

ВЛИЯНИЕ ФУКОИДАНА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ КЛЕТОК МЕЗОФИЛЛА ЛИСТЬЕВ *DATURA STRAMONIUM* L. И НАКОПЛЕНИЕ В НИХ X-ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ

© Л. А. Лапшина, А. В. Реунов,¹ В. П. Нагорская, Т. Н. Звягинцева, Н. М. Шевченко

Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток;
¹электронный адрес: antreunov@mail.ru

Проведено электронно-микроскопическое изучение влияния фукоидана из бурой водоросли *Fucus evanescens* C. Ag. на накопление X-вируса картофеля (X-ВК) в клетках мезофилла изолированных листьев *Datura stramonium* L. в начальный период развития инфекции (через 3 сут после заражения листьев). Показано, что в этот период в клетках листьев, обработанных за 24 ч до заражения фукоиданом, вирусные частицы накапливались в меньшей степени, чем в необработанном контроле. С помощью ультраструктурно-морфометрического анализа установлено, что под действием фукоидана повышается белок-синтезирующая способность клеток (увеличиваются размеры ядрышек, возрастает количество митохондрий и мембран гранулярного ЭР). Вместе с тем при обработке фукоиданом наблюдается некоторая активация литического компартмента, которая приводит к деструкции вирусных частиц и, таким образом, может рассматриваться как один из обусловленных фукоиданом защитных механизмов клеток, ограничивающих накопление в них вируса. Стимуляция фукоиданом образования X-ВК-специфических ламинарных структур, способных связывать вирусные частицы, по-видимому, является другим индуцируемым препаратом антивирусным механизмом клеток, препятствующим репродукции, а также внутри- и межклеточному транспорту X-ВК.

Ключевые слова: *Datura stramonium*, *Fucus evanescens*, фукоидан, X-вирус картофеля, клетки мезофилла, инфекция.

Принятые сокращения: ВТМ — вирус табачной мозаики, ЛС — ламинарные структуры, X-ВК — X-вирус картофеля, ЭР — эндоплазматический ретикулум.

Поиску экологически чистых биологически активных соединений, способных стимулировать устойчивость растений к патогенам, в том числе к вирусам, придается важное значение (Lyon et al., 1995; Реунов, 1999). Показано, что к таким соединениям относятся различные полисахариды: 1.3;1.6-β-D-глюканы из грибов (Kopp et al., 1989; Rouhier et al., 1995) и бурых водорослей (Елякова и др., 1994, 2007; Reunov et al., 1996; Реунов и др., 2000); 1.3;1.4-β-D-глюкан из лишайника *Cetraria islandica* (Stübler, Buchenauer, 1996); хитозан (Pospieszny et al., 1991; Чирков, 2002); олигосахариды, полученные из ксиллоглюкана (Šubíková et al., 1994) и галактоглоукоманна (Slováková et al., 2000); κ/β-каррагинан из красной водоросли *Tichocarpus crinitus* (Reunov et al., 2004; Барабанова и др., 2006).

Нами недавно получены данные об ингибирующем влиянии сульфатированного полисахарида фукоидана на развитие инфекций, индуцированных у растений-хозяев вирусом табачной мозаики (Лапшина и др., 2006, 2007). Фукоидан, выделенный из бурой водоросли *Fucus evanescens*, ингибирует накопление ВТМ в клетках листьев табака. В настоящей работе представлены результаты ультраструктурно-морфометрического изучения влияния данного фукоидана на развитие инфекции, обусловленной X-вирусом картофеля (X-ВК) в листьях *Datura stramonium* L.

Материал и методика

Работа выполнена на листьях 4-недельных растений дурмана *Datura stramonium* L., выращенных в теплице. Препарат фукоидана выделен из бурой водоросли *Fucus evanescens* C. Ag. в лаборатории химии ферментов Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН. Вещество представляет собой 1.3;1.4-α-L-фукан, сульфатированный в основном по С2-положению остатков фукозы (Кусайкин и др., 2004). Для заражения использовали сильнопатогенный штамм X-ВК (Рейфман, Колесникова, 1973), очищенный по методике (Otsuki et al., 1974).

Сорванные молодые листья дурмана (длиной 4—5 см) разрезали по средней жилке и напыляли карборундом. Левые половинки листьев (опытные) натирала препаратом фукоидана (1 мг/мл), правые (контрольные) — водой. Спустя 10 мин листья промывали проточной водой и помещали во влажную камеру. Через 1 сут левые и правые половинки листьев вновь напыляли карборундом, после чего половину из них натирала суспензией X-ВК (2 мг/мл), а остальные — водой. Затем их промывали и возвращали во влажную камеру. Через 3 сут маленькие кусочки ткани из зараженных и здоровых половинок листьев 3 ч фиксировали в 6.5%-ном растворе глутаральдегида, приготовленном на 0.1 М фосфатном буфере (pH 7.4), и 2 ч в 1%-ном растворе четырехоксида осмия,

после чего образцы обезвоживали в спиртах возрастающих концентраций и ацетоне и заключали в Араалдит. Срезы, полученные на ультратоме LKB-III (LKB, Швеция), контрастировали уранил-ацетатом и цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе JEM-7A (JEOL, Япония). Морфометрические исследования проводили на клетках палисадной паренхимы, используя разработанные ранее методы (Киселева и др., 1974). Для каждого варианта использовали по 3 блока. Срезы снимали на однощелевые бленды, покрытые напыленной углем формваровой пленкой. На каждой бленде исследовали по 20 клеток. Таким образом, в каждом варианте анализировали 60 клеток. Внутриклеточное накопление Х-ВК оценивали путем подсчета количества профилей вирусных частиц на единицу площади среза клетки (Реунов, Лапшина, 1983). Статистическую обработку результатов проводили по стандартной методике, используя *t*-критерий Стьюдента (Лакин, 1973). Доверительная вероятность принята равной 0.95.

Результаты

Ультраструктурное изучение клеток палисадной паренхимы не обработанных фукоиданом незараженных листьев, инкубируемых в течение 4 сут во влажной камере, показало, что основные органеллы таких клеток обычно сохраняют морфологическую интактность. В ядрах клеток наблюдается светлая нуклеоплазма, содержащая фибриллярно-гранулярный материал и конденсированный хроматин, преимущественно расположенный по периферии; ядрышки умеренных плотностей и размеров (рис. 1, *a*). Хлоропласты характеризуются достаточно развитыми фотосинтетическими мембранами (рис. 1, *б*). Митохондрии имеют сравнительно небольшое количество крист, погруженных в светлый матрикс (рис. 1, *б*). Эндоплазматический ретикулум (ЭР) и аппарат Гольджи развиты слабо. Обработка листьев фукоиданом не оказывала существенного влияния на структуру клеточных органелл, но вызвала увеличение некоторых морфометрических параметров клеток: объемной плотности ядрышек, числа и объемной плотности митохондрий, микротел с кристаллоидами, вакуолей, площади поверхности мембран гранулярного и агранулярного ЭР, а также диктиосом (см. таблицу).

Через 3 сут после заражения листьев, как обработанных, так и не обработанных фукоиданом, в содержащих вирус клетках наблюдались определенные аномальные изменения в структуре хлоропластов и митохондрий. Наиболее существенным вирусиндуцированным изменением хлоропластов было нарушение структурированности тилакоидов и гран (рис. 1, *в—д*). Нередко также обнаруживались локальные повреждения оболочек хлоропластов (рис. 1, *в, д*). Митохондрии могли терять кристы и матрикс, превращаясь в вакуолеподобные структуры (рис. 1, *з*). Иногда в оболочке этих органелл, так же как и у хлоропластов, обнаруживались повреждения (рис. 1, *в, д; 2, а*). Обычно же митохондрии зараженных клеток сохраняли интактность и часто содержали заметно больше крист, чем в здоровом контроле, что указывает (Заварзин, Харазова, 1982) на их высокую функциональную активность. Особенно большое количество несколько расширенных крист выявлялось у митохондрий зараженных клеток в листьях, обработанных фукоиданом (рис. 2, *а*).

В отличие от хлоропластов и митохондрий другие органеллы инфицированных клеток в ранний период инфек-

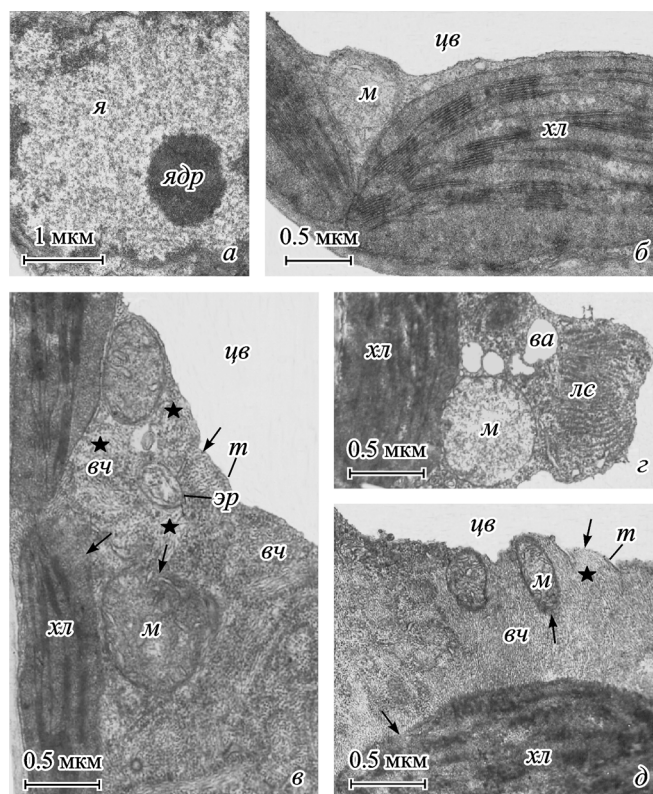


Рис. 1. Участки здоровых (*a, б*) и зараженных Х-ВК (*в—д*) клеток палисадной паренхимы в листьях дурмана, не обработанных (*a, б, д*) и обработанных (*в, з*) фукоиданом.

Стрелками (*в, д*) показаны нарушения целостности в оболочках хлоропластов и митохондрий, а также в тонопласте, звездочками (*в, д*) — электронно-светлые участки в цитоплазме. *ва* — вакуоль, *вч* — вирусные частицы, *лс* — ламинарные структуры, *м* — митохондрия, *т* — тонопласт, *хл* — хлоропласт, *цв* — центральная вакуоль, *эр* — эндоплазматический ретикулум, *я* — ядро, *ядр* — ядрышко.

ции (через 3 сут после заражения листьев) обычно не претерпевали заметных дегенеративных изменений и, судя по морфологическим признакам, были более активными, чем в незараженных клетках. Наиболее активными выглядели органеллы зараженных клеток в обработанных фукоиданом листьях. В ядрах таких клеток формировались более крупные, чем в ядрах клеток других вариантов, ядрышки, в значительном количестве содержащие гранулярный компонент (рис. 2, *б*). Существенно возросло количество диктиосом (рис. 2, *в*), а также мембран гранулярного и агранулярного ЭР (рис. 2, *в, з*). Формирующиеся агранулярные элементы ЭР обычно выглядели набухшими (рис. 2, *в, з*). Часто наблюдались кольцевидные профили ретикулума (рис. 1, *в; 2, д*). Характерным признаком зараженных клеток, в наибольшей степени выраженным при обработке фукоиданом, было формирование цитоплазматических вакуолей (рис. 1, *з*), микротел с кристаллоидами (рис. 2, *е*), а также округлых осмиофильных тел — сферосом (рис. 2, *ж*). Следует отметить, что в клетках палисады здоровых листьев, не обработанных фукоиданом, нам не удалось обнаружить сферосомы; в клетках же здоровых листьев, обработанных полисахаридом, эти структуры наблюдались, хотя и редко.

По данным морфометрического анализа, в зараженных клетках обработанных фукоиданом листьев такие параметры, как объемная плотность ядрышек, число и объемная плотность митохондрий, микротел с

Влияние фукоидана на некоторые морфометрические параметры здоровых и инфицированных Х-ВК клеток палисадной паренхимы листьев дурмана

Параметр ^а	Здоровые половинки листьев ^б		Зараженные половинки листьев ^в	
	необработанные	обработанные фукоиданом	необработанные	обработанные фукоиданом
Объемная плотность ядрышек, % от объема ядер	0.12 ± 0.01	0.17 ± 0.02	0.19 ± 0.02	0.26 ± 0.03
Объемная плотность митохондрий, % от объема клетки	2.20 ± 0.20	3.10 ± 0.30	3.40 ± 0.40	4.60 ± 0.50
Число митохондрий в 100 мкм ³	2.80 ± 0.30	4.30 ± 0.40	4.60 ± 0.50	7.10 ± 0.70
Площадь поверхности мембран гранулярного ЭР в 1 мкм ³ , мкм ²	0.29 ± 0.03	0.40 ± 0.04	0.70 ± 0.07	1.20 ± 0.20
Площадь поверхности мембран агранулярного ЭР в 1 мкм ³ , мкм ²	0.23 ± 0.03	0.31 ± 0.03	0.44 ± 0.04	0.66 ± 0.06
Объемная плотность микротел с кристаллоидами, % от объема клетки	0.21 ± 0.03	0.28 ± 0.03	0.32 ± 0.03	0.51 ± 0.06
Число микротел с кристаллоидами в 100 мкм ³	0.30 ± 0.04	0.51 ± 0.05	0.56 ± 0.06	0.73 ± 0.08
Площадь поверхности мембран диктиосом в 1 мкм ³ , мкм ²	0.12 ± 0.01	0.18 ± 0.02	0.31 ± 0.03	0.42 ± 0.05
Объемная плотность вакуолей, % от объема клетки	0.60 ± 0.20	2.80 ± 0.30	4.10 ± 0.50	5.30 ± 0.50
Число вакуолей в 100 мкм ³	4.50 ± 0.50	6.00 ± 0.60	6.40 ± 0.70	7.90 ± 0.80
Число профилей вирусных частиц на 1 мкм ² среза клетки	—	—	67.50 ± 7.00	43.30 ± 5.00
Объемная плотность ЛС, % от объема клетки	—	—	4.60 ± 0.50	7.40 ± 0.80

Примечание. ^а Каждая величина — среднее значение, полученное для 60 клеток. Стандартные ошибки вычислены с использованием *t*-критерия Стьюдента при *P* = 95 %. Опытные половинки листьев обрабатывали фукоиданом, контрольные — водой, после чего помещали их во влажную камеру. Через 1 сут половинки листьев делили на две группы, одну из которых ^(б) натирала водой, другую ^(в) — Х-ВК. Затем все половинки листьев на 3 сут возвращали во влажную камеру.

кристаллоидами, вакуолей, площадь поверхности мембран гранулярного и агранулярного ЭР, а также диктиосом, имели существенно большие значения, чем в клетках других вариантов (см. таблицу).

В инфицированных клетках не обработанных фукоиданом листьев часто обнаруживали довольно крупные скопления Х-ВК, локализованные в цитоплазме (рис. 1, д). В клетках листьев, обработанных за 1 сут до заражения фукоиданом, подобные скопления вирусных частиц встречались заметно реже. В цитоплазме многих зараженных клеток как обработанных (рис. 2, з), так и не обработанных (рис. 2, и) фукоиданом листьев наблюдались сравнительно небольшие агрегаты вирусных частиц, ассоциированные с так называемыми ламинарными структурами (ЛС) — Х-ВК-специфическими включениями, описанными ранее многими авторами (см.: Реунов, 1999). С помощью серийных срезов было установлено (Shalla, Shepard, 1972), что ЛС представляют собой мембраноподобные образования толщиной 3—7 нм, часто связанные с гранулярными частицами меньшего, чем у 80S-рибосом, диаметра. Эти образования содержат белок, который не обнаруживает антигенного родства с Х-ВК и, таким образом, не является вирусным (Shalla, Shepard, 1972). С помощью морфометрического анализа показано, что в инфицированных клетках при обработке фукоиданом количество профилей частиц Х-ВК в расчете на единицу площади среза клетки (1 мкм²) было в 1.56 раза меньше, а объемная плотность ЛС в 1.6 раза больше, чем в зараженных клетках необработанных листьев (см. таблицу).

Необходимо отметить, что в цитоплазме инфицированных клеток, особенно часто при обработке фукоида-

ном, обнаруживались электронно-светлые участки (рис. 1, в, д; 2, а, в—д, з). В тех случаях, когда подобные участки находились на границе с центральной вакуолью, тонопласт мог подвергаться деструкции (рис. 1, в, д; 2, а, з) и нередко не наблюдался (рис. 2, а, з). Вирусные частицы, локализованные в электронно-светлых участках цитоплазмы, обычно имели слабоконтрастный, «истонченный» вид (рис. 1, в; 2, а, г, д, з).

Обсуждение

Результаты проведенных исследований показали, что препарат фукоидана, полученный из водоросли *F. evanes-cens*, ингибирует накопление Х-ВК в клетках мезофилла изолированных листьев *D. stramonium* L. в начальный период развития инфекции.

По данным ультраструктурно-морфометрического анализа, обработка фукоиданом обуславливает активацию ядрышек (увеличение их размеров, значительное количество гранулярного компонента), митохондрий (увеличение их количества, а также числа несколько расширенных крист) и пролиферацию гранулярного ЭР. По существующим представлениям (Андреева, 1985; Кулаева, 1985; Машанский, Рабинович, 1987), такие структурные особенности клеток при обработке фукоиданом свидетельствуют о стимуляции им белоксинтезирующего аппарата клеток, что в значительной степени повышает их способность к защитным ответам на внедрение патогена (Реунов, 1999).

В то же время под влиянием фукоидана в определенной степени активируется литический компартмент, что

выражается, в частности, в стимуляции образования диктисом, элементов агранулярного ЭР и цитоплазматических вакуолей, являющихся компонентами этого компартмента (Matile, 1975; Белицер, 1978). Наблюдаемые кольцевидные профили ЭР, очевидно, являются срезами формирующихся цитосегресом (Белицер, 1978). В соответствии с некоторыми данными (Matile, 1975; Реунов, 1999; Rinne et al., 2001), к литическому компартменту растений могут принадлежать и сферосомы, число которых в инфицированных клетках, особенно при обработке фукоиданом, значительно увеличивается.

Набухание цистерн агранулярного ЭР, вероятно, отражает аномальные изменения, а соответственно и нарушение барьерных свойств ретикулярных мембран, что, как отмечалось (Белицер, 1978), может сопровождаться «утечкой» гидролаз из полости ретикулума в цитоплазму. Подтверждением подобного представления служит выявленная ранее в инфицированных Х-ВК клетках листьев дурмана локализация кислой фосфатазы в расширенных просветах ЭР, на его мембранах и в прилегающих участках цитоплазмы (Реунов, Лапшина, 1985).

Высвобождаемые из цистерн ЭР гидролазы, видимо, вызывают развитие литических процессов, приводящих к деградации тонопласта, органелл и образованию электронно-светлых участков в цитоплазме. Наблюдаемые в таких участках вирусные частицы (особенно часто в инфицированных клетках листьев, обработанных за 1 сут до заражения фукоиданом) обычно имеют слабоконтрастный, «истонченный» вид, что, как было показано нами ранее (Реунов, 1989; Реунов и др., 2006), вероятно, обуславливается деструктивными изменениями вирионов под действием гидролаз.

Интересно отметить, что представленные данные о влиянии фукоидана на растительные клетки свидетельствуют об определенном сходстве его с фитогормонами. Как известно, цитокинины активируют синтез белка в листьях, увеличивая «размеры» аппарата белкового синтеза (Кулаева, 1973). Под действием кинетина увеличивались размеры ядрышек, количество гранулярного компонента в них, а также число митохондрий в инфицированных ВТМ клетках листьев табака (Реунов, 1989). Возрастало количество митохондрий и в клетках листьев растений картофеля, обработанных перед заражением Х-ВК гиббереллином (Жеребчук, 1984). Вместе с тем есть данные о том, что в растительных клетках при обработке фитогормонами (кинетином, индолилуксусной кислотой, гиббереллином) активируются различные гидролитические ферменты (Кулаева, 1973). Отмечалось, что росту активности гидролаз под действием гиббереллина предшествовала пролиферация в клетках ЭР (Кулаева, 1973). Показано (Жеребчук, Олевинская, 1972), что при обработке растений картофеля гиббереллином, предшествующей заражению их Х-ВК, в клетках повышается содержание РНКазы, которая, по мнению авторов, вызывает деструк-

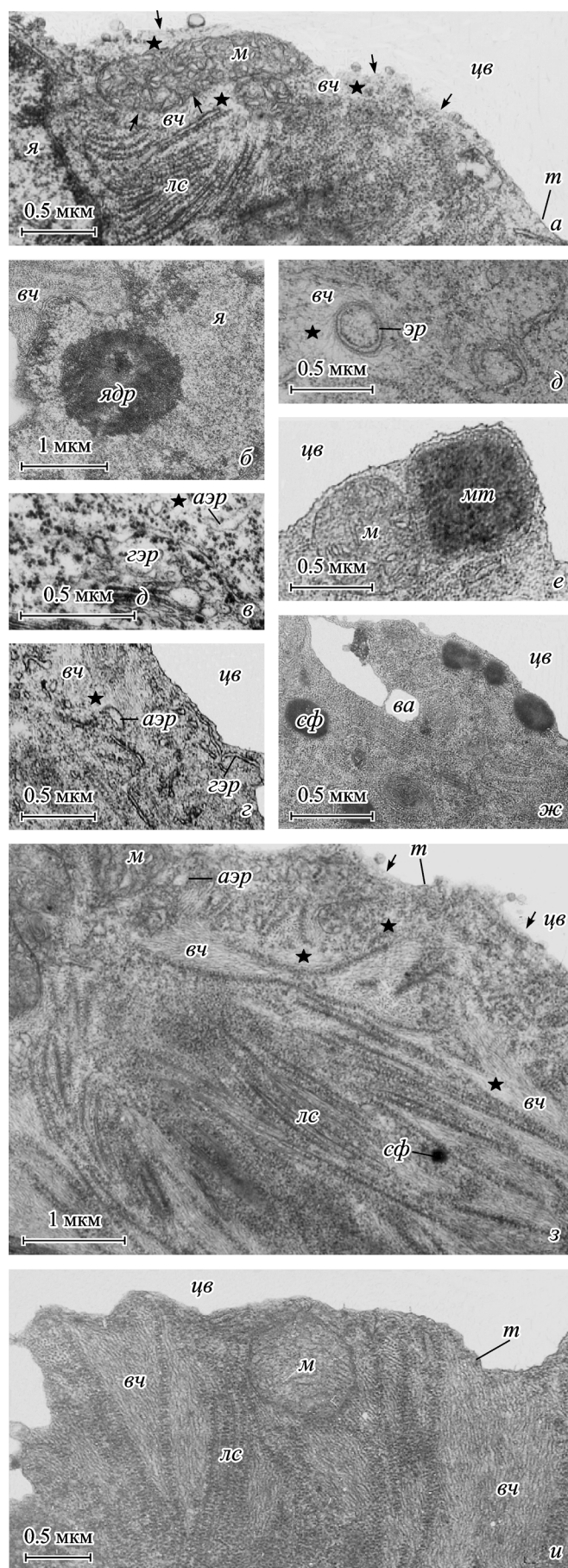


Рис. 2. Ультраструктура зараженных Х-ВК клеток палисадной паренхимы в листьях дурмана, обработанных (а—з) и не обработанных (и) фукоиданом.

Стрелками показаны нарушения целостности в оболочке митохондрии (а), а также граничащие с центральной вакуолью участки цитоплазмы, в которых не обнаруживается тонопласт (а, з), звездочками (а, в—д, з) — электронно-светлые участки в цитоплазме. аэр — агранулярный эндоплазматический ретикулум, гэр — гранулярный эндоплазматический ретикулум, мт — микротело, сф — сферосома; остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

цию вирусной РНК при депротенизации вирионов и, таким образом, ингибирует репликацию вируса.

Наблюдаемую обусловленную фукоиданом активацию литического компартмента клеток, вызывающую деструкцию частиц Х-ВК, по-видимому, можно рассматривать как один из индуцированных препаратом защитных механизмов клеток, ограничивающих накопление в них вируса. Другим антивирусным клеточным механизмом, реализуемым под действием фукоидана, возможно, является стимуляция им формирования Х-ВК-специфических ЛС. Было показано, что существует обратная зависимость между интенсивностью размножения Х-ВК и образованием в клетках ЛС (Реунов, 1989). Кроме того, установлено (Лапина, Реунов, 1997), что ЛС могут связывать частицы Х-ВК и, таким образом, препятствовать их перемещению и репродукции.

Формирующиеся в клетках микротела с кристаллоидами могут играть адаптационную роль, в частности ингибировать накопление перекиси водорода (Белицер, 1978). Поэтому стимуляция их образования фукоиданом может предохранять мембранные структуры от переокисления их липидов и как следствие препятствовать развитию внутриклеточных деструктивных процессов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 06-04-485240-а) и программы фундаментальных исследований «Молекулярная и клеточная биология» президиума РАН.

Список литературы

- Андреева И. Н. 1985. Электронная микроскопия в физиологических экспериментах. В кн.: Новые направления в физиологии растений. М.: Наука. 33—46.
- Барабанова А. О., Ермак И. М., Реунов А. В., Нагорская В. П., Соловьева Т. Ф. 2006. Каррагинаны — сульфатированные полисахариды красных водорослей как ингибиторы вируса табачной мозаики. Раст. ресурсы. 42 (4) : 80—86.
- Белицер Н. В. 1978. Лизосомная система и микротельца в клетках растений и животных: Автореф. докт. дис. Л. 48 с.
- Елякова Л. А., Исаков В. В., Лапина Л. А., Нагорская В. П., Лихацкая Г. Н., Звягинцева Т. Н., Реунов А. В. 2007. Ферментативная трансформация биологически активного 1,3;1,6-β-D-глюкана. Структура и активность полученных фрагментов. Биохимия. 72 (1) : 36—44.
- Елякова Л. А., Лапина Л. А., Реунов А. В., Можжаева К. А. 1994. Защитное действие β-1,3;1,6-глюкана — «антивира», полученного ферментативной трансформацией ламинарина, на растениях табака против вируса табачной мозаики. Докл. РАН. 336 (5) : 710—711.
- Жеребчук Л. К. 1984. Влияние гиббереллина на физиолого-биохимические процессы в митохондриях пораженных Х-вирусом растений картофеля. Микробиол. журн. 46 (4) : 62—67.
- Жеребчук Л. К., Олевинская З. М. 1972. Влияние гиббереллина на количественное и качественное содержание свободных аминокислот в листьях здорового и пораженного Х-вирусом картофеля. Биол. науки. 3 : 98—104.
- Заварзин А. А., Харазова А. Д. 1982. Основы общей цитологии. Л.: ЛГУ. 240 с.
- Киселева Е. В., Шилов А. Г., Христолюбова Н. Б. 1974. Методы оценки основных стереологических параметров. В кн.: Применение стереологических методов в цитологии. Новосибирск: Ин-т цитологии и генетики. 33—53.
- Кулаева О. Н. 1973. Цитокинины, их структура и функция. М.: Наука. 264 с.
- Кулаева О. Н. 1985. Фитогормоны как регуляторы активности генетического аппарата и синтеза белка у растений. В кн.: Новые направления в физиологии растений. М.: Наука. 62—83.
- Кусайкин М. И., Чижов А. О., Алексеева С. А., Бакунина И. Ю., Недашковская О. И., Сова В. В., Звягинцева Т. Н. 2004. Сравнительное исследование специфичности фукоиданаз морских микроорганизмов и беспозвоночных. Докл. РАН. 396 (5) : 691—693.
- Лакин Г. Ф. 1973. Биометрия. М.: Высшая школа. 343 с.
- Лапина Л. А., Реунов А. В. 1997. К вопросу о внутриклеточных включениях, индуцируемых Х-вирусом картофеля. Докл. РАН. 355 (5) : 716—718.
- Лапина Л. А., Реунов А. В., Нагорская В. П., Звягинцева Т. Н., Шевченко Н. М. 2006. Ингибирующее действие фукоидана из бурой водоросли *Fucus evanescens* на развитие инфекции, вызванной вирусом табачной мозаики в листьях двух сортов табака. Физиол. раст. 53 (2) : 274—279.
- Лапина Л. А., Реунов А. В., Нагорская В. П., Звягинцева Т. Н., Шевченко Н. М. 2007. Действие фукоидана из бурой водоросли *Fucus evanescens* на формирование ВТМ-специфических включений в клетках листьев табака. Физиол. раст. 54 (1) : 127—130.
- Машанский В. Ф., Рабинович И. М. 1987. Ранние реакции клеточных органоидов. Л.: Наука. 120 с.
- Рейфман В. Г., Колесникова С. А. 1973. Вакцинация — прием, снижающий ущерб от вирусных болезней картофеля. I. Выделение из природной популяции слабо- и сильно-вирулентного штаммов Х-вируса. В кн.: Вирусные болезни растений Дальнего Востока. Владивосток: ДВНЦ АН СССР. 92—98.
- 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., Лапина Л. А. 1983. Электронно-микроскопическое изучение влияния актиномицина D на репродукцию Х-вируса картофеля в клетках мезофилла листьев дурмана. Цитология. 25 (9) : 1019—1025.
- Реунов А. В., Лапина Л. А. 1985. Локализация кислой фосфатазы в клетках мезофилла листьев дурмана, системно инфицированных Х-вирусом картофеля. Цитология. 27 (5) : 599—602.
- Реунов А. В., Лапина Л. А., Нагорская В. П., Елякова Л. А. 2000. Подавление 1,3;1,6-β-D-глюканом инфекций, вызванных Х-вирусом картофеля, в листьях гомфрены и дурмана. Физиол. раст. 47 (2) : 240—243.
- Реунов А. В., Лапина Л. А., Нагорская В. П., Полякова А. М., Лега С. Н. 2006. Ультраструктура клеток мезофилла листьев разных сортов сои, системно инфицированных вирусом мозаики сои. Цитология. 48 (3) : 208—215.
- Чирков С. Н. 2002. Противовирусная активность хитозана. Прикл. биохим. и микробиол. 38 (1) : 5—13.
- Kopp M., Rouster J., Fritig B., Darvill A., Albersheim P. 1989. Host-pathogen interactions. XXXII. A fungal glucan preparation protects *Nicotiana glauca* against infection by viruses. Plant Physiol. 90 : 208—216.
- Lyon G. D., Reglinski T., Newton A. C. 1995. Novel disease control compounds: the potential to «immunize» plants against infection. Plant Pathol. 44 : 407—427.
- Matile P. 1975. The lytic compartment of plant cells. Wien; New York: Springer-Verlag. 183 p.
- Otsuki Y., Takebe I., Honda Y., Kajita S., Matsui C. 1974. Infection of tobacco mesophyll protoplasts by potato virus X. J. Gen. Virol. 22 : 375—385.
- Pospieszny H., Chirkov S., Atabekov J. 1991. Induction of antiviral resistance in plant by chitosan. Plant Sci. 79 : 63—68.
- Реунов А. В., Лапина Л. А., Нагорская В. П., Елякова Л. А. 1996. Effect of 1,3;1,6-β-D-glucan on infection of detached tobacco leaves with tobacco mosaic virus. J. Phytopathol. 144 : 247—249.

Reunov A., Nagorskaya V., Lapshina L., Yermak I., Barabanova A. 2004. Effect of κ/β -carragenan from red alga *Tichocarpus crinitus* (Tichocarpaceae) on infection of detached tobacco leaves with tobacco mosaic virus. J. Plant Diseases and Protection. 111 : 165—172.

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.

Rouhier P., Kopp M., Begot V., Bruneteau M., Fritig B. 1995. Structural features of fungal β -D-glucans for the efficient inhibition of the initiation of virus infection on *Nicotiana tabacum*. Phytochemistry. 39 : 57—62.

Shalla T. A., Shepard J. F. 1972. The structure and antigenic analysis of amorphous inclusion bodies induced by potato virus X. Virology. 49 : 654—667.

Slováková L., Lišková D., Capek P., Kubačková M., Kákoniová D., Karácsonyi Š. 2000. Defence responses against TNV infection induced by galactoglucomannan-derived oligosaccharides in cucumber cells. Eur. J. Plant Pathol. 106 : 543—553.

Stübler D., Buchenauer H. 1996. Antiviral activity of the glucan lichenan (Poly- β {1→3, 1→4}D-anhydroglucose). 1. Biological activity in tobacco plants. J. Phytopathol. 144 : 37—43.

Šubíková V., Slováková I., Farkaš V. 1994. Inhibition of tobacco necrosis virus infection by xyloglucan fragments. Z. PflKrankh. Pflschurz. 101 : 128—131.

Поступила 21 II 2008

EFFECT OF FUCOIDAN ON THE ULTRASTRUCTURE OF MESOPHYLL CELLS
OF *DATURA STRAMONIUM* L. AND ACCUMULATION OF POTATO VIRUS X IN THEM

L. A. Lapshina, A. V. Reunov,¹ V. P. Nagorskaya, T. N. Zviyaginseva, N. M. Shevchenko

Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, the Far East Branch of RAS, Vladivostok; ¹e-mail:antreunov@mail.ru

Influence of fucoidan from brown alga *Fucus evanescens* C. Ag. on the development of infection induced by potato virus X (PVX) in *Datura stramonium* leaves was studied. It has been shown that 24 h after the treatment of the leaves with fucoidan and following infection of them with PVX the accumulation of virus particles in infected cells during early infection period was substantially less than that in untreated control. Using ultrastructure-morphometric analysis, it has been established that fucoidan treatment increases at protein-synthesizing capability of cells (nucleolus dimension, amount of mitochondria and rough endoplasmic reticulum membranes become increased). At the same time, the fucoidan treatment causes some activation of lytic compartment which leads to destruction of virus particles and, therefore, might be considered as one of fucoidan-dependent protective mechanisms limiting virus accumulation in cells. Fucoidan stimulation of the formation of PVX-specific laminated structures capable of virus particles binding is possibly another induced antiviral cell mechanism, preventing from virus reproduction and transposition.

Key words: *Datura stramonium*, *Fucus evanescens*, fucoidan, potato virus X, mesophyll cells, infection.