и, вероятно, подвергались дезинтеграции (рис. 2, н). Само пространство, заключенное в инвагинациях микротелец, нередко выглядело более светлым, чем окружающий цитозоль (рис. 2, н).

Обсуждение

Полученные результаты показывают, что основные изменения в инфицированных ВМС клетках листьев растений сои, наиболее выраженные в сильнопоражаемых сортах, отражают стимуляцию литических процессов.

В соответствии с существующими представлениями (Белицер, 1978; Реунов, 1999), к таким изменениям прежде всего относятся активация аппарата Гольджи и агранулярного ЭР, образование цитоплазматических (в том числе автолитических) вакуолей, цитосегресом и миелоноподобных тел. Наблюдаемые в инфицированных ВМС клетках митохондрии, утрачивающие матрикс и кристы, а также мито-

хондри с инвагинациями, как известно (Oliveira, 1975; Роговин, Фомина, 1983; Реунов и др., 1986; Реунов, Лега, 2000), обладают необычной для этих органелл автолитической функцией. Формирующиеся в большом количестве в инфицированных клетках микротельца, часто имеющие инвагинации, с учетом некоторых данных (Васильев, 1972; Гамалей, 1972; Corpas et al., 1993; Gietl et al., 1997; Schmid et al., 1999; Реунов, Лега, 2000; Stewart et al., 2002) также могут проявлять литическую, в том числе автофаговую (Реунов, Лега, 2000) активность. Кроме того, литической функцией могут обладать сферосомы (Wilson, 1973; Matile, 1975; Rinne et al., 2001), образование которых в ответ на заражение клеток ВМС заметно стимулируется.

Тот факт, что агранулярный ЭР в зараженных ВМС клетках сои, так же как и в инфицированных различными вирусами клетках многих других растений (см.: Реунов, 1999), часто имеет набухший вид, может свидетельствовать об утрате ретикулярными мембранами барьерных свойств, что должно приводить к высвобождению гидролаз в цитоплазму. О выходе кислой фосфатазы из набухающих цистерн ЭР в цитоплазму клеток при вирусном поражении сообщалось ранее (Реунов, Лапшина, 1985).

Нередко наблюдаемая в инфицированных ВМС клетках сильнопоражаемых сортов необычно высокая осмиофильность мембран, ограничивающих вакуоли, также может указывать на нарушение их барьерной функции и возможный выход гидролаз из внутривакуолярного пространства в цитозоль.

Следствием ВМС-индуцированной стимуляции литических процессов являются выявляемые в инфицированных клетках аномальные изменения — деструкция тонопласта вакуолей, просветление цитозоля и различные нарушения в структуре органелл.

Аномальные (набухшие и «источенные») частицы ВМС, по-видимому, появляются в инфицированных клетках вследствие деструкции вирионов. Мы полагаем, что при изменении окружающих вирус условий в клетках (например, при изменении pH) происходят изменения в конформации белка субъединиц капсида вирионов (частичное разрыхление и расплетание клубков). В результате вирионы приобретают набухший вид и лучше окрашиваются контрастирующими веществами. Расплетенные участки полипептидов, вероятно, «отрезаются» в процессе протеолиза по пептидным связям, что приводит к истончению вирионов и менее интенсивному их окрашиванию. Можно предположить, что различная степень контрастирования, а соответственно и разный диаметр вирионов, наблюдаемые нами на их отдельных участках (рис. 2, *ж*), обусловлены различной степенью протеолиза капсидного белка на этих участках.

Подобные представления высказывались нами ранее о внутриклеточной деструкции ВТМ и ХВК (Реунов, 1989). Было показано (Реунов, 1989; Reunov et al., 1996), что как набухшие, так и «тонкие» вирионы обнаруживаются не только на срезах инфицированных клеток, но и в негативно контрастированных фосфорно-вольфрамовой кислотой препаратах, приготовленных из зараженных тканей. Сообщалось также (Everitt et al., 1988) о том, что сходным образом происходит деструкция белков аденовируса 2: при низких pH гексоны этого вируса изменяют свою конформацию так, что их участки, чувствительные к действию протеаз, экспонируются наружу и подвергаются протеолизу.

Деструктивным изменениям под действием гидролаз, видимо, подвергаются и ЦВк, состоящие (Hiebert, McDo-

nald, 1973) из вирусодируемого белка. Это проявляется, так же как и в случае вирусных частиц, в аномально повышенной либо пониженной осмиофильности включений. Наблюдаемая на рис. 2, *м* различная степень окрашивания левой и правой частей наблюдаемого в автолитической вакуоли ЦВк, вероятно, обусловлена различной степенью автолиза белка в этих частях данного включения.

Значительный интерес представляет обнаружение нами ЦВк в инвагинациях микротельца, в которых эти включения нередко выглядели необычно осмиофильными либо слабоконтрастными и, видимо, подвергались деструктивным изменениям. Известно, что микротельца могут содержать гидролазы (Corpas et al., 1993; Gietl et al., 1997; Schmid et al., 1999; Stewart et al., 2002) и, как уже отмечалось, способны проявлять литическую (Васильев, 1972; Гамалей, 1972; Реунов, Лега, 2000), в том числе и автофаговую (Реунов, Лега, 2000), активность. Поэтому резонно предположить, что микротельца, в инвагинациях которых обнаруживаются ЦВк, выполняют в отношении этих включений автофаговую функцию. Проявление микротельцами подобной функции (функции «охотников за ЦВк») с учетом полученных данных об участии ЦВк в репликации (Ammar et al., 1994) и межклеточном транспорте (Rodriguez-Cerezo et al., 1997; Roberts et al., 1998) потивирусов, вероятно, представляет собой одну из защитных клеточных реакций, препятствующих репродукции ВМС.

В целом представленные данные позволяют заключить, что степень активации литических процессов в инфицированных ВМС сортах сои находится в прямой корреляции с симптомами на листьях зараженных растений, а соответственно и с поражаемостью сорта. Видимо, активация лизосомного компартмента, обуславливающая разрушение вирусных частиц и вирус-специфических ЦВк и, следовательно, имеющая защитное значение, в то же время вызывает и деструкцию клеточных элементов, т. е. поражение клеток. Эти данные находятся в соответствии с результатами, полученными ранее при ультраструктурном исследовании клеток различных сортов табака и картофеля, инфицированных соответственно ВТМ (Реунов, 1989) и ХВК (Реунов и др., 1999), а также клеток листьев дурмана при заражении их различающимися по патогенности штаммами ХВК (Реунов, 1989).

Фактором поражения клеток ВМС, вероятно, является и интенсивное формирование в них ЦВк, в биогенезе которых используются метаболиты, необходимые для клеточных синтезов. Подобная точка зрения относительно роли ЦВк в развитии патогенеза у растений, пораженных потивирусами, высказывалась ранее и другими авторами (Chamberlain et al., 1977; Groschel, Jank-Ladwig, 1977).

Список литературы

- Белицер Н. В. 1978. Лизосомная система и микротельца в клетках растений и животных: Автореф. докт. дис. Л. 48 с.
- Васильев А. Е. 1972. Проблемы эндоцитоза и автофагии в растительной клетке. В кн.: Ультраструктура растительных клеток. Л.: Наука. 3—60.
- Гамалей Ю. В. 1972. Цитологические основы дифференциации ксилеммы. Л.: Наука. 144 с.
- Заварзин А. А., Харазова А. Д. 1982. Основы общей цитологии. Л.: ЛГУ. 240 с.
- Киселева Е. В., Шилов А. Г., Христоробова Н. Б. 1974. Методы оценки основных стереологических параметров. В кн.:

Применение стереологических методов в цитологии. Новосибирск: Ин-т цитологии и генетики. 33—53.

Поливанова Т. А., Зайцева Н. М., Слепухина Л. П., Степаненко В. И. 1977. Вирус мозаики сои и его штаммы. В кн.: Штаммы вирусов растений. Владивосток: ДВНЦ АН СССР. 46 : 204—211.

Реунов А. В. 1989. Цитопатология пораженной вирусами (ВТМ, ХВК) растительной клетки и проблема устойчивости растений: Автореф. докт. дис. Киев. 36 с.

Реунов А. В. 1999. Вирусный патогенез и защитные механизмы растений. Владивосток: Дальнаука. 175 с.

Реунов А. В., Лапшина Л. А. 1983. Электронно-микроскопическое изучение влияния актиномина D на репродукцию Х-вируса картофеля в клетках мезофилла листьев дурмана. Цитология. 25 (9) : 1019—1025.

Реунов А. В., Лапшина Л. А. 1985. Локализация кислой фосфатазы в клетках мезофилла листьев дурмана, системно инфицированных Х-вирусом картофеля. Цитология. 27 (5) : 599—602.

Реунов А. В., Лапшина Л. А., Нагорская В. П. 1999. Сравнительное исследование ультраструктуры паренхимных клеток листьев картофеля различных сортов, системно инфицированных Х-вирусом картофеля. Цитология. 41 (10) : 871—875.

Реунов А. В., Лапшина Л. А., Рейфман В. Г. 1986. Об аномальных митохондриях в клетках базальной зоны здоровых и инфицированных ВТМ верхушечных листьев табака. Цитология и генетика. 20 (3) : 209—211.

Реунов А. В., Лега С. Н. 2000. Ультраструктурное изучение локальных поражений и прилегающих к ним тканей на инфицированных вирусом табачной мозаики листьях *Gomphrena globosa* L. Изв. РАН. Сер. биол. 3 : 387—391.

Роговин В. В., Фомина В. А. 1983. Новая автофаговая функция митохондрий. Изв. АН СССР. Сер. биол. 6 : 923—924.

Такахаси К., Танака Т., Инда И. 1969. Изучение вирусов сои и их штаммов в Японии. В кн.: Вирусные болезни сельскохозяйственных культур Дальнего Востока. Владивосток: ДВФ СО АН СССР. 1 : 119—138.

Ammar E. D., Rodriguez-Cerezo E., Shaw J. G., Pirone T. P. 1994. Association of virions and coat protein of tobacco vein motting potyvirus with cylindrical inclusions in tobacco cells. Phytopathology. 84 : 520—524.

Chamberlain J. A., Catherall P. L., Jeleings A. J. 1977. Symptoms and electron microscopy of ryegrass mosaic virus in different grass species. J. Gen. Virol. 36 : 297—306.

Corpas F. J., Palma J. M., Delrio L. A. 1993. Evidence for the presence of proteolytic activity in peroxisomes. Eur. J. Cell Biol. 61 : 81—85.

Edwardson J. R., Christie R. G. 1996. Cylindrical inclusions. Univ. Florida. 79 p.

Everitt E., Persson M. J., Wohlfart C. 1988. pH-dependent exposure of endoproteolytic cleavage sites of the adenovirus 2 hexon protein. FEMS Microbiol. Lett. 49 : 229—233.

Gietl C., Wimmer B., Adamec J., Kalousek F. 1997. A cysteine endopeptidase isolated from castor bean endosperm microbodies processes the glyoxysomal malate dehydrogenase precursor protein. Plant Physiol. 113 : 863—871.

Groschel H., Jank-Ladwig R. 1977. «Pinwheel»-Nachweis in Lokallesionen von *Chenopodium quinoa* nach Infektion mit dem Spargelvirus. 1. Phytopathol. Z. 88 : 180—183.

Hiebert E., McDonald J. G. 1973. Characterization of some proteins associated with viruses in the potato Y group. Virology. 56 : 349—361.

Matile P. 1975. The lytic compartment of plant cells. New York: Springer-Verlag. 183 p.

Matthews R. E. E. 1981. Plant virology. New York etc: Acad. Press. 897 p.

Oliveira L. 1975. Self-degeneration of mitochondria in the root cap cells of Triticale. Its contribution to the development of the vacuolar apparatus and significance for senescence. Caryologia. 28 : 511—523.

Reunov A. V., Reunova G. D., Nagorskaya V. P., Lapshina L. A., Lega S. N. 1996. Destruction of tobacco mosaic virus in developing local lesions in leaves of *Datura stramonium* L. Acta phytopathol. entomol. Hung. 31 : 11—17.

Rinne P. L. H., Kaikuranta P. M., van der Schoot C. 2001. The shoot apical meristem restores its symplasmic organization during chilling-induced release from dormancy. Plant J. 26 : 249—264.

Roberts I. M., Wang D., Findlay K., Maule A. J. 1998. Ultrastructural and temporal observations of the potyvirus cylindrical inclusions (CIs) show that the CI protein acts transiently in aiding virus movement. Virology. 245 : 173—181.

Rodriguez-Cerezo E., Findlay K., Shaw J. G., Lomonosoff G. P., Qiu S. G., Linstead P., Shanks M., Risco C. 1997. The coat and cylindrical inclusion proteins of a potyvirus are associated with connections between plant cells. Virology. 236 : 296—306.

Schmid B., Simpson D., Gietl C. 1999. Programmed cell death in castor bean endosperm is associated with the accumulation and release of a cysteine endopeptidase from ricinosomes. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 96 (240) : 14 159—14 164.

Stewart M. Q., van Dijk R., Veehnus M., Goodman J. M. 2002. Monomeric alcohol oxidase is preferentially digested by a novel protease from *Candida boidinii*. Biochim. biophys. acta. 1542 : 160—172.

Van Loon L. C. 1987. Disease induction by plant viruses. Adv. Virus Res. 33 : 205—255.

Wilson C. L. 1973. A lysosomal concept for plant pathology. Ann. Rev. Phytopathol. 11 : 247—272.

Поступила 24 III 2005

ULTRASTRUCTURE OF PARENCHYMAL LEAF CELLS OF DIFFERENT SOYBEAN VARIETIES SYSTEMICALLY INFECTED WITH SOYBEAN MOSAIC VIRUS

A. V. Reunov,¹ L. A. Lapshina,¹ V. P. Nagorskaya,¹ A. M. Polyakova,² S. N. Lega,² *

¹ Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, and ² Institute of Biology and Soil Science, Far East Branch of RAS, Vladivostok; * e-mail: piboc@stl.ru

A comparative study was made of the ultrastructure of parenchyma leaf cells of different soybean varieties systemically infected with soybean mosaic virus (SMV). It has been shown that virus accumulation and formation of virus-specific cylindrical inclusions (CIs) occur in the infected cells, in addition to intracellular changes showing stimulation of lytic processes, such as activation of smooth endoplasmic reticulum and Golgi apparatus, formation of cytoplasmic vacuoles, cytosomes, myelin-like bodies, different disturbances in the structure of cell organelles. Many infected cells demonstrated microbodies with invagination in which cylindrical inclusions were often found showing signs of destruction. It is suggested that such microbodies possess autophagic activity towards CIs. A possible relation of the observed virus-induced ultrastructural cell changes with the degree of SMV affection of investigated varieties is discussed