

УДК 579.6

А. Л. Бойко, доктор біологічних наук, академік НААН
ІНСТИТУТ АГРОЕКОЛОГІЇ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ НААН

ВИКОРИСТАННЯ ВІРУСІВ У БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСАХ

У статті подано результати багаторічних досліджень із використання вірусів у біотехнологічних процесах. При цьому більшість результатів цих технологій базується переважно на фітовірусах різних таксономічних груп, які уражують сільськогосподарські культури.

Математична модель оцінки внутрішньоклітинної локалізації у хворих рослин дала можливість відмітити у бобових та пасльонових рослин динаміку розвитку патологій на рівні клітини. Показано, що під дією факторів довкілля та вірусної інфекції у хворих рослин репродукуються своєрідні структури, які викликають загибель клітин та часто всієї рослини.

Ключові слова: віруси, геном, діагностика, бактеріофаги, профілактика, вектори.

Нині, за розбалансування природних екологічних ніш та агроценозів, надзвичайно відповідальними є дослідження в галузі вірусології, яка вивчає структуру і функцію збудників хвороб різних організмів на рівні застосування сучасних молекулярних методів вивчення патогенів ссавців, рослин, грибів, бактерій та інших організмів. Навіть на сьогоднішній період розвитку науки, віруси залишаються загадковими убіквітарними генетичними «агентами», які уражують живі організми Природи. Вивчаючи ДНК та РНК-вмісні віруси, слід зазначити, що, інфікуючи той чи інший організм, ці патогени за відповідних умов здатні знищити лісову рослинність, різні сільськогосподарські рослини в агроценозах, організми водних систем, тварин. Найбільший негативний вплив віруси завдають здоров'ю людини, яка уражується ВІЛ, різними штаммами грипу, сказу, гепатитів, герпесу, Ебола та ін. [1, 2].

Слід відзначити, що, за нашими дослідженнями, в агроценозах України нараховується біля 638 вірусів різних таксономічних груп, які уражують рослини. При цьому відмічена значна контамінація фітовірусами ґрунтів в екосистемах в регіонах: Київської, Волинської, Житомирської, Полтавської, Харківської, Запорізької областей та ідентифіковано майже по всіх територіях України Х-вірус картоплі, Y-вірус картоплі, ВТМ, ВОМ, ВШМЯ, ВМКЯ, М-вірус картоплі, іларвірус хмелю та інші віруси, які інфікують сільськогосподарські культури [4]. Слід підкреслити, що за відповідних умов ураження цими збудниками хвороб сягає від 15,5 до 100% часто із зниженням урожайності культур до 55,3–80%. При цьому відзначається значне «накопичення» вірусів у тих рослин, які проходять свій онтогенез в монокультурі. Особливо це стосується кукурудзи, соняшнику, буряку цукрового, пшениці. Як показують дослідження, при вірусній інфекції бобові рослини за різних умов довкілля часто втрачають функцію фіксувати атмосферний азот [2, 3]. Вивчено, що останнім часом на рослинах соняшнику, томату, пшениці, гречки, малини, хмелю, буряку цукрового мають розповсюдження рабдовіруси, яких еволюція «нагородила» мінус геномною РНК і процес реплікації вірусу проходить через плюс (інформаційну) РНК з подальшим формуванням необхідних компонентів вірусу.

До мінус геномних вірусів віднесено також тосповірус соняшнику, який за умов потепління

поширюється в різні агроекологічні регіони. Для більшості фітовірусів є загадкове поширення попелиць, трипсів, нематод, кліщів, мікроскопічних грибів – векторів патогенів, які проявляють нову міграційну здатність на полях та переносять віруси в біоценозах [1].

Для дослідження вірусів різних організмів існує цілий арсенал традиційних і нових молекулярно-біологічних методів: різні варіанти електронної мікроскопії (трансмісійної, растрової), атомно-силової мікроскопії, спектральної діагностики, молекулярно-генетичні методи – ПЛР, в основі якої використовується багаторазове застосування ампліфікації відповідної ділянки нуклеотидної послідовності, ІФА та інші методи. Важливими традиційними дослідженнями в галузі вірусології є також розроблення методичних підходів у дослідіях із тваринами, рослинами, грибами, бактеріями, комахами, організмами водних систем тощо.

Слід відмітити, що екологічна криза на Землі спонукає людство формувати сучасні технології боротьби з вірусними інфекціями. Разом із тим, науковці розповсюдили біотехнології, які на основі вірусних векторів поряд з іншими компонентами виконують інформаційну функцію при формуванні ГМО, вакцин, біопрепаратів різного спрямування. Наприклад, це стосується класичного процесу запуску гену білка оболонки ВТМ в плазмину агробактерії, з послідовним внесенням конструкції в хромосому томату. Такий процес здатний підвищити урожайність рослин та їх стійкість до хвороб. Проте, як показують дослідження, у 8-15% ця технологія часто не спрацьовує за різних причин [2], вона потребує злагодженого методичного підходу до виконання всіх процесів з ретровірусами, бакуловірусами та іншими РНК і ДНК вірусами, а також бактеріофагами при розробці фаготерапії. Останні потребують ретельного вивчення біологічних властивостей літичних і лізигенних фагів бактерій у галузях медичного, ветеринарного та рослинного спрямування. Часто дилетантські підходи до цієї проблеми можуть викликати непередбачені негативні наслідки навіть на перших ланцюгах технологічного процесу у підборі бактеріофагу [2, 3].

У 60-х роках ХХ століття нами вперше на модельній системі рослин хмелю та картоплі було доведено, що не всі меристематичні клітини є безвірусними [1, 2, 3], а процеси вирощування рослин

в умовах *in vitro* потребують зміненої технології, яку необхідно формувати на основі створення (відбору) здорових рослин-донорів з послідуочим використанням від них меристематичних клітин для розмноження. Ці технологічні розробки були запроваджені різними країнами. Наприклад, наші спільні дослідження з Біотехнологічним інститутом у В'єтнамі, м. Хошимін, були успішно використані при вирощуванні перцю, орхідей, цукрової тростини. В процесі цих та інших досліджень було запропоновано ряд нових розробок та експериментів при вивченні вірусів різних таксономічних груп [5]. Після багатьох років досліджень фітовірусів слід зробити висновки, що застосування, наприклад, біологічно-активних речовин в АПК повинно базуватись на чіткій інформаційній системі стану рослинного організму: метаболізму, ураження вірусами, місце в сівозміні та відповідного ґрунту з його мікробіологічною оцінкою. При цьому, на сьогодні є можливість оцінювати інформаційний стан рослин шляхом експрес-біохімічного дистанційного аналізу в польових та трансформованих умовах.

Важливо, що на сьогодні проведено дослідження з використання грибів базидіоміцетів – продуцентів біологічно-активних речовин, які збільшують продуктивність культур та зменшують вірусний інфекційний процес на соняшнику, картоплі, томатах, сої. При цьому, при застосуванні цих речовин носіями були біохімічні фракції рослин різних родин [6].

Враховуючи унікальну фізичну структуру вірусів, нами було проведено ряд модельних, *in vivo* та *in vitro* різних фізичних факторів: постійного магнітного поля (ПМП), радіаційного навантаження, температурної обробки, мікрогравітації. Вперше визначено, що деякі віруси володіють діа-парамагнетичними властивостями і вони здатні орієнтуватись в магнітному полі, створюючи комплементарні структури різної конфігурації, які було зібрано в градієнтах сахарози, хлористого цезію. Такі структури дають можливість використовувати їх в біотехнологічних процесах на основі збірки вірусів, підсилення взаємодії антигенів з антитілами за умов серологічних реакцій.

Вивчено, що, використовуючи оброблення вихідного штаму ВТМ *in vitro* γ -променями, нами було отримано ряд нових ізолятів (мутантів) вірусу, які відрізнялись між собою за молекулярною масою, амінокислотним складом, формуванням білкових фракцій в сироватці крові тварин, імунізованих ізолятами вірусу, патогенними властивостями. При цьому, були відібрані варіанти вірусу, які мали здатність для «преімунізації» («вакцинації») рослин у закритому ґрунті. Досліджено застосування деяких штамів ВТМ та їх РНК у трансфекційному процесі, що дало змогу виявити «лізис» клітин Hela, який спостерігався при застосуванні скануючої (растрової) електронної мікроскопії [1]. Слід зазначити, що із зони радіаційного забруднення нами виділено ізоляти ВТМ з інформаційними показниками в нуклеотидній послідовності, які можуть на молекулярному рівні слугувати критеріями забруднення біоценозів. Результати цих досліджень зареєстровано в міжнародному Генбанку. Відмічено, що ці ізоляти володіють своєрідними унікальними властивостями.

Для більшості вірусів рослин нами вивчена їх внутрішньоклітинна локалізація у хворих рослин.

Математична модель оцінки цих процесів дала можливість відмітити у бобових та пасльонових рослин динаміку розвитку патологій на рівні клітини. Показано, що під дією факторів довкілля та вірусної інфекції у хворих рослин репродукуються своєрідні структури, які викликають загибель клітин та часто всієї рослини [1].

Досліджуючи фаги фітопатогенних бактерій, показано, що вони супроводжують види бактерій за будь-якого середовища. Так, наприклад, вони відрізняються від бактерій навіть в умовах Антарктиди [7].

Таким чином, слід відзначити, що віруси – унікальні біологічні системи, які уражують організми різноманітної будови. Їх необхідно розглядати як патогени та генетичні інфекційні посланці Природи, які використовують у біологічних процесах різного рівня складності для формування біопрепаратів, конструкцій векторних систем.

Література

1. Бойко Анатолій Леонидович. *Екологія вірусів рослин: учеб. пособие для студ. биол. спец. ун-тов* / А.Л. Бойко. – К.: Выща школа, 1990. – 167 с.
2. Бойко Анатолій Леонидович. *Основи екології та біофізики вірусів* / А.Л. Бойко. – К.: Фітосоціоцентр, 2003. – 164 с.
3. Бойко А.Л. *Біобезпека і віруси* / в книзі під. ред. О.І. Фурдичка, А.Л. Бойка *Екологічна безпека агропромислового виробництва*. – К.: ДІА, 2013. – 413 с.
4. *Моніторинг вірусних інфекцій рослин в біоценозах України [Текст]* / В.П. Поліщук [та ін.]; ред. В.П. Поліщук. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 220 с.
5. Бойко А.Л. *Вірусологія в електроннографіях [Virus electronography: album]* / А.Л. Бойко, М.М. Зарицький, Д.І. Товкач. – К.: «ДІА», 2012. – 56 с.
6. Бойко О.А., Мельничук М.Д., Бойко А.Л., Григорюк І.П., Дубровін В.О. *Патент України на винахід «Спосіб одержання біологічного препарату для стимуляції продуктивності та захисту від хвороб сільськогосподарських рослин №98350 від 10.05.2012.*
7. Бойко А.Л. *Вивчення фагів фітопатогенних бактерій в Антарктиді* / А.Л. Бойко, Я.І. Семчук, В.М. Войцинський // *Агроєкологічний журнал*. – 2004. – №4. – С. 12-15.

Использование вирусов в биотехнологических процессах

В данной работе представлены многолетние исследования вирусов в биотехнологических процессах. При этом, большинство результатов этих технологий рассматриваются на основе фитовирусов различных таксономических групп, которые инфицируют сельскохозяйственные культуры.

Математическая модель оценки внутриклеточной локализации у больных растений дала возможность отметить у бобовых и пасленовых растений динамику развития патологий на уровне клетки. Показано, что под действием факторов окружающей среды и вирусной инфекции у больных растений репродуцируются своеобразные структуры, которые вызывают гибель клеток и часто всего растения.

Ключевые слова: вирусы, геном, диагностика, бактериофаги, профилактика, векторы.

Бойко А.Л.

The use of viruses in biotechnological processes

The paper presents multi-years study of viruses in biotechnological processes. Most of these results are based on different taxonomic groups of plant viruses that infect agricultural crops. Mathematical model of assessment of intracellular localization in affected plants gave ability to be noted pathologies dynamics at the level of cells in legumes and solanaceae plants. Shown that action of environments factors and viruses infection in the injured plants a certain structures are reproduced which kill the cells and whole plant.

Key words: virus, gene, diagnostics, bacteriophages, prevention, vectors.

Рецензенти

Дегодюк Е.Г. – д. с.-г. н.

Вишнівський П.С. – д. с.-г. н.

Стаття надійшла до редакції 25.05.2015 р.