МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНО-ЕКОНОМІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

«СТАН І ПЕРСПЕКТИВИ РОЗРОБКИ ТА ВПРОВАДЖЕННЯ РЕСУРСООЩАДНИХ, ЕНЕРГОЗБЕРІГАЮЧИХ ТЕХНОЛОГІЙ ВИРОЩУВАННЯ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ КУЛЬТУР»

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНО-ЕКОНОМІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

«СТАН І ПЕРСПЕКТИВИ РОЗРОБКИ ТА ВПРОВАДЖЕННЯ РЕСУРСООЩАДНИХ, ЕНЕРГОЗБЕРІГАЮЧИХ ТЕХНОЛОГІЙ ВИРОЩУВАННЯ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ КУЛЬТУР»

IV МІЖНАРОДНА НАУКОВО-ПРАКТИЧНА КОНФЕРЕНЦІЯ

20 листопада 2019 р.
м. Дніпро

м. Дніпро – 2019

УДК 338.43
ББК 65.9 (4 Укр) 321–49
С – 76

Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції «Стан і перспективи розробки та впровадження ресурсоощадних, енергозберігаючих технологій вирощування сільськогосподарських культур» (м. Дніпро, 20 листопада 2019 р.). – Дніпро: ДДАЕУ, 2019. – 306 с.

Посвідчення УкрІНТЕІ № 561 від 15.10.2019 р.

Збірник містить матеріали за науковими напрямами: інноваційні розробки в технологіях вирощування сільськогосподарських культур; сучасні досягнення в селекції і насінництві сільськогосподарських рослин; енергозберігаючі технології у землеробстві; новітні технології у захисті рослин; перспективи розвитку природного агровиробництва.

УДК 338.43
ББК 65.9 (4 Укр) 321–49

© Дніпровський державний
аграрно-економічний університет, 2019

НАУКОВО-ПРАКТИЧНІ АСПЕКТИ ВИКОРИСТАННЯ РЕАКЦІЇ ІМУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦІЇ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ КАРАНТИННИХ ОРГАНІЗМІВ У РОСЛИННОМУ МАТЕРІАЛІ

О.Є. МАРКОВСЬКА, *доктор сільськогосподарських наук, професор*
ДВНЗ «Херсонський державний аграрний університет», Україна
О.С. КОКОВІХІНА, *провідний фахівець*
Державна установа «Херсонська обласна фітосанітарна лабораторія»
E-mail: mark.elena@ukr.net

Важливим питанням у сфері захисту рослин є підвищення якості та прискорення темпів діагностування рослинних матеріалів на наявність важко ідентифікованих карантинних організмів, переважно бактеріальної та вірусної етіологій, які за використання звичайних методик можуть давати похибки, є залежними від зовнішніх факторів, складні та пролонговані у часі.

За останніми рекомендаціями під час експертизи зразків об'єктів регулювання з метою виявлення бактеріальних патогенів, занесених до Переліку регульованих шкідливих організмів, необхідно використовувати європейські стандарти – робочі інструкції (РМ), розроблені ЄОЗР (Європейська та Середземноморська організація захисту рослин), які передбачають використання імуноферментного аналізу, полімеразних ланцюгових реакцій та реакцій імунофлюоресценції. Останній метод діагностики є найшвидшим, порівняно з іншими, і має низку характерних переваг.

Явище імунофлюоресценції використовується для світлової мікроскопії, головним чином, мікробіологічних зразків, при застосуванні флуоресцентного мікроскопа. Ця методика базується на специфічності антитіл до їх антигену для орієнтації флуоресцентних барвників на конкретні біомолекулярні цілі всередині клітини, і тому дозволяє візуалізувати мічену молекулу.

Реакція імунофлюоресценції заснована на використанні флюорохромів, хімічно пов'язаних (кон'югованих) з антитілом (АТ). При цьому мічені АТ (в складі антисироваток) зберігають імунологічну специфічність і вступають у взаємодію з чітко визначеними корпускулярними антигенами (АГ). Комплекси АГ з міченими АТ можна легко визначати за інтенсивним мерехтінням при дослідженні препарату.

Принцип дії реакції імунофлюоресценції схожий на імуноферментний аналіз, однак має принципово важливі переваги: виконується за кілька годин, у той час як ІФА – два дні; дозволяє працювати з невеликими об'ємами зразків, що викликає складнощі при виконанні тесту ELISA; не вимагає додаткового обладнання, крім мікроскопу, на відміну від імуноферментного аналізу, де

застосовується інкубатор, промивач та аналізатор, і реакції ПЛР із використанням асептичних спеціалізованих кімнат.

Найпоширенішими є два різновиди методу імунофлюоресценції – прямий (direct) та непрямий (indirect).

Прямий метод РІФу заснований на тому, що антигени (в даному випадку – рослинні патогени), оброблені імунними сироватками з відповідними до них антитілами, що мічені флюорохромами, здатні світитися в ультрафіолетових променях люмінесцентного мікроскопа.

Непрямий метод РІФу передбачає створення комплексу антиген-антитіло за допомогою антиглобулінової сироватки, міченої флюорохромом. Для цього проби обробляють антитілами, згодом антитіла, які не зв'язалися антигенами, відмивають, а до фіксованих додають антиглобулінову сироватку, мічену флюорохромом. Утворений комплекс спостерігають у люмінесцентному мікроскопі, як і при прямому методі.

Пряма імунофлюоресценція дещо рідша, але має помітні переваги, порівняно з непрямою. Безпосереднє приєднання «мітки» до антитіла зменшує кількість етапів процедури, економлячи час та зменшуючи неспецифічний фоновий сигнал. Оскільки кількість флуоресцентних молекул, які можуть бути пов'язані з первинним антитілом, обмежена, пряма імунофлюоресценція істотно менш чутлива, ніж непряма і може спричинити помилкові негативи. Також вона вимагає використання набагато більшої кількості первинних антитіл, що впливає на вартість операції.

Непряма імунофлюоресценція використовує два антитіла: перше, яке зв'язує патоген, і друге, яке несе фторофор. Вони розпізнаються одне одним і зв'язуються. Декілька вторинних антитіл можуть зв'язувати одне первинне антитіло, що забезпечує посилення сигналу за рахунок збільшення кількості молекул фторофору на антиген. Виконання непрямої реакції є більш складним і трудомістким процессом, однак вона забезпечує більшу точність.

Для здійснення самої експертизи необхідні спеціальні предметні скельця, дослідний матеріал з ймовірним антигеном та специфічна сироватка (антитіла, мічені флюорохромами). Після інкубації та відмивки, проводять зчитування результатів за допомогою імунофлюоресцентного мікроскопу, призначеного для спостереження зображення об'єктів у світлі видимої люмінесценції.

Отже, реакція імунофлюоресценції – це швидкий, надійний та якісний спосіб встановлення наявності чи відсутності в рослинному матеріалі шуканого патогена, який має ряд переваг над іншими методами діагностики.