

Т. Ю. Сабирова, О. Й. Лозовая, Л. В. Юзвенко, Н. В. Жидкевич,
Л. Ф. Диденко, член-корреспондент НАН Украины Н. Я. Спивак

Фиторабдовирусы как регрессирующий фактор растительной опухоли

*При инкубировании растительных опухолей, индуцированных *Agrobacterium tumefaciens*, с различными рабдовирусами — вирусом кучерявой карликовости картофеля (ВККК), вирусом ожога гречихи (ВОГ) и вирусом везикулярного стоматита (ВВС), отмечена регрессия опухолей на 58, 44 и 74,5% соответственно.*

Опухоли растений, индуцированные *Agrobacterium tumefaciens*, представляют особый интерес, поскольку они характеризуются основными свойствами, присущими злокачественным новообразованиям человека и животных, такими как агрессивность, автономный нерегулируемый рост и трансплантабельность [1]. Поэтому растительные опухоли используют в качестве экспериментальной модели с целью выявления определенных фундаментальных биологических концепций, которые являются основой для понимания онкогенеза в целом и изучения противоопухолевого действия препаратов [2]. Противоопухолевые препараты, используемые в терапии заболеваний человека и животных, ингибируют и опухоли растений, вызывая в оптимальных дозах их полную регрессию. Кроме того, показано, что индуцированные опухоли растений развиваются по тем же кинетическим законам, что и опухоли человека и животных [3].

Терапия, основанная на способности избирательного лизиса злокачественных клеток онколитическими вирусами, в том числе и рабдовирусом — вирусом везикулярного стоматита человека (ВВС), является прогрессивным направлением в расширении возможностей лечения и профилактики онкологических заболеваний [4].

Фиторабдовирус вирус ожога гречихи (ВОГ) по своей структурной и функциональной организации имеет много общих свойств с представителем семейства *Rhabdoviridae* — ВВС [5]. И свидетельством тому является то, что ВОГ вызывает индукцию апоптоза злокачественных клеток саркомы 37 [6].

Известно, что каланхое служит в качестве модельного растения для изучения опухолевого процесса, индуцируемого *A. tumefaciens*. Исходя из этого, представляло интерес исследовать влияние рабдовируса на развитие растительной опухоли, индуцируемой *A. tumefaciens*. С целью индуцированного онкогенеза в центральную жилку листа растения каланхое вводили 0,05 мл двухсуточной культуры бактерий высоковирулентного штамма 8628 *A. tumefaciens*, содержащей $1 \cdot 10^8$ клеток/мл.

На опытных растениях первичные симптомы опухолей, индуцируемые *A. tumefaciens*, появлялись на 10–30-е сутки. Размеры опухоли определяли по формуле $P = \pi abc/4$, где π — удельная масса опухолевой ткани; a , b , c — соответственно ширина, длина, высота опухоли. Удельная масса опухолевой ткани приближается к единице, поэтому количественная масса опухоли приравнивается к ее объему [2].

Проведенные исследования показали, что вирусные препараты ВККК (вирус кучерявой карликовости картофеля), ВОГ и ВВС при инкубировании с растительной опухолью вызывают регрессию опухолей с последующей ее некротизацией (рис. 1). В опухолях, кон-

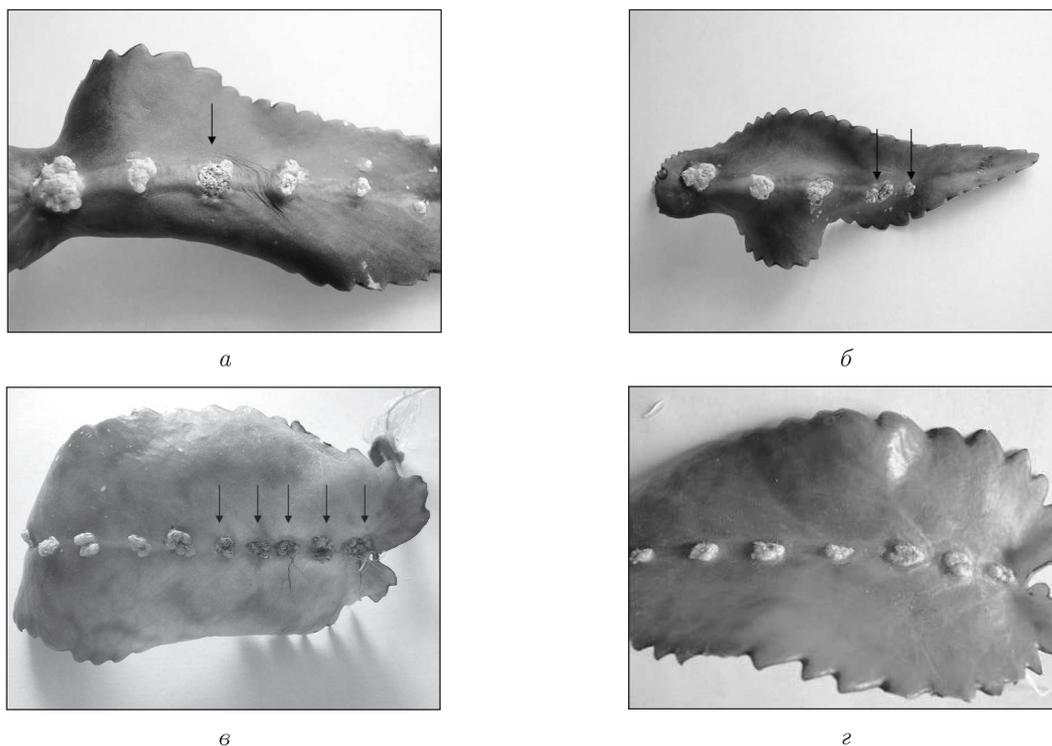


Рис. 1. Листья каланкое с опухолями (стрелкой показана опухоль, которая контактировала с вирусным препаратом): *a* – ВККК; *б* – ВОГ; *в* – ВВС; *г* – контроль

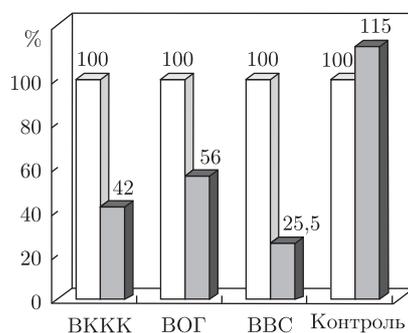


Рис. 2. Процентное соотношение массы опухолей до инкубации с вирусами (светлые столбики) и через 2 недели после инкубации (затемненные столбики)

тактируемых с ВККК и ВОГ, через неделю наблюдалось потемнение их поверхности и замедление роста в результате образования на них некрозов. При длительном контакте с ВВС также произошла деструкция опухолей в результате их некротизации.

В контрольных растениях, с развитой опухолью, которые обрабатывали буферным раствором без вируса, наблюдали слабое потемнение раневой поверхности опухоли и незначительное торможение ее роста. Через некоторое время рост опухоли в контрольных растениях возобновился. В целом, растительные опухоли, контактируемые с вирусными препаратами ВККК, ВОГ и ВВС, через 2 недели уменьшились в размерах на 58, 44 и 74,5% соответственно (рис. 2).

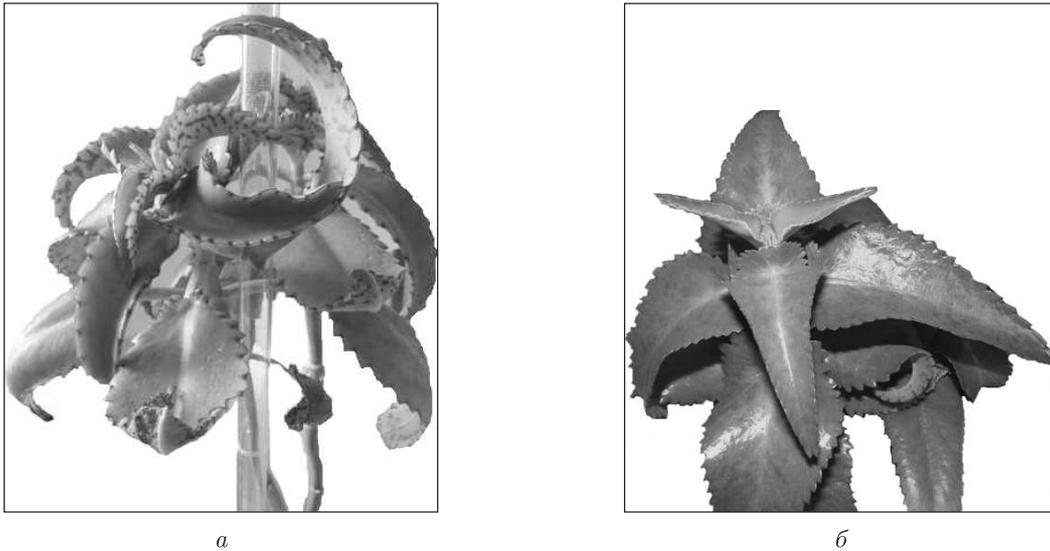


Рис. 3. Симптомы заболевания каланхое, инфицированного ВОГ: *а* — инфицированное ВОГ растение; *б* — контрольное растение

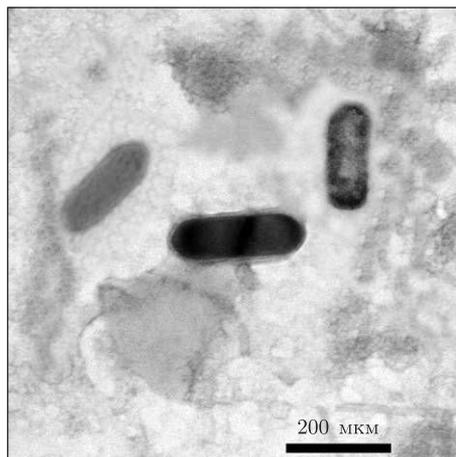


Рис. 4. Электронная микроскопия вирусных частиц ВОГ

Вместе с тем представляло интерес исследовать влияние репродукции ВОГ в растениях каланхое на онкогенез, индуцированный *A. tumefaciens*. С этой целью листья растений каланхое инфицировали ВОГ, которому присуща способность поражать многие виды растений из многочисленных семейств [7]. Инфицирование проводили механическим способом с использованием целлита. Симптомы вирусного заболевания, вызванного ВОГ, на растениях каланхое проявились в деформации нижних листьев с последующим их засыханием, а на верхушках инфицированных растений появлялась кучерявость и мелколистность (рис. 3). Репродукция ВОГ подтверждена и электронномикроскопическим методом, посредством которого в соке инфицированных растений выявлены вирусные частицы (рис. 4).

Инфицированные ВОГ растения каланхое инокулировали *A. tumefaciens* с целью образования на них опухолевого процесса. Однако на листьях каланхое, инфицированных рабдовирусом, не отмечалось развитие опухолей, индуцированных *A. tumefaciens*.

Полученные данные свидетельствуют о том, что фиторабдовирусы ВОГ и ВККК и зоорабдовироз ВВС ингибируют развитие растительных опухолей.

Таким образом, растительные опухоли в будущем можно использовать в качестве экспериментальной модели для изучения процессов растительного онкогенеза и противоопухолевого действия различных биопрепаратов.

1. Braun A. C. A history of the crown gall problem // Molecular biology of plant tumors/ Ed. G. Kahl, J. Schell. – New York; London: Acad. Press., 1982. – P. 155–209.
2. Потопальський А. І., Ткачук З. Ю. Пухлини і нарости у рослин. – Київ: Вища шк., 1985. – 184 с.
3. Зоз Н. М., Серебряный Л. М., Колоденков П. В. и др. Ингибирование роста опухолей растений N-нитро-N-метил мочевиной. Опухоли растений // Докл. АН СССР. – 1977. – **233**, – № 1. – С. 242–244.
4. Balachandran S., Porosnicu M., Barber G. N. Oncolytic activity of vesicular stomatitis virus is effective against tumors exhibiting aberrant p 53, Ras. Or myc function and involves the induction of apoptosis // J. Virol. – 2001. – **75**. – P. 3474–3479.
5. Юзвенко Л. В., Серденко О. Б., Діденко Л. Ф., Варбанець Л. Д., Шевчук В. К., Співак М. Я. Фізико-хімічні властивості вірусного опіку гречки // Доп. НАН України. – 2010. – № 1. – С. 170–174.
6. Spivak N. Ya., Yuzvenko L. V., Lozova O. J., Levchuk O. B., Didenko L. F. et al. Induction of apoptosis of malignant cells of the sarcoma 37 by phytorabdovirus BBV // Вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. Біологія. – 2010. – No 27. – С. 40–41.
7. Шевчук В. К., Довгань С. В., Діденко Л. Ф., Демченко О. А., Юзвенко Л. В., Серденко О. Б., Співак М. Я. Вірусний опік гречки в Україні // Карантин і захист рослин. – 2008. – № 11. – С. 13–15.

Институт микробиологии и вирусологии
им. Д. К. Заболотного НАН Украины, Киев

Поступило в редакцию 01.03.2012

**Т. Ю. Сабірова, О. Й. Лозова, Л. В. Юзвенко, Н. В. Жидкевич,
Л. Ф. Діденко, член-кореспондент НАН України Н. Я. Співак**

Фіторабдовіруси як регресуючий фактор рослинної пухлини

*При інкубації рослинних пухлин, індукованих *Agrobacterium tumefaciens*, з різними рабдовирусами – вірусом кучерявої карликовості картоплі (ВККК), вірусом опіку гречки (ВОГ) і вірусом везикулярного стоматиту (ВВС), виявлено регресію пухлин на 58, 44 і 74,5% відповідно.*

**T. Yu. Sabirova, O. Yo. Lozova, L. V. Yuzvenko, N. V. Zhitkevich,
L. F. Didenko, Corresponding Member of the NAS of Ukraine N. Ya. Spivak**

Phytorhabdoviruses as a regressive factor of plant tumors

*During the incubation of *Agrobacterium tumefaciens*-induced plant tumors with different rhabdoviruses (potato curly dwarf virus (PCDV), viral burn of buckwheat (VBB), and vesicular stomatitis virus (VSV)), the regression of tumors by 58, 44, and 74.5%, respectively, is revealed.*