

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ, НАУКИ И
КУЛЬТУРЫ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

КЫРГЫЗСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

КАФЕДРА БОТАНИКИ И
ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ

В.А.ПЕЧЕНОВ
Л.А.КИРПИЧЕНКО

ОСНОВЫ ВИРУСОЛОГИИ

БИШКЕК 2000

ББК 28.3

П - 31

В.А. ПЕЧЕНОВ, Л.А. КИРПИЧЕНКО

П-31 ОСНОВЫ ВИРУСОЛОГИИ. - Б.:2000. -222 с.

ISBN 9967-401 - 85-0

Учебник включает главные вопросы вирусологии. Основное внимание уделено биологии вирусов, их химической, физической характеристике, взаимоотношению с организмом - хозяином, принципам классификации. Приводятся краткие сведения о вирусах, микоплазмах, риккетсиях, вызывающих наиболее распространенные болезни растений, животных, человека, а также о вирусах бактерий - бактериофагах.

В основу данного учебника положен курс лекций, читанных на протяжении многих лет на кафедре ботаники и физиологии растений Кыргызского государственного Национального университета. Учебник предназначен для студентов биологического и сельскохозяйственного профиля, научных работников, преподавателей вузов и колледжей, может быть использован при подготовке фитопатологов, энтомологов, биохимиков, микробиологов и других специалистов.

Рецензент: Заслуженный деятель науки Кыргызской Республики, Почетный академик НАН, доктор ветеринарных наук, профессор Ц.Ц. Хандуев.

П 1905000000 - 2000

Б Б К 28.3

ISBN 9967 - 401 - 85 - 0

© Печенов В.А.,
Кирпиченко Л.А., 2000

В В Е Д Е Н И Е

Открытие вирусов в последнее десятилетие XIX столетия положило начало новой науке - вирусологии, однако подлинное ее развитие началось в пятидесятые годы XX века с использованием электронного микроскопа. Вопросы вирусологии представляют большой интерес для решения задач общей биологии, генетики, происхождения жизни на Земле, для специалистов, занимающихся изучением возбудителей опасных заболеваний человека, животных и растений.

Что же такое вирусы? Еще в середине прошлого века Л. Пастер писал: "Каждый вирус является микробом. Несмотря на то, что эти существа чрезвычайно малы, однако условия их жизнедеятельности и размножения зависят от одних и тех же общих законов, которые регулируют также рождение и размножение высших существ животного и растительного мира".

Вирусы неоднородны, они различаются по многим свойствам, являются самыми простейшими мелкими инфекционными агентами. К ним вплотную примыкают так называемые вирусоподобные организмы такие, как микоплазмы, L-формы. Известны инфекционные агенты, обладающие по сравнению с вирусами еще более простой структурой-вирионы. Вирус... Мы привыкли к тому, что это слово символизирует болезнь. Слово «вирус» в переводе с латинского означает «яд». Начиная со 2 века, понятие «вирус», отождествлялось с ядовитой слюной бешеной собаки или других животных, выделения которых могут причинять вред человеку.

К настоящему времени изучены многие сотни вирусов, с которыми связывают самые различные болезни. Известно, что более 75% всех известных инфекционных заболеваний человека вызываются вирусами. Это ежегодные вспышки гриппа, достигающие нередко размеров пандемии; эпидемии полиомиелита, которые в 50-е годы нашего столетия оставили тысячи калек; наконец, эпидемии оспы, носившие опустошительный характер, а также множество других, порой малоизученных вирусных заболеваний. В последнее время

с вирусами связывают проблему опухолей, как причинный фактор. О менее распространенных вспоминают лишь когда инфекция выходит из под контроля.

В мире существует более 1000 опасных вирусов. Вирусные болезни растений делают малопригодными к употреблению листья табака, снижают содержание сахара в сахарной свекле и сахарном тростнике, уменьшают урожай картофеля, делают несъедобными плоды томатов, вызывают аномалии цветков и уродство плодов, снижают количество и качество семян. Известно примерно 300 растительных вирусов.

Вирусы - возбудители инфекционных болезней человека, животных, растений и микроорганизмов характеризуются следующими особенностями.

1. Малыми размерами, измеряемыми десятками или сотнями микрометров.

2. Клеточного строения не имеют: состоят из РНК - рибонуклеиновой кислоты (одно- или двухцепочечной) или ДНК - дезоксирибонуклеиновой кислоты (одно- или двухцепочечной), окруженной обычно (но не всегда) белковой оболочкой.

3. Относительной простотой химического состава, включающего у большинства вирусов только белок и специфическую нуклеиновую кислоту.

4. Нуклеиновая кислота ответственна за инфекционность, а белок осуществляет в основном защитную функцию РНК (ДНК).

5. Неспособностью накапливаться на искусственных синтетических питательных средах. Имеют своеобразный механизм размножения - размножаются только в организме восприимчивого хозяина, или органоидах клетки, или в теле переносчика.

6. Некоторые вирусы при особых условиях среды способны кристаллизоваться.

О Б Щ А Я Ч А С Т Ь

1. ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ ВИРУСОВ И ИХ ЗНАЧЕНИЕ

Огромные успехи микробиологии сыграли значительную роль в развитии медицины, ветеринарии, сельского хозяйства, промышленности. С 40-х до 90-х годов прошлого века было выяснено, что многие болезни человека, животных и растений вызываются микробами. Однако, несмотря на тщательные поиски, возбудители ряда болезней не были найдены, хотя они были весьма заразны. Работы Л. Пастера и Р. Коха послужили толчком к изучению болезней с невыясненной природой. Слово "вирус" широко фигурировало в их работах. Оно означало "яд" и широко применялось для обозначения возбудителей болезней с невыясненной этиологией. Не удавалось выделить и охарактеризовать возбудителей бешенства, оспы, ящура, желтухи шелковичных червей и некоторых других заболеваний человека и животных. Такие болезни стали называть вирусными.

Серьезное внимание на вирусные болезни было обращено в последние десятилетия прошлого века, что положило начало новой науке - вирусологии, развитие которой началось лишь многие годы спустя, когда был создан электронный микроскоп. Достижения последних лет - определение уникальной особенности строения и специфичности вирусов - вызвали необходимость ввести новую, а также позаимствовать из других наук, терминологию.

1.1. Термины и понятия

Б а к т е р и о ф а г и - вирусы бактерий, способные специфически поражать бактериальные клетки, размножаться в них и вызывать их растворение (лизис).

В и р и о н - сформированная, инфекционная вирусная частица, переносит инфекцию из клетки в клетку. Внеклеточная форма существования вируса.

В и р о г е н - набор генов, активность которых приводит к злокачественным образованиям.

В и р о и д - инфекционный агент, представляющий собой низкомолекулярную одноцепочечную кольцевую РНК.

В и р у с ы - понятие сборное и относится ко всем формам возбудителя в процессе его развития. Состоят из нуклеиновой кислоты и белковой оболочки (капсида).

В и р у л е н т н о с т ь - степень болезнетворности (патогенности), зависит от инфекционных свойств патогенного агента и восприимчивости заражаемого организма.

И н ф е к ц и я - заражение, внедрение и размножение в организме человека, животных или растений патогенов. Завершается заболеванием хозяина или гибелью патогена.

К а п с и д - белковая оболочка вируса, предохраняющая его нуклеиновую кислоту от внешних воздействий, состоит из отдельных одинаковых морфологических единиц - капсомеров.

К а п с о м е р - белковая оболочка вируса, состоящая из одной или нескольких белковых молекул.

М и к о п л а з м ы - полиморфные внутриклеточные организмы, лишенные клеточной стенки, близкие по размерам к вирусам. Вызывают болезни растений типа желтух, ранее относившиеся к вирусным.

Р е п л и к а ц и я (редупликация) - удвоение молекул нуклеиновой кислоты, обеспечивает точное копирование генетической информации.

Р е п р о д у к ц и я - воспроизведение организмами себе подобных, то же, что размножение.

Р и к к е т с и и - мелкие патогенные организмы, размножающиеся подобно вирусам в клетках хозяина. Занимают промежуточное место между бактериями и вирусами.

Т р а н с д у к ц и я - перенос бактериофагом генетического материала из одной бактериальной клетки в другую, что приводит к изменению наследственных свойств клетки.

Т р а н с к р и п ц и я - биосинтез молекул РНК на соответствующих участках ДНК.

Т р а н с ф о р м а ц и я - изменение наследственных свойств бактериальной клетки, в результате проникновения в нее чужеродной ДНК.

1.2. Открытие вирусов

Вирусы были открыты в связи с бурным развитием микробиологии в конце XIX века (1892). Д.И. Ивановский, изучая мозаичную болезнь табака, обнаружил, что причиной заболевания является некое инфекционное начало, которое проходит через бактериальный фильтр. Профильтрованный сок табака вызывает заболевание здоровых листьев. Позднее в 1898 г. эти результаты были подтверждены М. Бейеринком, предложившим для инфекционного начала термин «вирус» - фильтрующийся вирус.

Вскоре были открыты и другие вирусы, вызывающие болезни растений, животных и человека.

Исследования Д.И.Ивановского. Наполнив капилляры соком больных мозаикой растений, исследователь уколами вводил его в ткани здоровых листьев. При этом на инокулированных растениях появлялись симптомы болезни. Это указывало на **к о н т а г и о з н о с т ь**, или **и н ф е к ц и о н н о с т ь**, сока больного растения. Далее Д.И. Ивановский установил, что возбудитель инфекции фильтруется через бактериальные фильтры с мельчайшими порами, т.е. возбудитель инфекции мельче наименьшей бактерии. При наблюдении фильтрата в обычный световой микроскоп в нем не было обнаружено никаких структур, которые наполнили бы микроорганизмы. Следовательно, инфекционный агент **н е в и д и м** в световом микроскопе.

Попытки культивирования вируса на искусственных питательных средах не дали результата. Фильтратом засеивались различные среды, применяемые для развития микробов, но на них ничего не росло. После многократных опытов Д.И. Ивановский пришел к выводу, что возбудитель мозаики табака не растет на искусственных средах.

Для проверки предположения, что растения отравляются бактериальными токсинами (ядами), было проведено четыре последовательных пассажа сока мозаичных листьев через несколько здоровых растений. Перед каждой инокуляцией (заражением) сок фильтровался через свечу Шамберлана, отчего патологический эффект должен постепенно ослабляться. Но обнаружилось, что зараженные растения заболели от "стерильного сока" и каждый раз передавали инфекцию следующему растению. Болезнь при каждом последующем пассаже проявлялась с одинаковой силой. Это возможно было только при размножении возбудителя.

Дальнейшими исследованиями была доказана корпускулярная природа возбудителя, т.е. сок больного растения не является чистой жидкостью, а содержит частицы.

Эти признаки и до настоящего времени служат основными критериями для характеристики вирусов.

Исследования М.Бейеринка. Вслед за Ивановским аналогичные исследования мозаики табака были проведены голландским микробиологом М. Бейеринком (1898).

Он тщетно пытался изолировать микроб, вызывающий мозаику, на агаровых средах. Фильтровал сок больных растений через бактериальный фильтр и установил инфекционность фильтрата. Бейеринку принадлежит большая роль в популяризации вирусологических идей в Европе, поскольку его работы вызвали острые дискуссии и способствовали становлению учения о вирусах, как науки.

Н.Ф. Гамалея пришел к аналогичным выводам в отношении вирусной природы возбудителей инфекционных болезней животных. Он заразил здорового теленка профильтрованной через бактериальный фильтр кровью больного чумой теленка. Тот заболел. Гамалея (1898) описал явление лизиса бацилл сибирской язвы под влиянием неизвестного агента и показал, что не только организмы могут поражаться вирусами, но и микробы нередко становятся жертвой мельчайших паразитов - "бактериолизин", которые в дальнейшем получили название бактериофагов (Де Эрелль, 1917).

В 1896 г. Д.Фриз наблюдал позеленение цветков у большого количества видов растений, что отнесли к вирусным болезням. При позеленении все элементы цветка превращаются в листочки. Только в конце 70-х годов этого столетия такие болезни, как позеленение лепестков, некоторые виды желтух, карликовость и другие были отнесены к микоплазменным.

В 1975 г. английский микробиолог Ф.Туорт, а в 1917 г. канадец Ф.Де Эрелль_независимо один от другого описали пожирателей бактерий, названных Де Эреллем бактериофагами.

Таким образом, в начале этрго столетия были открыты вирусы, которые поражают почти все царства природы.

К настоящему времени описаны вирусы всех групп живых организмов, как прокариотов: бактерий (бактериофаги), актиномицетов (актинофаги), сине-зеленых водорослей (цианофаги), так и эукариотов: грибов (микофаги), водорослей (альгофаги), вирусов различных групп животных, человека и высших растений.

Поскольку точные методы диагностики вирусов разработаны после 30-х годов, с этого времени начинается бурное развитие вирусологии, как науки, и все усилия были направлены на изучение этих ультрамикрорганомов. Было установлено, что вирусы существуют в двух разных состояниях: вне клетки в виде покоящихся вирусных частиц или вирионов

и в вегетативной форме внутри клетки. Именно в вегетативной форме проявляются все вирусные функции.

В октябре 1964 г. в Москве состоялась Международная конференция, посвященная 100-летию со дня рождения Д.И.Ивановского, на которую съехались ученые почти со всех стран мира. Была отмечена специфичность вирусов, которая заключается в том, что это особая группа, обладающая строгим паразитизмом на молекулярном уровне, а часто на молекулярно-генетическом. Изучение вирусов очень сложная проблема.

По заключению К.С.Сухова (1965), вирусы характеризуются следующими основными признаками: 1) очень малыми размерами, измеряются нанометрами; 2) отсутствием клеточного строения; 3) относительно простым химическим составом, простые вирусы состоят из белка и нуклеиновой кислоты; 4) неспособностью культивирования на искусственных питательных средах; 5) особым циклом развития в организме восприимчивого хозяина; 6) способностью некоторых из них кристаллизоваться при определенных условиях внешней среды. Таким образом, спустя многие десятилетия были полностью подтверждены высказывания Д.И. Ивановского.

Дальнейшее развитие вирусологии тесно связано с успехами молекулярной генетики в 60-х годах. Была установлена роль ДНК и РНК, открыты явления самосборки вирусных частиц и прочее.

Современная вирусология подразделяется на общую и частную. Общая - изучает строение и размножение вирусов, происхождение и распространение их в природе, взаимодействие с клеткой-хозяином. Частная - изучает определенные группы вирусов человека, животных и растений, вызывающих заболевание, и разрабатывает меры борьбы с ними.

В настоящее время описано около 1000 вирусов, в том числе около 500 вирусов, поражающих теплокровных позвоночных, и более 300 вирусов, поражающих высшие растения.

Таблица 1.1

Даты важнейших открытий в области вирусологии

Год	Автор	Открытие
1803	Э.Дженнер	Оспопрививание, прививка людям коровьей оспы
1892	Д.И.Ивановский	Впервые вирус табачной мозаики (ВТМ)
1896	Г.Де Фриз	Наблюдал позеленение цветов
1897	Ф.Леффлер.П.Фрош	Выделили вирус ящура
1898	М.Ф.Гамалея	Лизис бацилл сибирской язвы
1899	М.Бейеринк	Ввел термин "вирус"
1892-1903	В.Бабеш, А.Негри	Вирус бешенства
1908-1909	К.Лиидштейнер, Э.Поппер	Вирус полиомиелита
1915-1917	Ф.Туорт, Ф.Де Эрель	Открытие бактериофага
1928-1931	Е.Руска, М.Кноль, Б.Боррис	Предложили и сконструировали первый электронный микроскоп
1933	У.Смит, К.Эндрюс, П.Лэдлоу	1 Вирус фиппа А
1935	У.Стенли	Получил чистые кристаллы ВТМ
1937	Ф.Боуден, Н.Пири	Установление вирусных нуклеиновых кислот
1938	Х.Плотц	Вирус кори
1940	Френсис, Т.Меджия	Вирус гриппа В
1947	Р.Тейлер	Вирус гриппа С
1968	Э.Чейн	Выделил интерферон из вируса "х" картофеля
1970		Начало эпидемии СПИДа в Центральной Африке

1.3. Практическое значение вирусов

Практическое значение вирусов можно определить, если подсчитать убытки, которые причиняют различные вирусные болезни растений, животных и человека экономике народного хозяйства.

Фитопатогенные вирусы наносят большой экономический ущерб свекле, картофелю, злаковым бобовым, овощным, техническим, плодовым и ягодным культурам. Из истории фитовирусологии известно, что больные растения становятся предметом коммерческого использования. Это касается поражений вирусами декоративных цветов. Голландские цветоводы уже в 40-х годах 17 века знали, что полосатость одноцветных тюльпанов можно вызвать прививкой на них пестрых. Вид цветов настолько изменяется, что эти луковицы нередко продавались как новые разновидности.

Известно, что распространение на посадках какао в районе Берега Золотой Кости (Африка) вируса деформации побегов привело к нарастающей гибели деревьев. В 1939 г. погибло около 1 млн. деревьев, за период 1939-1945 гг. ежегодная гибель деревьев составляла до 5 млн. в год, а в течение 1945-1948 гг. - 15 млн. в год.

Широко распространены во всем мире вирусные болезни картофеля. Так, вирус скручивания листьев в отдельные годы снижает урожай в среднем на 50% и более, такие же результаты дает У-вирус, несколько меньше Х-вирус.

Особенно большие экономические потери причиняют вирусные болезни в условиях закрытого грунта. В теплицах инфекция быстро распространяется, т. к. растения растут скученно, соприкасаясь друг с другом. Количество больных растений может достигать 90 -100%.

Значение вирусов особенно велико для размножающихся вегетативным путем. Если вирус проник в растение, он распространяется во всех вегетативных органах и остается там долго, пока растение не отомрет. Дело в том, что большинство вирусных болезней не поддается лечению.

В растениеводстве хорошо известно заболевание под общим названием вирусное вырождение. Интенсивность этого явления зависит от вируса и

условий выращивания культуры. Если условия благоприятны для растения, то они снижают вирусную инфекцию и заболевание протекает в хронической или латентной форме. Если же растение ослаблено, то болезнь протекает в острой форме. Хорошо известно вирусное вырождение картофеля в южных районах земледелия. В результате заболевания на протяжении нескольких лет (обычно двух-трех) продуктивность культуры падает настолько, что дальше выращивать ее экономически невыгодно.

Большой ущерб свекловодству причиняет вирус желтухи, распространенный во всех районах свеклосеяния. Урожай корнеплодов больных растений в сравнении со здоровыми в среднем снижается на 20 %, а сахаристость до 1%. При раннем проявлении болезни, в начале вегетации, урожай может снизиться даже на 65% и более, сахаристость на 2-3%, а урожай семян на 50 % и более.

В результате вирусных инфекций в ряде районов Земного шара перестали выращивать малину, клубнику и некоторые другие культуры, исчезло много ценных сортов этих растений. Большое значение вирусные болезни имеют для* человека, вызывают эпидемии и даже пандемии.

Эпидемии гриппа периодически распространяются по Земному шару, приковывая миллионы людей к постели. Мы не всегда серьезно относимся к этому заболеванию. Между тем в 1918 году разразилась небывалая пандемия гриппа, получившая название "испанки". За полтора года пандемия охватила все страны, поразив более миллиарда человек. Болезнь протекала исключительно тяжело: около 25 миллионов человек погибло - больше чем на всех фронтах первой мировой войны за четыре года.

На протяжении всей истории человечество платит дань гриппу. Эта дань ежегодно исчисляется тысячами смертей, значительными расходами на лечение и огромным экономическим ущербом от потерь рабочего времени. Но кроме гриппа человека сопровождало и

продолжает сопровождать множество других вирусных инфекций. Среди них такие как оспа, бешенство, полиомиелит, корь, ящур, гепатит, энцефалит, паротит и другие, многие из которых поражают также и животных. Так, вирус бешенства поражает собак, кошек, крыс, лошадей, свиней, овец, белок. Причем частота случаев бешенства постепенно нарастает. Начиная с 80-х годов и по настоящее время число случаев бешенства среди животных увеличилось в несколько раз.

В предыдущем разделе были приведены некоторые примеры экономического и практического значения вирусов, но наука о вирусах имеет также и большое теоретическое значение. Так, были установлены природа, химический состав и структура строения вирусов, генетический код - эти исследования легли в основу молекулярной биологии. К этим разработкам были привлечены биологи разных специальностей, а также физики, химики и даже математики.

Вирусы все чаще и чаще встречаются в общей и научной литературе, т.к. они стали объектом изучения многих наук.

Для биолога вирусы - наиболее простые формы жизни, обладающие всеми основными свойствами её проявления.

Для эколога вирусы - факторы, участвующие в формировании сопряженных систем органического мира.

Для генетика вирусы - переносчики генетической информации.

Для энтомолога вирусы - паразиты, переносчиками которых являются насекомые.

Для паразитолога вирусы - наиболее частые и наиболее опасные паразитические агенты всего живого мира: от бактерий до цветкового растения, от инфузорий до человека.

Для дарвиниста вирусы - важнейшие факторы эволюции органического мира.

Для медика вирусы - наиболее частые возбудители тяжелых инфекционных заболеваний.

Для микробиолога вирусы - агенты, вызывающие появление токсических разновидностей бактерий; или факторы, способствующие развитию бактерий, устойчивых к антибиотикам.

Для патолога вирусы - этиологические агенты / причины / рака и лейкозов, наиболее частых патологических процессов.

Для агронома вирусы - возбудители многих болезней сельскохозяйственных растений: карликовость, скручивание листьев, мозаика и другие.

Для ветеринарного работника вирусы - виновники эпизоотии / массовых заболеваний /: ящура, птичьей чумы, инфекционной анемии и других болезней, поражающих сельскохозяйственных животных.

Для цветовода вирусы - факторы, вызывающие появление изумительных расцветок тюльпанов и других цветов.

2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ВИРУСОВ

Бурное развитие вирусологии, которое наблюдалось после 1955 г., стало возможным в результате использования новых методов исследования, основанных на наиновейших достижениях смежных наук, использования совершенной техники, чистейших и редких реактивов. Это позволило разработать точные методы диагностики и внедрения новых методов борьбы с болезнями, предупредить их распространение. А также установить строение и структуру вирусов.

Одним из первых методов исследования вирусов было фильтрование через бактериальные фильтры, основанное на механическом принципе - задержке крупных частиц. Как известно, вирусы свободно проходят через такие фильтры, отчего получили название "фильтрующиеся". Фильтруемость вирусов впервые отметил Д-И.Ивановский, который широко применял в своих Исследованиях метод фильтрации.

2.1. Фильтрация

Бактериальный фильтр впервые был создан Шамберланом в лаборатории Пастера в 1884 г. В настоящее время применяют фильтры и других марок. Это твердые фильтры, которые принято называть свечами (Шамберлана, Беркефельда, Мандлера, Крамера), полутвердые фильтровальные пластинки и мягкие (Гейма, Зейтца). Все фильтры состоят из различных материалов: фарфора, асбеста, силикатных волокон.

Фильтры различают по маркам и номерам. Так, фильтры типа Шамберлана обозначают латинской буквой "L" с номерами от 1 до 13. От L1 до L5 - крупнопористые, остальные мелкопористые. Чем выше номер фильтра, тем мельче поры. Недостаток "свечей" - они трудно очищаются и обезвреживаются.

Асбестовые фильтры (фильтры Зейтца) - диски. Они просты в обращении и позволяют применять каждый раз новую пластинку - диск.

Величина пор свечей от 4,5 мкм до 0,9 мкм; полутвердых и мягких - 1 мкм до 0,3 мкм.

Фильтры монтируют в стеклянных сосудах, фильтрация при вакууме. Прибор стерилизуют в автоклавах при температуре 120° С в течение 30 минут. Учитывая, что вирусы прочно связаны с тканевыми клетками, ткань тщательно растирают в ступке с добавлением стерильного песка. Растертый материал пропускают через фильтровальную бумагу или центрифугируют. Затем фильтрат или надосадочная жидкость фильтруется в бактериальных фильтрах при разрежении воздуха. Вакуум в приборе создают насосом.

Фильтрация - не простое прохождение взвеси (суспензии) через фильтр, а сложный физико-химический процесс и зависит от ряда причин: величины частиц вируса, величины пор фильтра, вязкости среды, адсорбции фильтруемого материала, разрежения воздуха и других.

2. 2. Культивирование вирусов в куриных эмбрионах

Метод культивирования в развивающемся курином эмбрионе предложен в 1931 г. Вудруффом и Гудпасчуром, а в 1940 г. уже было выполнено много работ по культивированию различных вирусов на куриных эмбрионах (оспы, герпеса, лихорадки и др.). Метод широко применяется и в настоящее время.

Куриное яйцо заключено в скорлупу, через поры которой совершается газообмен. Под скорлупой лежит подскорлупная оболочка. Основа яйца - желток, покрытый двумя нежными оболочками. К моменту отложения яйца образуется зародышевый диск в виде многоклеточной пластинки, распластанной на желтке. Вокруг желтка имеется белок, более жидкий ближе к периферии и более твердый вокруг желтка.

Для работы с куриными эмбрионами берут свежие яйца (лучше с белой скорлупой) их овоскопируют (просвечивают) и инкубируют при 38°C в течение 7-11 дней. Чаще всего используют 10-дневные эмбрионы (рис. 2.1).



Рис.2.1. Схематическое изображение 10-дневного эмбриона.

В результате дробления при помещении яйца в благоприятные температурные условия образуются три зародышевых слоя: эктодерма, мезодерма и энтодерма, из которых развиваются ткани и органы куриного эмбриона. Из эктодермы: амнион и хорион (серозная оболочка). Амнион находится в непосредственной близости к зародышу и представляет собой мешок, наполненный жидкостью, в которой находится тело эмбриона.

Амнионическая жидкость в начале развития эмбриона представляет физиологический раствор солей. После 12 дней развития эмбриона белок проникает в полость амниона. Первоначальное количество жидкости к 10 -11 дню развития эмбриона составляет в среднем 1мл.

Хорион прилегает к подскорлупной оболочке, наружный слой его состоит из однослойного эктодермального эпителия, под ним находится мезодермальная ткань. Через хорион совершается газообмен, он представлен как орган дыхания эмбриона. Между амнионом и хорионом расположен аллантоис - полый орган (мешок), он окружает зародыш с желтком. При дальнейшем развитии в аллантоисе развивается густая сеть кровеносных сосудов. Аллантоисный мешок является выделительным органом эмбриона. Количество жидкости, заполняющей аллантоис, около 6 -7 мл. Эмбриональная ткань с большим количеством быстроделющихся клеток, с высоким обменом веществ является благоприятной средой для культивирования многих вирусов. Почти во всех вирусологических лабораториях проводят работу на куриных эмбрионах.

В зависимости от изучаемого вируса используют эмбрионы разного возраста, чаще всего 10-11 суточные.

После заражения эмбрионы вновь инкубируют (от нескольких часов до нескольких суток). Например, вирус гриппа 48 - 72 часа, вирус осповакцины 3 - 4 суток.

Способы заражения эмбрионов вирусным материалом:

- на поверхность хорион - аллантоисной оболочки,
- в аллантоисную полость,
- в желточный мешок,
- в тело эмбриона.

При любом методе заражения скорлупу над местом введения вирусного материала обрабатывают спиртом и обжигают над огнем, затем покрывают слабым раствором йода и вновь обжигают.

Перед заражением определяют место введения вирусного материала, обводят его карандашом. В скорлупе выпиливают окошечко, осторожно отслаивают подскорлупную оболочку, для этого делают небольшую щель. Заражают шприцем.

После заражения окошечко в скорлупе закрывают стерильным покровным стеклом или целлофаном, или заклеивают стерильным парафином.

Помещают в инкубатор в специальных лотках. Окошечки должны находиться сверху.

После определенного срока инкубирования вскрывают куриные эмбрионы. Яйца охлаждают, чтобы сузились сосуды эмбриона. Охлаждают в течение 2 - 3 часов. Затем скорлупу дезинфицируют и стерильной пастеровской пипеткой отсасывают жидкость из полостей.

2.3. Культивирование вирусов методом культуры тканей

Впервые в 1874 г. А.Е.Голубев дал теоретическое обоснование возможности культивирования тканей вне организма, а начиная с 40-х годов XX века метод культуры тканей получил широкое применение во многих областях биологии.

Культивирование на предметных стеклах - это метод висячей капли (Гаррисон, 1907). Кусочек ткани помещают в питательную среду на покровное и опрокидывают на предметное стекло с лун-

кой. По краю покровное стекло заливается стерильным парафином. Недостаток метода в том, что количество выращиваемой ткани небольшое.

Культивирование в пробирках (Стренджуэйс и Фелл, 1926). Для культивирования используют обычные пробирки, с жидкой или твердой питательной средой.

Культивирование во флаконах (Каррель, 1923). Метод удобен для поддержания культур длительное время. Флаконы могут быть разных размеров и формы. Их можно заменить обычными колбами Эрленмейера. Во флаконах можно выращивать большое количество клеток. Флаконы должны быть с очень гладкими стенками, хорошими оптическими свойствами, чтобы можно было наблюдать рост под микроскопом. Культура ткани представляет собой кусочек органа или ткани, или отдельные клетки, развивающиеся и размножающиеся на питательных средах вне организма. Успех работы с тканями и клетками зависит от многих факторов:

- стерильности посуды, воздуха, среды ;
- температуры - для клеток млекопитающих оптимальной является температура 37 - 38° С , при температуре 45° С клетки погибают;
- полноценности питательных сред.

Питательные среды должны содержать углеводы, аминокислоты, витамины, гормоны. Готовят среды на физиологическом или сбалансированном солевом растворе. В специальных пособиях имеются многие прописи приготовления солевых растворов и добавок к ним. Кроме искусственно приготовленных сред для культивирования вирусов используют разнообразные ткани животных, человека, растений и насекомых. Выбор зависит от задач исследования и свойств вируса. Единственным условием должно быть использование тканей молодых организмов, особенно от эмбрионов.

Эмбриональные ткани получают от цыпленка, мыши, крысы и человека. Для культивирования виру-

сов берут почки, нервную ткань, лейкоциты, легкие, кожу и другое. Первичная ткань, посеянная на свежую питательную среду, называется субкультурой. Если субкультуру удастся приспособить к специальным питательным средам и перевивать очень долго, то такие культуры называются переевиваемыми. Перевиваемые тканевые культуры очень чистые. Они свободны от скрытых вирусов. Для освобождения от бактерий применяют антибиотики. Безусловно, при каждой операции должна соблюдаться строгая стерильность. Методика культивирования вирусов в растительных или животных тканях довольно сложная. В общих чертах сводится к следующему. Кусочки тканей величиной 2 - 4 мм промывают несколько раз буферным раствором (Хенкса) для удаления крови, слизи и других примесей. К промытым кусочкам прибавляют подогретый до 35° С 0,25% -й раствор трипсина и выдерживают в нем при помешивании 3 - 5 минут. Трипсин - фермент поджелудочной железы. Можно использовать и другие протеолитические ферменты, которые разрушают межклеточные связи, вследствие чего получается взвесь отдельных клеток, которые легко подсчитать.

*

Следующий этап - отделение клеток от трипсина. Для этого триптинизированные клетки разливают в стерильные пробирки и центрифугируют. Жидкость удаляют, а к осадку добавляют теплую питательную среду и фильтруют через несколько слоев марли. Затем берут 1 мл и подсчитывают число клеток. Подсчет клеток проводят в счетной камере Горяева. Это необходимо для того чтобы получить хороший монослой клеток. Имеется определенная оптимальная доза клеток в 1 мл для каждого вида ткани. Далее проводят посев взвеси клеток в пробирки или плоские флаконы, или иную посуду. Посуда должна быть плотно закрыта резиновыми пробками. Рост клеток заметен уже через 12-14 часов, но для работы с вирусами применяют 2-4 дневные посевы. Растущие клетки прочно прикрепляются к поверхности стекла под слоем питательной

среды. Снимают клетки соскобом. Если в этом есть необходимость. Если необходимо произвести посевы вирусов, действуют следующим образом.

Отбирают культуру клеток в пробирках или флаконах и сливают питательную среду. Часть культур оставляют в качестве контроля во флаконе и вносят свежую питательную среду (0,1 мл). В другую часть культуры вносят такое же количество (0,1 мл) вирусосодержащего материала.

Обе культуры помещают в термостат при температуре 37 °С на 20 - 30 минут. Затем в них добавляют по 0,9 мл питательной среды, ставят в термостат и ежедневно наблюдают, сравнивая опытные и контрольные. Отмечают морфологические изменения в клетках. При взаимодействии вирусов с клетками культуры тканей наблюдаются различные изменения. Среди них большое значение имеет степень чувствительности клеток к вирусу. Контакт вируса с восприимчивыми клетками сопровождается либо острой, либо латентной инфекцией клеток. При острой форме наблюдаются деструктивные изменения в зараженных клетках, часто приводящие к их гибели. При латентной инфекции репродукция вируса в клетках не сопровождается их гибелью. Клетки остаются жизнеспособными и внешне почти не отличаются от контрольных. Латентная инфекция характеризует уравновешенные состояния между патогеном и хозяином и обеспечивают вирусу наилучшие условия для размножения, выживания и распространения в природе.

2.4. Методы изучения вирусов на животных

Заражение лабораторных животных (биопроба) применяют для диагностики вирусных болезней, выделения вируса, изучения его биологических свойств (патогенности, иммуногенности и др.). Используются различные животные: мыши, крысы, свинки, кролики, обезьяны, собаки, кошки, лошади, бараны, куры, голуби. Для постановки опытов отбирают только

здоровых животных. Перед опытом каждое животное взвешивают и метят.

Вирусосодержащий материал подвергают специальной обработке. Для этого кусочки тканей, содержащих вирусы, измельчают. Затем из них готовят взвесь, центрифугируют и надосадочной жидкостью заражают животных путем укола шприцем. Подкожно, внутримышечно, внутривенно и т.д. При заражении необходимо учитывать избирательность вируса к определенной ткани. Так, нейротропные вирусы вводят в мозг уколом, респираторные - в нос, трахею ингаляцией. За зараженными животными ведут наблюдения ежедневно. В остром периоде болезни отбирают материал (кровь, смывы с носоглотки и зева, спинномозговую жидкость) и проводят анализы или получают вирусы в чистом виде.

2.5. Серологические исследования

Серологические или иммунологические реакции в вирусологии используют для диагностики и уточнения вирусных болезней. Реакции можно разделить на четыре класса: преципитации, агглютинации, связывания комплемента и нейтрализации. С этими реакциями связаны понятия: антигены, антитела, сыворотки. Антигены - вещества или чужеродные белки, которые вводятся в организм для образования в нем антител. Антитела - вещества белковой природы, образующиеся в организме и накапливающиеся в сыворотке крови при введении в организм чужеродных белков (антигенов). Сыворотки получают из крови животного, привитого определенной вакциной, выздоравливающего от вирусных инфекций. Сыворотки содержат антитела.

Реакция преципитации. Сущность реакции заключается в том, что в результате взаимодействия антигена (в данном случае вируса) с антителами иммунной специфической сыворотки происходит осаждение комплекса антиген-антитело. Для постанов-

ки реакции используют агаровые пластинки в чашках Петри. В нескольких местах агаровой пластинки делают небольшие углубления - луночки. Одну в центре, другие вокруг нее на некотором расстоянии. В центральную луночку вносят вирус, в остальные разные сыворотки или одну в разной концентрации. Как вирус, так и сыворотки диффундируют в агар - это встречная диффузия. На границе соприкосновения антигена и антитела образуют одну или две заметные беловатые линии - преципитация (осаждение специфического комплекса). Реакцию преципитации можно проводить и в пробирках. Это классический тест, используемый в работе с вирусами растений. В настоящее время имеются сыворотки против 90 различных вирусных болезней растений, применяемые для серологических реакций.

Р е а к ц и я а г г л ю т и н а ц и и . Ряд вирусов, вызывающих заболевания человека и животных, адсорбируется эритроцитами, в результате происходит выпадение эритроцитов в виде комка агглютината - реакция гемагглютинации. Этой реакцией обнаруживают вирусы чумы птиц, оспы голубей, чумы собак, гриппа человека и другие. Реакцию проводят на предметных стеклах или специальной доске с углублениями, или в пробирках. В лунки капают сыворотки, и к ним добавляют капли крови. При наличии вируса выпадает зернистый осадок. При отсутствии вируса образуется легкая муть, как в контроле. Реакция агглютинации проходит в две фазы: первая - соединение антигена с антителом, вторая - оседание комплекса антиген-антитело.

Р е а к ц и я с в я з ы в а н и я к о м п л и м е н т а . Реакция очень чувствительна и специфична. Ее используют для диагностики ряда вирусных инфекционных заболеваний. В реакции участвуют несколько компонентов: исследуемая сыворотка, антиген, комплимент морской свинки, гемолитическая система. В сыворотке больных гриппом, оспой, вирусным энцефалитом, риккетсиозами и т.д. обнаруживаются

комплиментсвязывающего тела. При постановке реакции связывания комплемента в качестве антигена используются животные, растительные, микробные клетки, вирусы и экстракты из клеток или продукты их расщепления. При вирусных заболеваниях антиген может быть получен из зараженных тканей, либо вирус получают из полостей зараженного куриного эмбриона. В качестве комплемента используется свежая или консервированная сухая сыворотка морских свинок - типоспецифическая, изготовленная на биофабриках. Гемолитическая сыворотка готовится также на биофабрике путем гипериммунизации кроликов взвесью отмытых эритроцитов барана. В кровяной сыворотке кроликов образуются антитела-гемолизины. Последние в присутствии комплемента вызывают гемолиз (растворение) эритроцитов, вследствие чего жидкость в пробирке окрашивается в красный цвет или становится прозрачной. В основной реакции связывания комплемента участвуют антиген, испытываемая сыворотка в различных разведениях и комплемент. Реакция проводится на холоде в течение 18 часов, после чего в пробирку добавляется гемолитическая система (сыворотка). Степень задержки гемолиза отмечают плюсами (+++, ++, +). В контроле (без используемой сыворотки и без антигена) должен наступить полный гемолиз.

Р е а к ц и я н е й т р а л и з а ц и и . Она основана на специфическом действии сыворотки, применяют её с диагностической целью и для типизации вируса. В пробирки помещают вирусосодержащий материал и добавляют специфическую иммунную сыворотку, содержащую антитела против гомологичного вируса. После контактирования смесь вирус+сыворотка вводят восприимчивым к данному вирусу животным. Контрольные животные получают вирус без сыворотки. Животные, привитые смесью вирус+сыворотка, должны остаться живыми, т. к. сыворотка нейтрализует патогенное действие вируса. Контрольные животные погибают.

Капельный метод. Принцип этого метода, получившего практическое применение, заключается в следующем. На стекло наносят каплю диагностической сыворотки и каплю нормальной сыворотки (т.е. сыворотки из крови животного, не подвергнувшегося введению антигена). К каждой из них добавляют по капле сока, отжатого из испытуемых растений, после чего смешанные капли выдерживают во влажной камере при 22 ° С в течение 40 минут. Нормальная сыворотка служит контролем. Реакция считается положительной, если в капле с диагностической сывороткой виден четкий осадок, отсутствующий в капле с нормальной сывороткой. Известны различные модификации этого метода.

2.6. Микроскопические методы

В вирусологии широко применяются различные методы микроскопии, целью которых является изучение морфологии вирусов и дифференциальной диагностики инфекционных вирусных болезней. Чаще всего прибегают к люминисцентной, электронной микроскопии.

Люминисцентная микроскопия. Это высоко чувствительный метод. Он основан на свойстве некоторых красителей люминисцировать в ультрафиолетовых лучах.

Установка для люминисцентной микроскопии состоит из трех приборов: микроскопа, осветительного устройства и источника света. Биологические объекты, которые исследуют в люминисцентный микроскоп, подвергают флуорохромированию (окрашиванию) специальными красителями. Окрашенные объекты поглощают энергию света, приобретают способность на темном поле в люминисцентном микроскопе светиться разными цветами. Этот метод используется для диагностики гриппа и других вирусных болезней, образующих внутриклеточные включения. Красители называются флуорохромами (флу-

оресцин, акридин — оранжевый и желтый, примулин, родамин и др.).

Пример: При исследовании препаратов вируса гриппа, полученных в виде отпечатков с носовой раковины, препарат выдерживают 10-15 минут на столике микроскопа под ультрафиолетовыми лучами. За это время нуклеиновая кислота под действием тканевых ферментов (рибонуклеаза) распадается и перестает светиться, и на фоне тускло-зеленой цитоплазмы четко выделяются ярко-красные гриппозные включения.

Люминисцентным методом можно выявить многие вирусы (осповакцины, желтой лихорадки, ящура, полиомиелита, краснухи и др.), используя материалы от больных — животных, человека или растений.

Электронная микроскопия. В Германии в 1932 г. был изготовлен первый электронный микроскоп, а спустя несколько лет он был использован для демонстрации частиц вируса табачной мозаики. Позднее была описана морфология других вирусов.

Принцип действия электронного микроскопа основан на свойстве электронов отклоняться в магнитном поле, подобно тому, как луч света преломляется линзами оптической системы светового микроскопа. Роль линз в электронном микроскопе выполняет круговое магнитное поле, которое фокусирует электронный пучок. Микроскоп имеет вид колонны, укрепленной на подставке и состоит из следующих основных частей: электронной "пушки" (источник электронов), трех электромагнитных линз (конденсорной, объективной и проекционной), предметного столика, экрана для изображения и окуляра, а также вакуумного насоса и источника электрического питания (рис.2.2).

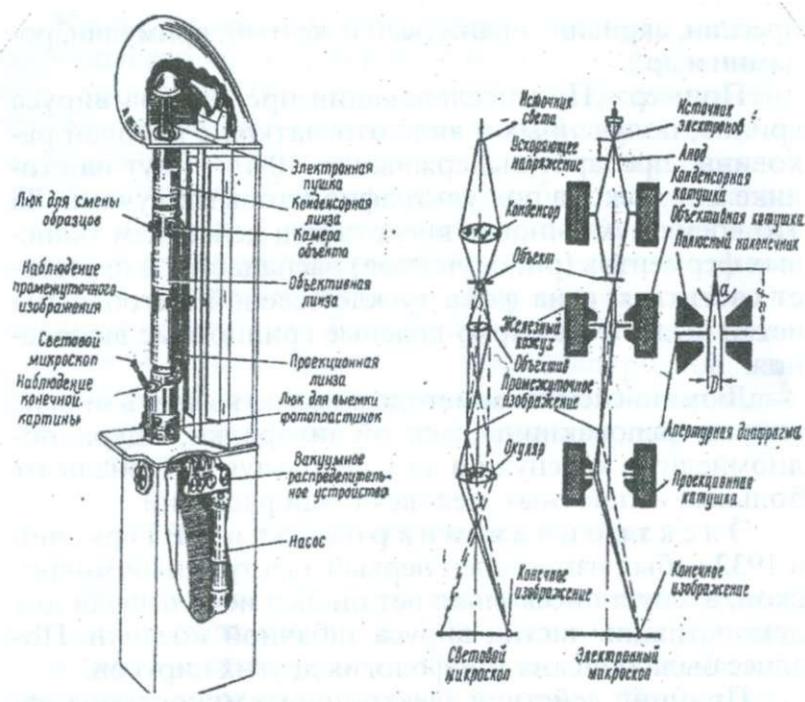


Рис. 2.2. Схема строения электронного микроскопа.

Отличия электронного микроскопа от светового заключаются в следующем. В световом микроскопе в качестве источника освещения используется дневной или электрический свет, в электронном - электронный пучок, источником которого служит электронная пушка, состоящая из катода, фокусирующего электрода и анода. Во - вторых, в световом микроскопе для увеличения изображения объекта служат стеклянные линзы, в электронном - пучок электронов с помощью конденсорных линз. В - третьих, в световом микроскопе свет проходит через воздушную среду, в электронном вся система помещается в вакуум, т.к. электроны не могут достаточно далеко распрос-

траняться в воздухе. В - четвертых, в световом микроскопе изображение объекта наблюдается непосредственно глазом, а в электронном - на флуоресцирующем экране. Объекты для наблюдения готовят на очень тонких пленках или сетках, называемых подложкой. Они заменяют предметные стекла. Перед исследованием препаратов в вакууме электронного микроскопа их подвергают высушиванию. Это производят на воздухе или замораживанием-высушиванием. Затем препараты необходимо контрастировать путем напыления слоя металла (хром, золото, палладий) или другими способами. В электронном микроскопе можно проводить исследования ультратонких срезов. Вирусосодержащий материал подвергается фиксации, обезвоживанию в спиртах повышающейся концентрации.

Затем материал подвергают заливке для изготовления блоков. И, наконец, приготавливают ультратонкие срезы на ультрамикротоме. Для приготовления ультрасрезов используют стеклянные, рубиновые, алмазные и металлические ножи. Срезы расправляют и переносят на подложки. Для повышения контрастности срезы "окрашивают" солями тяжелых металлов.

2.7. Методы выделения и очистки вирусов

Выделение вирусов. Начиная с 30-х годов **много** исследований было направлено на разработку методов выделения и очистки вирусов. Первыми выделенными и изученными вирусами были те, которые **более** или менее стабильны и содержатся в хозяине в относительно высокой концентрации (вирус табачной мозаики, X-вирус картофеля и некоторые другие растительные вирусы). Трудности изолирования вирусов заключаются в том, что методы эффективные в отношении одного вируса, могут быть неприменимы к **другому**. Даже разные штаммы одного и того же вируса

могут требовать различных методов. Источником выделения вирусов растений могут быть различные его части, в зависимости от заболевшего органа. Так, вирус мозаики табака сосредоточен в листьях, вирус ризомании - в корневой системе, а вирус желтой карликовости ячменя находится и движется во флоэме.

Для выделения вирусов человека и животных используют жидкости и ткани организма, в которых вирус содержится в наибольших количествах. Источником вируса могут служить: кровь, спинномозговая жидкость, содержимое кишечника, содержимое кожных высыпаний, носоглоточная слизь и смывы, моча, кусочки органов и тканей от трупов или забитых животных. При взятии материала учитывают особенности инфекции и локализацию вируса. Так, для диагностики заболеваний верхних дыхательных путей берут носоглоточные смывы, мазки из носа, зева, мокроту, когда поражена центральная нервная система - спинномозговую жидкость.

Полученный исходный материал необходимо размножить, т. к. в выделенных препаратах концентрация вирусов невелика. В растительных же тканях могут быть ингибиторы, сдерживающие размножение вирусов. К числу этих веществ относятся фенольные соединения, органические кислоты, слизи и камеди, некоторые белки и ферменты, особенно рибонуклеазы. Например, многие вирусы косточковых плодовых очень трудно или даже почти невозможно выделить из природных хозяев, т. к. в листьях большинства представителей розоцветных содержатся таннины, и притом в высокой концентрации. Кроме того, исходный материал помимо вирусов может содержать много примесей клетки-хозяина, размеры многих из них колеблются в тех же широких пределах, что и размеры вирусов. К этим частицам относятся рибосомы, фрагменты разрушенных хлоропластов и мембран, вещества с низкой молекулярной массой. Поэтому инфицированные вирусом ткани прежде всего подвергаются измельчению или гомогенизации, затем Измельченная ткань отжи-

мается через материю. Далее экстракт обрабатывается химическими веществами, с целью коагуляции большей части примесей. Обработанный экстракт центрифугируют при низкой скорости. Иногда вместо центрифугирования для первичного удаления примесей применяют фильтрование. Накопление (размножение) вирусов осуществляется описанными выше методами культивирования. Вирусы животных и человека культивируют в куриных эмбрионах или культуре тканей, взятых от животных. Реже - в организме молодых восприимчивых лабораторных животных. Для накопления и изучения онкогенных вирусов используют хомячков, а вируса гепатита - обезьян. Культивирование проводят и на других животных. Вирусы растений культивируют на восприимчивых растениях, выращиваемых в теплицах или оранжереях. Это должны быть молодые растения-индикаторы, без признаков болезней. Многие вирусы культивируются в тканях и клетках.

Получение очищенных препаратов вирусов. Изучение химического состава и морфологии вирусов стало возможным лишь после того, как были разработаны методы выделения и очистки вирусных препаратов. Впервые в 1935 г. У.Стенли, используя методы, разработанные в ферментологии, выделил очищенный препарат вируса табачной мозаики. Получив значительную массу вируса, Стенли смог дать его первую химическую характеристику. В настоящее время существует несколько методов получения очищенных вирусов - это физико-химический способ и ультрацентрифугирование. Физико-химический способ состоит из следующих этапов: отбор проб больных органов, гомогенизация материала, добавка буферных смесей, просветление инфекционного материала центрифугированием, освобождение от различных солей путем фильтрации на сефадексе. В последнее время физико-химические способы очистки вирусов вытеснило ультрацентрифугирование. Ультрацентрифугирова-

ние с использованием градиента плотности позволило точно характеризовать однородную фракцию инфекционного вируса и отличать её от других фракций, содержащих неинфекционные фрагменты вируса. Например, очистка вируса кольцевой пятнистости табака производится на холоде при центрифугировании сока, отжатого из пораженных листьев, сперва в обычной центрифуге для удаления крупных частиц, а затем в ультрацентрифуге при 30000 об/мин. Ультрацентрифугирование длится до 1,5 ч, появляется плотный осадок на дне пробирки. В этом осадке, кроме вируса, содержится примесь пигментов. Для освобождения от примеси осадок экстрагируется 0,1 М фосфатным буфером при рН 7. В этих условиях вирус переходит в раствор, а пигменты остаются в нерастворимом состоянии и удаляются при умеренном центрифугировании. Отделенная поверхностная жидкость вновь подвергается ультрацентрифугированию в течение 1,5 часов. Такое чередование умеренного и скоростного центрифугирования повторяется 3-4 раза, в результате чего получают хорошо очищенный гомогенный препарат вируса.

Сохранение вирусов. Существует много способов кратковременного и длительного сохранения вирусов. Их применяют в зависимости от цели исследований.

Для сохранения вирусов и дальнейших исследований их переводят в буферный раствор или бидистиллят и добавляют антисептики. Сохранение возможно на протяжении месяца при температуре 4° С, в обычном холодильнике. Сохранять вирусы можно путем лиофилизации. Для этого вирусы переводят в бидистиллят, концентрируют путем центрифугирования. Далее насыщенный суспензию подвергают лиофилизации. Сохраняют в герметично закупоренном сосуде. Для герметизации их запаивают в ампулы в азоте. Хранят в сухом льде или под вакуумом.

Для стабилизации вирусов во время хранения добавляют белки. Таким белком является альбумин. Он

растворяется в 50% растворе сульфата аммония на бидистилляте. Этот белок отличается от вирусного.

Суспензию вирусов можно сохранять, используя быстрое замораживание до аморфного состояния воды (. 37 - 39°). Для консервирования вирусной суспензии добавляют несколько капель п -бутанола, толуола, фенола или тимола.

Таковы в общих чертах наиболее распространенные методы культивирования, очистки и сохранения вирусов. Более полное знакомство с данными вопросами можно почерпнуть из справочников.

3. МОРФОЛОГИЯ И УЛЬТРАСТРУКТУРА ВИРУСОВ

Как и все живые существа, вирусы в период своей жизнедеятельности проходят индивидуальное развитие, которое по биологическому значению отвечает понятию онтогенеза. Первая фаза внеклеточная, когда вирус находится в состоянии покоя, получила название в и р и о н а. Вторая фаза - внутриклеточная включает весь цикл репродукции вируса в клетке хозяина. Немного известно о морфологии вирусов в период их репродукции, т. к. в этот период вирусные частицы неустойчивы и отличаются малой величиной и своеобразным способом синтеза и объединения структурных элементов. Цикл репродукции в клетках хозяина завершается образованием «зрелых» или покоящихся форм - вирионов, чаще называемых просто вирусами. Вирионы отличаются постоянством морфологии и строения, приспособлены к существованию вне клеток хозяина, способны проникать в нового хозяина.

3.1. Размеры и молекулярный вес

Величина вирусов определяется в нанометрах (нм), а измеряется разными прямыми и косвенными методами: электронной микроскопией, ультрафильтраци-

ей, ультрацентрифугированием, рентгеноструктурным анализом. Благодаря этим методам можно получить достоверные данные о размерах и морфологии вирионов. Размеры разных вирусов колеблются от 20 до 450 нм, иногда больше (таблица 3.1). Так, размер вируса ящура всего 20 нм, а вируса пситтакоза 455 нм. Первая величина близка к размерам белковых молекул. Вторая - близка к размерам мелких микробов. Условно по размеру вирусы делят на три группы: крупные, средние и мелкие. К крупным относят вирус коровьей оспы, осповакцины, величина которых 200 - 300 нм. Очень крупные вирусы мозаики сахарной свеклы, арбузов, Х-вирус картофеля (730-750 нм). К средним причисляют вирусы, размеры которых больше или меньше 100 нм, к ним относят многие вирусы растений, гриппа, бактериофаги. Мелкие вирусы: желтой лихорадки (22 нм), полиомиелита (10 нм). Размеры одного и того же вируса могут варьироваться в широких пределах.

Таблица 3.1

Размеры вирусов, (в нм)

Вирус	Электронная микроскопия	Ультрафилтрация	Ультрацентрифугирование
Коровьей оспы	227-305	125-175	170- 180
Герпеса	133-233	100-150	180 - 220
Табачной мозаика	15-300	100-150	-
Кори	90-100	-	-
Бешенства	110-120	100-150	-
Гриппа	123	80-116	70-116
Полиомиелита	8-27	8-12	28
Ящура	20-32	8-12	17-20
Фаги: головки,	47-104	-	-
хвосты	10-225	-	-

Молекулярный вес соответствует размерам. Мелкие вирусы ящура и полиомиелита имеют небольшой молекулярный вес - $0,4 \times 10^6$ и $0,7 \times 10^6$.

Молекулярный вес средних вирусов колеблется около 10^6 , а вирусов-гигантов, в зависимости от вида, может быть от 1400×10^6 до 8500×10^6 .

Для сравнения: размеры одного обычного среднего микроба 750 нм, молекулярный вес $173\,000 \times 10^6$.

3.2. Форма вирионов

Результаты электронно-микроскопических исследований показали, что вирусы по форме разделяются на несколько групп:

1. Сферическая форма. К этой группе относится большинство вирусов животных, человека, многих видов растений. В частности, вирусы гриппа, паротита, кори, куриной саркомы, японского энцефалита, арбовирусы, вирусы лейкоза кур и мышей и др.

2. Кубовидная форма - вирусы осповакцины, натуральной оспы, аденовирусы, энтеровирусы, реовирусы и др.

3. Нитевидная форма. Вирусы пожелтения сахарной свеклы, мозаики пшеницы, фасоли, сои, арбузов, X-вирус картофеля. *

4. Палочковидная форма. К ним относятся вирусы мозаики табака, штриховатой мозаики картофеля и много других.

5. Булавовидная форма. Характерна для вирусов бактерий - бактериофагов.

Форма вирионов определяется строением белковой оболочки, внутри которой содержится нуклеиновая кислота. Оболочку вирионов называют капсидом, а структуру которая состоит из нуклеиновой кислоты и капсида, - нуклеокапсидом.

3.3. Ультраструктура вирионов

Широкое развитие электронной микроскопии послужило основой углубления представлений о структуре вирусов. Было установлено, что капсиды вирусов

состоят из белковых субъединиц (капсомеров), которые стереотипно структурно повторяют химическое строение вириона. Согласно кристаллографическим закономерностям, почти все вирусы по типу структуры капсида (типу симметрии) делятся на три большие группы: спиральный тип (у вирусов с палочковидной и нитевидной формой), кубический тип (у сферических вирусов) и вирусы с комбинированным типом симметрии.

Вирусы со спиральной симметрией. Вирус табачной мозаики (ВТМ) наиболее хорошо изучен и является моделью для изучения вирусов со спиральной структурой белковой оболочки (рис 3.1).

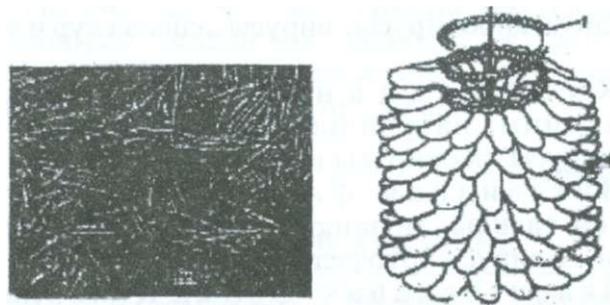


Рис. 3.1. Электронная фотография и схема строения вируса табачной мозаики.
1 - нуклеиновая кислота,
2 - белковые субъединицы.

Частица ВТМ представляет собой полый цилиндр ($D = 15 - 17$ нм, $L = 300$ нм). Стенка цилиндра образована спиралью, состоящей из однородных белковых молекул, или субъединиц, или капсомер. Каждая белковая субъединица имеет 158 аминокислотных остатков, которые определяют её молекулярный вес, равный примерно 18 000, а молекулярный вес всей частицы

ВТМ 49 800 000. Витки спирали плотно примыкают друг к другу. В одном витке около 16 субъединиц, а по всей длине вирусной частицы имеется 162 витка, которые содержат до 2650 белковых субъединиц. Внутри цилиндра находится полость, в ней проходит тяж РНК, следуя спирально между рядами белковых субъединиц. В тяж РНК по всей длине находится около 7900 нуклеотидов. Молекулярный вес РНК - $2-5 \times 10^6$, что составляет около 5,1% от молекулярного веса вириона. Каждая белковая субъединица содержит три нуклеотида. Результаты исследований некоторых других палочковидных вирусов указывают, что у них с ВТМ имеются общие черты организации, но деталями строения они отличаются.

Общие особенности ультраструктуры наблюдаются как у палочковидных, так и у нитевидных вирусов. Однако имеются и различия. Для тонких нитевидных вирусов характерен больший, нежели у ВТМ, шаг спирали, больший размер субъединиц, но число их меньше.

К у б и ч е с к а я с т р у к т у р а (изомерические капсиды). У многих видов вирусов вирионы имеют правильный многогранный капсид, чаще всего в виде икосаэдра, внутри которого располагается нуклеиновая кислота. Икосаэдр имеет 20 трехугольных граней, 30 ребер и 12 вершин. В каждой вершине сходятся 5 ребер. Такая структура называется икосаэдрической и встречается чаще всего у вирусов кубической формы.

В природе встречается еще 2 типа кубической симметрии: тетраэдрический (4 грани) и октаэдрический (8 граней). Широкое распространение икосаэдрической симметрии в построении вирусов объясняется тем, что в сравнении с другими типами симметрии - это наиболее выгодный и экономный вариант построения оболочки из наименьшего числа субъединиц (капсомеров).

Икосаэдрические оболочки встречаются у вирусов бородавок, полиомиелита, кустистой карликовости то-

матов, желтой мозаики, раневых опухолей и других. Поверхность кубических капсидов, состоящая из субъединиц (капсомеров), образована из отдельных элементов, уложенных со строгой периодичностью. Элементы состоят из 2,3,5,6 белковых субъединиц (из 2 субъединиц - димеры, из 3 субъединиц - тримеры, из 5 субъединиц - пентамеры, из 6 субъединиц - гексамеры). Периодичность элементов капсида вируса желтой мозаики турнепса хорошо видна на поперечном разрезе. Этот вирус состоит из 32 морфологических элементов, 12 представлено пентамерами и 20 - гексамерами, т. е. из 180 структурных субъединиц белка. РНК вируса образует «выступы», симметрично расположенные по отношению к капсомерам капсида (рис. 3.2).

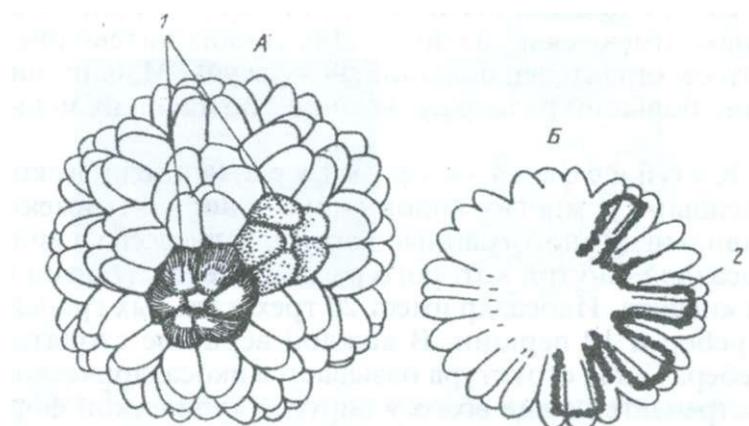


Рис. 3.2. Вирус желтой мозаики турнепса: А - модель вируса; Б - поперечный разрез модели. 1 - капсомеры; 2 - РНК.

Детальное электронно-микроскопическое изучение строения капсидов разных вирусов позволило обнаружить на их поверхности различные выросты, шипы (рис.3.3).

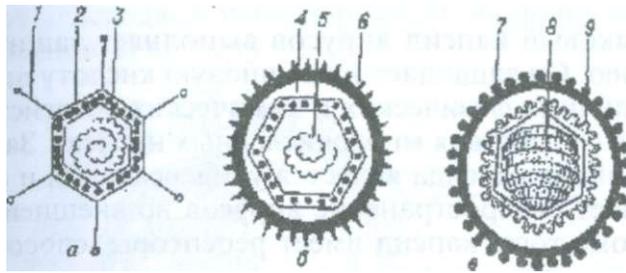


Рис. 3.3. Схематическое изображение структуры некоторых икосаэдрических вирусов со сложным капсидом:

а - аденовирус (1 - тонкие выросты на вершинах икосаэдра, 2 - белковый капсид, 3 - ДНК); б - вирус герпеса (4 - капсид, 5 - ДНК, 6 - оболочка с выростами); в- вирус саркомы Рауса (7-оболочка с выростами, 8-нуклеокапсид, 9- второй наружный капсид).

Вирусы с комбинированным типом симметрии. Представители этой группы вирусов имеют сложную организацию. Например, капсид характеризуется кубической симметрией, а размещенный внутри него нуклеопротеид уложен спирально. Хорошо изученным представителем сложно организованных вирусов является вирус мозаики люцерны (ВМЛ). В отличие от прочих вирусов, ВМЛ имеет характерно расположенные субъединицы в виде пента- и гексамер. Часть из них уложены спиральной и часть кубической симметрией.

Комбинированный тип симметрии имеют вирусы осповакцины, лейкозов, сарком и другие. К группе сложных вирусов относят некоторые виды фагов, которые имеют два разных типа симметрии (головка и отросток). У крупных, за исключением Т-парных, фагов кроме головки (кубической формы) есть отростки, которые имеют винтовую симметрию, и есть органы для прикрепления к клеткам бактерий.

3.4. Мембраны вирионов

Белковый капсид вирусов выполняет защитную функцию. Он защищает нуклеиновую кислоту вируса от различных физических и химических воздействий, а также от действия многочисленных нуклеаз. Защитная функция капсида является универсальной и обуславливает распространение вирусов во внешней среде. Кроме того, капсид имеет рецепторы, способные заражать клетки хозяина, т. е. капсид определяет хемосорбцию вируса на поверхности клеток. В процессе эволюции сложилась избирательность вирусов - поражать определенный тип хозяев и даже определенный тип клеток.

Детальное электронно-микроскопическое изучение строения капсидов сложных вирусов позволило обнаружить на их поверхности сильно выраженный белковый слой с четко обозначенной структурой в виде выступов, выростов, зубцов, шипов. Помимо белков капсид содержит липопротеиды, углеводы и неструктурные белки-ферменты. Так, у вируса гриппа имеется 550 выступов, состоящих из $3,6 \times 10^4$ фосфолипидных молекул. Липиды имеются у тогавирусов, рабдовирусов и миксовирусов. Липиды вирусных мембран заимствуются вирусами из клетки хозяина, так же, как и углеводы. Доказано, что даже различные штаммы одного и того же вируса содержат идентичные углеводы, если они размножаются в одном и том же хозяине. Углеводы представлены олигосахаридами.

О сложности строения наружных мембран вирусов можно судить на примере вируса гриппа (рис.3.4).

Вирус имеет форму, приближающуюся к шаровидной. Относится к группе ортомиксовирусов. В сердцевине вируса содержится рибонуклеиновая кислота, окруженная слоем белка внутренней оболочки. Наружная оболочка состоит из липидов, в которые погружены молекулы наружных белков - гликопротеидов. Их два: гемагглютинин и нейраминидаза. Гемагглютинин способен фиксироваться на поверхности эритроцитов

и склеивать их. Нейраминидаза фермент, отщепляющий от углеводной цепи наружной оболочки клеток нейраминную кислоту.

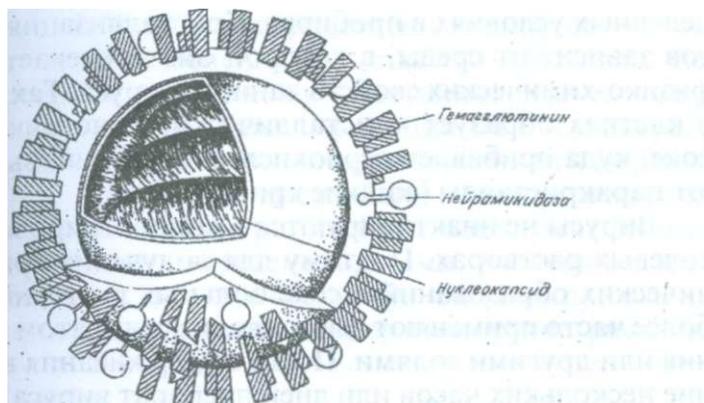


Рис. 3.4. Модель структуры вируса гриппа.

Эта кислота представляет собой сложный углевод и присутствует во всех животных клетках в составе **гликолипидов** и **гликопротеидов**. Гемагглютинин и нейраминидаза - белки-антигены. Они вызывают выработку **антител**, защищающих организм от повторного **заражения**. Оба белка, по мере циркуляции среди людей, **постепенно** меняются, а через 2-3 года настолько, что выработанный после заболевания иммунитет перестает, частично или полностью, защищать против повторного заболевания гриппом. Наружную оболочку вируса называют также суперкапсидом.

3.5. Кристаллизация вирусов и внутриклеточные вирусные включения

Некоторые вирусы, патогенные для растений и **животных**, способны кристаллизоваться. Впервые эту особенность вирусов открыл Д.И. Ивановский в клетках листа табака, пораженного мозаичной болезнью. Внутриклеточные кристаллы ВТМ называются теперь кристаллами Ивановского. Ему же принадлежит первое

описание аморфных вирусных включений, известных в литературе под названием Х-тела.

Вирусы могут кристаллизоваться как в естественных условиях внутриклеточной жизни, так и при определенных условиях в пробирке. Кристаллизация вирусов зависит от среды, в которой она протекает, и от физико-химических свойств данного вируса. Так, ВТМ в клетках образует кристаллические пластинки, а в соке, куда прибавлен сернокислый аммоний, выпадают паракристаллы (жидкие кристаллы).

Вирусы не инактивируются в концентрированных солевых растворах. Поэтому для получения кристаллических образований в соке больных растений наиболее часто применяют высаливание сульфатом аммония или другими солями. После выдерживания в течение нескольких часов или дней препарат вируса осаждают путем низкоскоростного центрифугирования. Различные типы вирусных включений могут быть обнаружены с помощью светового и электронного микроскопов.

Кристаллические включения, образуемые ВТМ, наиболее часто встречаются в эпидермальных клетках и в клетках волосков, расположенных в желто-зеленых участках листьев, тогда как клетки самих темно-зеленых участков не содержат включений.

Кристаллы и паракристаллы образуются не только в клетках эпидермиса и волосках листа, но и в эпидермальных клетках лепестков и цветов, в ядрах и цитоплазме любых клеток растений, животных и человека. У последних в клетках мозга, печени, желчных протоков и других органов. Согласно современным представлениям существует четыре основных типа внутриклеточных включений: 1) включения, имеющие кристаллическую форму, которые состоят из более или менее правильно расположенных вирусных частиц; 2) включения, имеющие вид аморфных тел и содержащие разное количество вирусных частиц, а также некоторые компоненты клетки-хозяина; 3) включения, которые содержат вирусный структурный или неинден-

тифицированный белок, упакованный в виде волокон или трубочек; 4) клеточные включения, состоящие почти из видоизмененных клеточных органелл. Предполагается, что тип включений соответствует определенным вирусам или группе родственных вирусов.

Вирусные включения, в частности кристаллы, не подвергались детальному кристаллографическому изучению, поэтому классификация их отсутствует, однако, они обладают различным строением и формой (табл.3.2). Кристаллы могут быть прямоугольными пластинами, восьмигранными, полиэдрическими; паракристаллы - веретеновидными, петлевидными, игольчатыми; включения могут быть округлыми, гомогенными, неправильной формы и другие (рис.3.5).

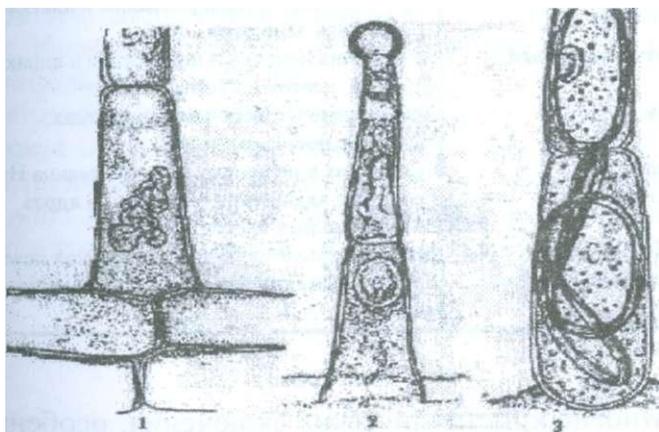


Рис. 3.5. Различные типы вирусных включений в клетках волоска табака, зараженного различными штаммами вируса: 1 - гексагональные кристаллы; 2-округлый кристалл; 3-петлевидный паракристалл.

Таблица 3.2

Внутриклеточные включения при вирусных болезнях растений, животных и человека

Заболевание	Форма и местонахождение включений
Мозаика табака	Гексагональные призмы в клетках эпидермиса, паренхиме листьев и других органов
Кольцевая пятнистость табака	Прямоугольные кристаллы в клетках эпидермиса листьев
Мозаика огурца	Веретеновидные паракристаллы в клетках эпидермиса листьев, слоистые пластинки
Желтая мозаика фасоли	Изометрические кристаллы в ядре и цитоплазме эпидермиса листьев
Мозаика свеклы	Веретеновидные паракристаллы в клетках флоэмы
Закукливание злаков	Петлевидные и игольчатые паракристаллы в клетках эпидермиса листьев
Мозаика тюльпана	Веретеновидные паракристаллы в клетках эпидермиса лепестков
Желтая лихорадка	Включения неправильной формы в ядрах нервных клеток и клеток печени
Корь	Внутриядерные включения в клетках эпителия носоглотки
Бешенство	Включения в нервных клетках - тельца Негри
Герпес	Кристые включения (колонии) в ядрах эпителиальных клеток
Гепатит Боткина	Внутриядерные включения в клетках печени
Чума птиц	Гомогенные включения в цитоплазме клеток мозга

Многие кристаллические включения, особенно в форме пластинок, нестабильны и легко разрушаются при повреждении клеток. Кристаллы ВТМ содержат около 60 % воды и состоят в основном из последовательно расположенных слоев плотно упакованных параллельных палочек вирусных частиц. Ряды этих вирусных частиц располагаются под углом друг к другу, что напоминает кладку кирпича.

Процесс образования кристаллов происходит следующим образом. На первых стадиях в цитоплазме

инфицированных ВТМ волосков листа вирусные частицы находятся в свободном состоянии в форме небольших агрегатов параллельно расположенных палочек, соединяющихся торцами. Эти агрегаты затем увеличиваются в размерах и образуют пластинки. В процессе роста они становятся многослойными, между их слоями иногда оказываются остатки частиц эндоплазматической сети, митохондрий и даже пластид.

В клетках, инфицированных ВТМ, образуются также аморфные включения. Включения этого типа появляются в форме гранул в цитоплазме инфицированных клеток. С течением времени гранулы сливаются, образуя крупные включения. Аморфные включения более стабильны по сравнению с кристаллическими. С помощью микрургических методов удалось изолировать эти включения и показать, что они содержат вирус. Иногда эти аморфные включения преобразуются в небольшие кристаллы.

Образование различных включений определяет покойное состояние вирионов. Вирусы, находящиеся в вегетативной стадии развития в клетках хозяина, не образуют кристаллов и включений. Предполагается, что упаковка вирионов в кристаллах или плотных аморфных включениях имеет приспособительное значение.

4. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ВИРУСОВ

Исследования химического состава вирусов начаты в 40-х годах. В 1935г. У. Стенли впервые получил очищенный препарат вируса табачной мозаики. На начальных этапах изучения химии вирусов значительную роль сыграли цитохимические исследования, которые позволили выявить некоторые элементы и молекулярные компоненты вирусных препаратов. Достоверные данные о химическом составе вирусов до настоящего времени получены в отношении растительных вирусов и фагов, вируса гриппа, полиомиелита, осповакцины и некоторых других.

4.1. Элементарный состав вирусов

Анализ элементарного химического состава показал, что вирусы содержат углерод (около 50%), водород (около 7%), азот (около 15-17%). Содержание серы не более 1,6%, или она вовсе отсутствует, и зависит от количества серосодержащих аминокислот в белке вируса. Количество фосфора варьирует от 0,5 до 4,0%, весь или почти весь фосфор сконцентрирован в нуклеиновых кислотах. Углеводы в вирусах присутствуют в виде рибозы (РНК) или дезоксирибозы (ДНК).

Таблица 4.1

Элементарный химический состав некоторых вирусов в, %

Вирус	С	Н	N	P	S	Зола
Мозаики табака	51,0	7,6	16,6	0,6	0,2	2,5
X-вирус картофеля	49,0	7,0	16,4	0,4	-	2,7
Некрозы табака	45,0	6,5	16,3	1,6	1,6	6,5
Гриппа	53,0	-	10,0	0,9	-	-
Осповакцины	33,7	-	15,3	0,6	-	-
Бактериофаг Т,	42,0	-	13,5	5,0	-	-

Общеизвестно какое важное значение имеет вода в живых клетках. Вирусы, как компоненты живой природы, также содержат значительное количество связанной воды, причем содержание ее в мелких вирусах равно примерно массе нуклеопротеидов.

Специальные измерения под микроскопом кристаллов вируса кустистой карликовости томатов (ВККТ) показали, что в них содержится около 47% воды. Аналогичные исследования с вирусом желтой мозаики турнепса (ВЖМТ) позволили выявить в кристаллах этого вируса до 58 % воды. На основании дальнейших исследований было высказано предположение, что степень гидратации вирусов в кристаллах может быть еще более высокой.

Исследованиями последних лет установлено, что от 10 до 50% массы вирусных частиц (в суспензии) составляет вода. При определении химического состава вирионов все расчеты проводятся на сухую массу вирусных частиц.

Зрелые вирусные частицы (вирионы) простейших вирусов состоят только из белка и нуклеиновой кислоты. К их числу относятся почти все фитопатогенные вирусы, многие вирусы патогенные для животных и человека, возбудители заболеваний насекомых и бактериофаги.

4.2. Белки вирусов

С помощью различных методов анализа оказалось возможным изучить в очищенных препаратах вирусов белковый и аминокислотный состав. Установлено, что вирусные белки построены из тех же аминокислот, что и клетки их хозяев. Так, белки вируса гриппа состоят из аланина, аспарагиновой кислоты, глицина, серина, треонина, валина, аргинина, глутаминовой кислоты, лизина, триптофана и тирозина. Дальнейшие исследования показали перегруппировку аминокислотного состава, замещение одной аминокислоты другой, отсутствие отдельных аминокислот. В некоторых случа-

ях удалось установить различия в аминокислотном составе дикого штамма ВТМ и его мутантов. Вирус табачной мозаики включает аминокислоты: аланин, аргинин, аспарагиновую кислоту, валин, глутаминовую кислоту, изолейцин, лизин, пролин, тирозин, треонин, триптофан, серин, фенилаланин, цистеин. Следовательно, наблюдаются различия между аминокислотным составом ВТМ и вирусом гриппа, т.е. для каждого конкретного вида вирусов характерен свой структурный белок.

Изучение аминокислотного состава вирусов выявило еще одну особенность - химическую природу вирулентности. Два штамма X-вируса картофеля (один из них сильно, а второй средневирулентный) различались по содержанию метионина. В средневирулентном штамме он отсутствовал, а в сильновирулентном содержалось значительное количество. Для данного вируса наблюдается корреляция между вирулентностью и содержанием метионина. Широко специализированный штамм вируса обыкновенной огуречной мозаики содержит в 26 раз больше метионина, нежели вирус узкоспециализированный мозаики дикого огурца.

Вирусные белки, как компоненты вирионов, выполняют защитную, адресную и регуляторную функции. Некоторые исследователи подразделяют белки, образующиеся во время вирусной инфекции, на три группы: 1) белки, которые катализируют репликацию нуклеиновой кислоты вируса; 2) белки структурные, которые входят в состав новых вирионов; 3) белки, которые могут изменять некоторые функции или структуру клеток хозяина.

4.3. Нуклеиновые кислоты

Вторым основным компонентом вирусов есть нуклеиновая кислота (РНК или ДНК). Они имеют наибольшее значение в биохимических процессах вирусов - размножении, инфекционности, изменчивости. Изучение нуклеиновых кислот проводят на очищенных или

частично очищенных препаратах. Очистку проводят физическими или химическими методами, позволяющими удалить вирусный белок и выделить нуклеиновую кислоту. Последняя должна быть защищена от действия нуклеаз хозяина (экзонуклеаз).

Вирусы содержат всегда один тип нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК). В зависимости от типа нуклеиновой кислоты вирусы подразделяются на ДНК-геномные или ДНК-содержащие и РНК-геномные или РНК-содержащие. Однотипная нуклеиновая кислота вируса совмещает в себе функции обеих кислот - ДНК и РНК.

Длительное время считали, что растительные вирусы содержат только РНК. Однако, в 1968 г. было установлено, что вирус мозаики цветной капусты (ВМЦК) имеет двухцепочечную ДНК.

В 1959 г. одноцепочечную ДНК обнаружили у одного из видов бактериофага, хотя большинство прочих фагов включает двухцепочечную ДНК. В настоящее время одноцепочечные ДНК составили ряд семейств: некоторые вирусы позвоночных животных, насекомых и мелких фагов. Строение одноцепочечной ДНК кольцевое. »

Типичная природная форма двухцепочечной ДНК характерна для вирусов, поражающих человека, животных, бактерии и немногие растения. Её строение линейное. Таким образом, ДНК-геномные нуклеиновые кислоты могут иметь линейное и кольцевое строение. У линейной ДНК её конец повторяет начало, т.е. конец и начало имеют идентичные нуклеотиды. Для кольцевой ДНК характерна очень сильная спирализация (суперспирализация). Это позволяет нуклеиновой кислоте уложиться в небольшом объёме капсида. Такая дополнительная спирализация молекулы ДНК сопровождается изменением её физико-химических и биологических свойств.

РНК-геномные нуклеиновые кислоты также представлены двумя типами: одноцепочечная и двухцепочечная. Обе линейные. Большинство вирусов растений

и некоторые вирусы животных и человека имеют обычную природную типовую одноцепочечную РНК. Она чрезвычайно чувствительна к действию экзорибонуклеаз. В процессе очистки и выделения РНК достаточно следов рибонуклеаз из клеток, чтобы произошли разрывы в нуклеиновой кислоте. При этом полностью или частично теряется инфекционность нуклеиновой кислоты.

Двухцепочечная РНК впервые была открыта в 1962 г. в составе вирионов реовирусов. РНК реовирусов представляет собой не непрерывную двухцепочечную структуру, а состоит приблизительно из 10 — 11 отдельных двухцепочечных фрагментов. Кроме того, в вирусной частице содержатся небольшие одноцепочечные полинуклеотиды, богатые адениловой кислотой. Существует предположение, что двухцепочечная структура необходима вирусам для того, чтобы сделать их более стабильными в отношении клеточных нуклеаз.

Вирусы, состоящие из фрагментов, относятся к обширной группе с фрагментированным геномом или многохромосомным геномом.

О количестве нуклеиновых кислот в сравнении с содержанием белка можно судить по следующим данным. Количество РНК (в %) в вирусах табачной мозаики содержится 5,0; X-картофеля - 6,0; некроза табака - 18,0; мозаики люцерны - 19,0; мозаики арбуза и мозаики дикого огурца по 35,0; кольцевой пятнистости табака - 35,0 - 44,0. Соответственно количество белка вирус табачной мозаики содержит 95,0; X-картофеля - 94,0; некроза табака - 82,0; мозаики люцерны - 81,0; кольцевой пятнистости табака - 65,0-56,0; мозаики арбуза и дикого огурца - по 65,0%. Следовательно, содержание нуклеиновой кислоты колеблется в широких пределах от 5% у вирусов табачной мозаики до 45% у вирусов кольцевой пятнистости табака.

Высокое содержание РНК в растительных вирусах говорит о том, что в клетках растений происходит значительный синтез белка. Поэтому растительные виру-

представляют собой идеальный материал как для Лучения СИНТЕЗА СПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ, так и для решения основных проблем ГЕНЕТИКИ. Способность РНК к самовоспроизведению, что определяет ее свойство генетической непрерывности, относительная простота химической структуры нуклеопротеидов, включающих РНК и белок, - все это выдвигает РНК растительных вирусов на первый план в изучении проблемы биологической роли нуклеиновых кислот.

Содержание ДНК в вирусах также может быть различно. Незначительное количество нуклеиновой кислоты содержит вирус осповакцины - 5,6 %, папилломы - 9,0 % и высокое содержание в Т-четных фагах - 40-45 % к весу частицы.

Нуклеиновые кислоты вирусов построены из пентозы - d-рибозы или d-адезоксирибозы, соединенной с фосфорной кислотой и с пуриновым (гуанин, аденин) или пиримидиновым (тимин, урацил, цитозин, метилцитозин) основанием. РНК отличается от ДНК по сахару и по одному из оснований (урацил вместо тимина).

Количественный нуклеотидный состав оснований нуклеиновых кислот у растительных вирусов, бактериофагов, вирусов человека и животных, вирусов насекомых различен у различных видов. Длина молекулы нуклеиновой кислоты для каждого вируса постоянна. Но у разных вирусов варьирует от нескольких тысяч до 250 000 пар нуклеотидов. Если предположить, что один ген имеет в среднем 1000 нуклеотидов, то мелкие вирусы содержат менее 10, а крупные - несколько сот генов. Геномы крупных вирусов осповакцины, герпеса могут кодировать до 100 белков. Геном мельчайшего вируса некроза растений кодирует только один капсидный белок.

Ниже приводим краткую характеристику некоторых наиболее распространенных вирусов (табл. 4.2).

Таблица 4.2

Характеристика нуклеиновых кислот вирусов

Вирус	Тип нуклеиновой кислоты	Структура генома			
		Число цепей	Линейная или кольцевая	Число фрагментов	Молекулярная масса генома x 10 ⁵
Осповакцины	ДНК	2	Л	Н.Ф.	160
Герпеса	ДНК	2	Л	Н.Ф.	100
Полиомиелита	РНК	1	Л	Н.Ф.	2,6
Саркомы Рауса	РНК	1	Л		7,0
Гриппа А	РНК	1	Л	28	5,0
Мозаики табака	РНК	1	Л	-	39,0
Желтой мозаики турнепса	РНК	1	Л		5,0
Фаг fd	ДНК		К	Φ = 10	
Реовирусы	РНК	2	Л		15,0

Примечание:

Л - линейная; К - кольцевая; Н.Ф. - нефрагментированная; Φ - фрагментированная.

4.4. Другие химические компоненты

Кроме белков и нуклеиновых кислот в состав вирусных частиц могут входить липиды, углеводы, полиамины, фосфаты и другие вещества. Эти и другие компоненты встречаются в редких случаях, в основном в капсидах сложных вирусов.

Наибольшее количество липидов у вирусов животных (до 20-40 % сухого вещества вируса). Это систематический признак для всех крупных вирусов животных, которые содержат одноцепочечную РНК. Липиды формируются на цитоплазматической мембране, о чем упоминалось выше. Характерным для вирусов, которые содержат липиды, является то, что все без исключения липиды, не кодируются вирусами, а имеют клеточное происхождение.

Углеводы выявляются у сложноорганизованных вирусов, которые имеют белковый или липиднопротеидный суперкапсид. К таковым относятся ортовирусы, миксовирусы, вирусы оспы, герпеса и др. Количество Сахаров может достигать 10-13 % от сухой массы вируса. В суперкапсидах содержатся олигосахариды. Как и липиды, углеводный комплекс вирусов определяется клеткой хозяина.

В разное время в литературе появлялись сообщения относительно обнаружения вирусной ферментативной активности, особенно у вирусов растений. В то же время многие исследования показали, что ферменты не входят в состав самого вируса, а адсорбируются на вирусных структурах. Тем не менее имеются данные о некоторой ферментативной активности Т2 фага. Хвостовой отросток этого бактериофага содержит фермент типа лизоцима, способный растворять оболочку бактерий и внедряться внутрь клетки. С достаточной достоверностью энзиматическая активность была обнаружена у вируса гриппа. Эта активность связана с наличием нейраминидазы. Это фермент, отщипляющий от углеродной цепи наружной клеточной оболочки нейраминную кислоту.

Исследования химического состава вирусов растений позволили установить, что зольная фракция очищенных препаратов содержит различные металлы. В вирусах были обнаружены кальций, натрий и следы других металлов. Так, в вирусе кустистой карликовости томатов, кроме кальция и натрия, присутствовали следы 12 металлов, в ВТМ - около 9. Причем содержание металлов в препаратах ВТМ, выделенных из трех различных хозяев, оказалось очень сходным. Большая часть ионов металлов взаимодействует с кислотными группами белковой оболочки, а иногда нуклеиновой кислотой. На 6500 нуклеотидов ВТМ приходится примерно 50 атомов различных металлов. Предполагается, что металлы влияют на матричную или информационную функцию вирусной РНК.

4.5. Вироиды

В 70-х годах этого столетия были открыты маленькие «голые», т.е. лишенные белковой оболочки, свободные молекулы РНК. Это замкнутые в кольцо одноцепочечные молекулы с длиной цепи примерно в 360 нуклеотидов. Они в 10 раз меньше инфекционных РНК - самых мелких из известных до сих пор вирусов.

Отличительной особенностью этой группы субмикроскопических представителей является то, что они не обладают способностью кодировать специфические белки, оболочки. Предполагается, что репликация РНК вироидов происходит с помощью ДНК хозяина.

Описано несколько заболеваний растений вироидной этиологии: веретеновидность клубней картофеля, бледноплодность огурцов, карликовость хмеля, хлоротичная крапчатость хризантемы, болезнь кокосовой пальмы - каданг-каданг.

Вироидам присущи высокая инфекционность, устойчивая циркуляция в природе, термостабильность, стойкость к воздействию различных химических соединений.

Проблема вироидных болезней касается не только растительного мира, с тяжелыми, а порой невыясненными болезнями растений, но и является общебиологической проблемой. Открытие нового патогена, вироида веретеновидности клубней картофеля (ВВКК), стимулировало изучение болезней неизвестной этиологии, идентификация возбудителей которых встречала и встречает затруднения. Определилось новое направление в исследованиях вирусоподобных заболеваний человека и животных.

В настоящее время некоторые исследователи высказывают гипотезу о вироидозной природе заболевания овец, известного под названием «скрейпи» или почесуха. Эта болезнь относится к так называемым «медленно протекающим инфекциям», инкубационный период которых длится несколько месяцев или лет. В пользу вироидной природы возбудителя этой болезни

0 некотором его сходстве с ВВКК свидетельствуют экспериментальные данные, подтверждающие отсутствие вирусных частиц, наличие низкомолекулярной $(2 \times 10^4 - 2 \times 10^5)$ нуклеиновой кислоты, входящей в состав возбудителя скреппи, устойчивость к повышенной температуре и очень высоким дозам облучения ультрафиолетом.

Многие вопросы, связанные с репликацией вирионов, особенностями их взаимоотношений с клеткой и организмом хозяина, остаются мало исследованными и нуждаются в дальнейшем изучении.

5. ВИРУСЫ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА

Многие факторы внешней и внутренней среды вызывают характерные структурные и биологические свойства вирусов. Множество физиологических и химических факторов инактивируют вирусы или вызывают различную степень их устойчивости к этим воздействиям, появляются новые типы, или штаммы, представляющие большой интерес для познания вирусной природы. Особенно остро данный вопрос стал с тех пор как в 60-х годах было установлено, что «голая» интактная РНК вириона обладает инфекционностью. Наибольшее внимание было сосредоточено на том, какое влияние оказывает действие различных факторов на нуклеиновые кислоты вирусов внутри клетки и вне ее, т.е. в состоянии вегетативного покоя.

5.1. Температура

Температурные условия играют большую роль в жизни вирусов. От окружающей температуры в сильной степени зависит скорость размножения вирусов в растительной клетке. Температурные условия также определяют выживаемость вирусов во внешней среде, вне организма. Нагревание в организме применяется в основном для растительных вирусов. Этот ме-

год применяется на ранних этапах исследования вирусов. Зараженные ткани или вытяжки из них выдерживали 10 минут при разных температурах. Критическая температура, при которой вирус терял инфекционность, назвали «термальная точка гибели». Для многих вирусов самые высокие температуры, при которых после нагревания в течение 10 минут еще можно обнаружить небольшую инфекционность, лежат в пределах 40-95°C (табл.5.1). Падение инфекционности при повышающихся температурах происходит постепенно. Был введен коэффициент температурной инактивации (Q10), т.е. при температурах, различающихся на 10°C. Например, вирус некроза табака претерпевает значительное снижение инфекционности™ за 10 минут при 50°C, а точка его полной инактивации лежит около 80°C. Для этого вируса Q10 равно 72°C, при этом сохраняется ничтожная инфекционность.

Устойчивость к температуре, превышающей 70 градусов, свойственна немногим вирусам. Вирус мозаики табака и вирус огуречной мозаики 2 полностью инактивируются при 90-93°C после 10-минутной экспозиции. Вирус С I коровьего гороха не инактивируется полностью даже при температуре 108°C. Он занимает среди вирусов исключительное место по устойчивости к повышенной температуре.

На критическую температуру вирусов большую роль оказывают многие условия. Устойчивость вирусов к нагреванию зависит от рН среды. Так, ВТМ при рН 7 инактивируется в течение 10 мин при 75°C, а при рН 5,5 за то же время инактивация оказывается неполной даже при 90°C. Вирусы, находящиеся в растительном соке, где присутствуют электролиты и белки, более устойчивы к повышенной температуре, чем очищенные вирусные препараты.

Устойчивость некоторых вирусов к повышенной температуре зависит от условий выращивания растений, температуры, при которой произрастает растение-хозяин, сроков вегетации и других причин.

Таблица 5.1.

**Температура инаktivации вирусов при 10-минутной
экспозиции инфекционного сока**

Имя болезни или вируса	Температура инаktivации, °C
Бронзовость томата	42
Мозаика свеклы	55-60
Курчавость верхушки свеклы	76-79
Кольцевая мозаика томата	80
Веретеновидность клубней картофеля	60-65
Мозаика тюльпана	65-70
Мозаика лука	70
Некроз табака	72
Желтая карликовость лука	75-80
Крапчатая мозаика табака	90
Обыкновенная мозаика табака	93
Вирус С коровьего гороха	104-108
Вирус С I коровьего гороха	свыше 108

Некоторые вирусы, в условиях внутриклеточного существования, инаktivируются при действии повышенной температуры на растение. В данном случае температура не настолько высока, чтобы вызывать прямую инаktivацию вируса, но она может способствовать накоплению в растении веществ, инаktivирующих вирусы или приостанавливающих их размножение. Если повышенная температура препятствует размножению, то возобновление вирусных частиц прекращается и наступает полная инаktivация вирусов.

В фитовирусологии пользуются прогреванием для борьбы с вирусной инфекцией. Окулировочный материал персика, зараженный желтухой, полностью обеззараживается при выдерживании его в течение 40 минут при 42°C, или 4 минут при 50 °C. Выдерживание клубней картофеля, содержащих вирус скручивания листьев, в течение 25 дней при температуре 70 °C приводит к обеззараживанию. В тех же услови-

ях X-вирус сохраняется. Известны многие случаи вылечивания растений от вирусных болезней при воздействии повышенных температур.

В некоторых случаях длительное воздействие повышенных температур на вирусы может привести к образованию устойчивых штаммов.

Считают, что нагревание вирусов животных приводит к изменениям в белковом капсиде, вследствие которых частица не может адсорбироваться на клетках или нуклеиновая кислота не может высвободиться от белковой оболочки, после того как произошло заражение.

Замораживание и оттаивание инфицированных листьев или сока больных растений оказывает лишь незначительное влияние на некоторые вирусы и поэтому не может быть использовано для инактивации вирусных частиц. Охлаждение часто используется для осветления соков при выделении вирусов.

Замораживание зараженных листьев или отжатого из них сока мало повреждает вирусы. Однако, очищенные препараты менее стойки. Прибавление к таким препаратам глюкозы или солей повышает их устойчивость. Большое значение имеет рН среды. Так, очищенный препарат ВТМ выдерживает повторное замораживание при нейтральной среде, но денатурируется, если замораживание проводится при рН 3.

Многие зоопатогенные вирусы длительно сохраняют активность в замороженном состоянии в средах, богатых органическими веществами. Например, вирус японского энцефалита в физиологическом растворе с добавлением 10% суспензии мозга полностью сохраняет инфекционность в течение года при -70°C , но при комнатной температуре его инфекционность сильно снижается уже через 10 дней. Вирус трахомы при -70°C сохраняется 6 месяцев. Вирус гриппа при той же температуре - 6 месяцев и дольше.

Вирусы не инактивируются, если замораживание проводить очень быстро (в жидком азоте). При быст-

ом замораживании до -75°C с последующим оттаиванием удастся получить инфекционные препараты растительных вирусов. В фитовирусологии применяется п и о ф и л и з а ц и я кусочков тканей листьев или инфицированных соков для длительного сохранения вирусов, которые чувствительны к замораживанию в растворе.

5.2. Высушивание

Высушивание или обезвоживание, как и температурный фактор изучается преимущественно на растительных вирусах.

Многие вирусы инактивируются при высушивании листьев или сока, содержащего вирус, при комнатной температуре. Высокой устойчивостью к высушиванию обладает ВТМ. Однако, в этом случае повторное увлажнение и высушивание может привести к значительной потере инфекционности. Степень инактивации ВТМ снижается при медленном высушивании. Если очищенный препарат ВТМ разбрызгать на какую-то поверхность, температура которой поддерживается на низком уровне (от -22° до -15°C), а затем лиофилизовать, то многие палочковидные частицы разрушаются до мелких фрагментов.

Если инфицированные листья многими вирусными болезнями высушить очень быстро при 1°C и в дальнейшем выдерживать их в условиях отсутствия влажности, то и не стойкие вирусы могут сохраняться в течение нескольких месяцев или даже года. Известны случаи сохранения инфекционности ВТМ в гербарном материале, сохранявшемся несколько лет.

Для многих зоопатогенных вирусов характерна высокая стойкость к быстрому высушиванию. Вирус клещевого энцефалита, высушенный в вакууме, может храниться не менее 5 лет. Длительно сохраняются высушенные в вакууме вирусы бешенства, оспы, герпеса, гриппа, желтой лихорадки, Денге. Как видно, ус-

стойчивость к высушиванию фито- и зоопатогенных вирусов оказывается близкой.

В настоящее время лиофильное высушивание широко применяется для сохранения музейных культур.

5.3. Свет

В жизни растений свет является важнейшим фактором. Он оказывает также значительное влияние на жизнедеятельность фитопатогенных вирусов. Так, в больных листьях табака, выдерживаемых в темноте, ВТМ размножается значительно медленнее, чем при нормальном освещении. Однако, чередование затемнения и освещенности стимулирует репродукцию вируса, что подтверждается следующим примером: если зараженное ВТМ растение табака выдержать 2 дня на свету и 2 дня в темноте, то образуется в среднем 23 некроза на половине листа. Если же выдержать сначала в темноте 2 дня, а затем 2 дня на свету - число некрозов увеличивается почти в 2 раза - 51. Продолжительность экспозиции на свету или в темноте была одинаковой в обоих случаях, различия заключались лишь в последовательности этих условий. Усиление репродукции вируса происходило лишь в том случае, если затемнение предшествовало освещению, но не наоборот. По-видимому, стимулирующий эффект предварительного затемнения связан с накоплением в клетках продуктов белкового гидролиза, которые используются вирусом для его репродукции.

Аналогичное влияние на устойчивость растений и биологию вируса оказывает сочетание температур и освещенности, что подтверждается следующим примером. Возбудителем стрика томатов является ВТМ, широко распространенный в теплицах. В зависимости от времени года характер болезни меняется. В летние месяцы на листьях обнаруживается мозаика. Весной и осенью появляются вспышки стрика, для которого характерно отмирание части клеток тканей черешков и стеблей, на них возникают некротические полосы.

Весенние и осенние условия отличаются от летних световым и температурным режимом.

Сезонный характер стрика указывает на его связь с факторами внешней среды. Кроме света, к неионизирующим излучениям относится ультрафиолет.

Фитовирусы при облучении ультрафиолетом инактивируются. Поглощенная ультрафиолетовая энергия может вызвать временные или постоянные изменения.

Последние могут быть летальными и нелетальными. Инактивация вируса связана с повреждением нуклеиновой кислоты, хотя изменения касаются также и белка.

Некоторые вирусы после инактивации ультрафиолетовыми лучами могут восстанавливать инфекционность при последующем облучении зараженных тканей видимым светом (фотореактивация). При освещении инактивированного вируса вне клеток хозяина реактивация не происходит. Механизм инактивации под действием ультрафиолета и фотореактивации очень сложный и не всегда объясним. У разных вирусов степень фотореактивации различна, особенно высока она у вирусов кольцевой мозаики капусты, мозаики огурца и кольцевой пятнистости табака. У ВТМ фотореактивация не обнаружена. Электронно-микроскопическое исследование ВТМ, облученного ультрафиолетом, позволило обнаружить существование в вирусных палочках беспорядочно расположенных разрывов, тянущихся от краев к центру частицы и имеющих разную длину.

Предполагается, что после инокуляции инактивированного вируса в ткани восприимчивого хозяина фотореактивация происходит не сразу, а по истечении некоторого времени. Для большинства вирусов это время составляет около 30 минут. После этого способность к фотореактивации поддерживается в течение часа и затем исчезает. Для реактивации достаточна экспозиция на свету в течение 10-15 минут.

5.4. Ионизирующая радиация

При действии ионизирующих радиации на вирусы наблюдается их инактивация, скорость которой зависит от некоторых условий среды. Различные добавки к среде химических веществ либо защищают от инактивации (желатина, пептон и другие вещества), либо способствуют ей (фосфаты).

Мелкие вирусы инактивируются при однократном облучении. Крупные могут переносить несколько ионизации, как более сложные системы. Ионизирующее облучение на вирусы определяется дозой радиации и не зависит от температуры или от времени облучения. Некоторые вирусы инактивируются при очень высоких дозах. Вирусы, патогенные для животных, - при облучении 44 000 - 280 000 p; некоторые фитопатогенные вирусы - при дозах 430 000 -940 000 p; бактериофаги - 40 000-99 000 p (табл. 5.2).

Таблица 5.2

Инактивация вирусов X-лучами

Название болезни или вируса	Величина частиц, мкм	Доза инактивации, p
Яшур	15	$2,8 \times 10^5$
Некроз табака	17	$9,4 \times 10^5$
Кустистая карликовость томата	31	$6,2 \times 10^5$
Мозаика табака (ВТМ)	15 x 300	$4,3 \times 10^5$
Бактериофаг	50 (+ отросток)	$9,0 \times 10^4$

Аналогичное действие оказывают рентгеновские лучи. Ранние работы показали, что эти лучи уменьшают инфекционность ВТМ, не вызывая при этом денатурации вирусного белка. Более поздние работы выявили, что инактивация при облучении рентгеновскими лучами происходит вследствие разрыва в цепи РНК.

5.5. Гидростатическое давление

Многие вирусы проявляют относительную устойчивость к высоким давлениям. Давление до 5 000 атм слабо повреждает многие вирусы. Но давление в 5 000

10 000 атм даже в течение короткого времени вызывает денатурацию белков вирусов. По мере коагуляции белка происходит высвобождение нуклеиновой кислоты. Таким образом, действие высоких давлений на вирус сходно с действием нагревания. Температура и давление взаимодействуют при инаktivации. Например, при температуре 30°C скорость денатурации увеличивается по мере увеличения давления.

Многие опыты проведены с вирусом табачной мозаики. Выявлено, что давление до 5 000 атм слабо повреждает вирус ВТМ, находящийся в соке, при этом же давлении водные растворы очищенных препаратов подвергаются сильной инаktivации. При действии 8 000 атм вирус инаktivируется и в соке. Менее устойчив вирус некроза табака, он разрушается в соке при давлении 3 000 - 5 000 атм.

5.6. Ультразвук

Звуковые волны высокой частоты разрушают многие вирусы, они распадаются на белковые субъединицы. Обработка ВТМ в растворе ультразвуком приводит к инаktivации вируса. Количество инаktivированных частиц возрастает с увеличением времени обработки, увеличивается число мелких частиц. В результате чего препарат содержал большое количество коротких частиц. Одновременно с распадом вируса наблюдалась потеря инфекционности ВТМ.

Таким образом, инаktivация под действием ультразвука сопровождалась разрушением вирусных палочек до мелких фрагментов, что привело к потере инфекционности. Такая же картина наблюдалась при действии ультразвука на вирус мозаики турнепса, представляющий собой гибкие палочки, значительно длин-

нее, чем палочки ВТМ. Препараты вируса мозаики турнепса и X-вируса картофеля почти полностью утрачивали инфекционность через 160 секунд обработки.

Действие ультразвука на мелкие изомерические вирусы показало, что сферическая форма делает их более устойчивыми к дезинтеграции ультразвуком. Обработка ультразвуком почти не оказала никакого влияния на инфекционность вируса огуречной мозаики.

5.7. Концентрация водородных ионов

Все белки и нуклеиновые кислоты разрушаются при крайних значениях рН. Действие рН зависит от температуры, ионного состава среды. При комнатной температуре фосфодиэфирные связи нуклеиновой кислоты начинают гидролизироваться при значениях рН ниже 2,0 и выше 10,0.

Стабильность каждого вируса при различных значениях рН в значительной степени зависит от природы капсидного белка и его связи с нуклеиновой кислотой. Например, при изменении рН в кислую сторону вирус кольцевой пятнистости табака инактивируется при рН ниже 6,0, У-вирус картофеля - ниже 4,5, а ВТМ и вирус кустистой карликовости томатов могут сохранять некоторую инфекционность даже при рН равном 2,0.

Большинство вирусов может оставаться стабильным до рН равном примерно 8,0. Однако, некоторые вирусы инактивируются при рН выше 7,0. ВТМ стабилен при рН равном 8,0, при рН 9,0 начинается дезинтеграция, а при рН 11,0 вирусные частицы мгновенно разрушаются.

5.8. Разведение вируса

Большое значение имеет концентрация вируса в заражаемом материале, его разведение. При большой степени разбавления водой заражение оказывается не-

озможным. Это связано с малым количеством вирусных частиц для инфекционного процесса и снижением вероятности попадания вируса в ворота инфекции. Попадая в цитоплазму пораненных клеток, в частности растительных, вирус должен войти в контакт с клеточными компонентами прежде, чем он приступит к размножению. Чем меньше частиц вируса вводится в клетку при заражении, тем меньше вероятности, что некоторые из них попадут в подходящие условия для размножения. Кроме того, в клетках растений отдельные вирусы могут сталкиваться с инактивирующими их веществами, и в этом случае возможность инфекционного процесса будет зависеть от количества введенных вирусных частиц.

В качестве примера можно привести данные о допустимых предельных разведениях (табл. 5.3).

Таблица 5.3

Предельное разведение некоторых вирусов

Вирус	Предельное разведение (г вируса на мл воды)
Мозаики табака	10^9
X-вирус картофеля	10^8
Кустистая карликовость табака	10^7
Некроз табака	10^7
Желтая мозаика турнепса	10^6

5.9. Химические вещества

5.9. 1. Неорганические вещества

Многие химические вещества при определенных концентрациях способны инактивировать вирусы. К таковым относятся соли тяжелых металлов, окислители. Все они вызывают денатурацию белка, вирусная частица разрушается и утрачивает инфекционность.

Реакция ВТМ с йодом приводит к окислению SH-группы в вирусном белке с образованием S-S-связей, но утраты инфекционности при этом не наблюдается. При высокой концентрации йода или повышенной температуре вирусные частицы теряют инфекционность.

Нейтральные соли оказывают слабо выраженное воздействие на многие вирусы, хотя присутствие таких солей в инфекционном материале может повлиять на число местных поражений. Некоторые вирусы деградируют под действием солей высокой концентрации, другие - низкой. Концентрированные растворы некоторых солей обычно уменьшают инфекционность палочкообразных вирусов, вызывая агрегацию частиц. Однако утраченная инфекционность может быть восстановлена при обработке очень слабыми щелочами. Частицы ВТМ диссоциируют на денатурированный белок и свободную РНК в растворах азотнокислых солей кальция, стронция, бария. Также действуют соли сульфата аммония и хлористого натрия на вирус некроза табака.

Многие неорганические химические соединения широко применяются для работы с вирусами в качестве дезинфицирующих веществ. Так, 3 - 5 % раствор лизола инактивирует вирусы в течение 5 минут. Этот раствор используется в качестве антисептика при работе с вирусами патогенными для животных и человека. Марганцовокислый калий применяется как дезинфектор против ВТМ. Перекись водорода также инактивирует многие вирусы, причем, без нарушения основных биологических свойств вирусных частиц.

5.9.2. Органические соединения

Кроме неорганических химических веществ, на инактивацию вирусов значительное влияние оказывают органические соединения. Было изучено множество синтетических органических соединений и природных веществ. Их можно подразделить на три

пы: простые синтетические органические соединения, метаболиты и антиболиты, а также различные вещества биологического происхождения.

К первой группе, простых органических соединений, относят мочевины, гидроксиламин, формальдегид, органические кислоты и некоторые другие.

Мочевина хорошо известна как агент, вызывающий денатурацию белка. Инактивация ВТМ и Х-вируса картофеля при воздействии мочевины сопровождается отделением белка от РНК, причем, белок отщепляется с одного конца вирусной частицы. В случае с вирусом кустистой карликовости томатов и вирусом некроза табака отделение белка не происходит.

Воздействие гидроксиламина приводит к инаktivации нуклеиновой кислоты ВТМ и возникновению мутаций вируса. Обе реакции зависят от величины рН. При рН 4,7 инаktivация не наблюдается. В пределах рН от 6 до 9 она происходит, но процесс протекает с различной скоростью. При рН 6,2 гидроксиламин присоединяется к связи цитозина, или замещает его. При рН 9,0 отщепляется урацил.

Формальдегид наиболее широко используется в качестве инаktivатора вирусов животных. Формальдегид очень удобен, т.к. подавляет инфекционность многих вирусов, используется при изготовлении вакцин. Соединение с высокой реакционной способностью, которое может реагировать с различными группами как белка, так и РНК вируса.

Инфекционная РНК ВТМ очень чувствительна к действию формальдегида, она полностью инаktivируется при воздействии 0,1 %-ного раствора в течение 1 часа.

Органические кислоты - факторы, приводящие к инаktivации многих вирусов растений. Х-вирус картофеля почти полностью теряет свою инфекционность и другие свойства после инкубации в Цитрате натрия при рН 7.0 и температуре 37°С.

Органические кислоты могут служить фактором, ограничивающим проникновение в клетку некоторых вирусов и их размножение. Разбрызгивание на листья растений органических кислот перед заражением или примерно в течение 2 часов после заражения приводит к значительному уменьшению числа местных некрозов, вызываемых вирусом некроза табака. Известно, что лимонная и янтарная кислоты образуют хелатные комплексы соединения с ионами некоторых металлов - кальция, магния. Ингибирующее действие органических кислот можно снять путем добавления солей этих металлов.

5.9.3. Метаболиты и антиметаболиты

Метаболиты - промежуточные продукты обмена веществ в живых клетках. Многие из них оказывают регулирующее влияние на биохимические процессы в клетках. В связи с этим понятен вопрос о влиянии метаболитов и антиметаболитов на инактивацию вирусов, как средства при разработке эффективных мер борьбы с болезнями. Необходимо найти соединения, которые оказывали бы токсическое или летальное действие на патогенные вирусы, но при этом не вызывали бы серьезных нарушений в организме хозяина. Это проблема не только вирусологии, но и медицины, биологии и других смежных наук.

Рассматривая различные типы соединений, которые могут оказывать ингибирующее действие на вирусы, можно предположить, что подобными возможностями должны обладать аналоги пуриновых и пиримидиновых оснований, встречающиеся в нуклеиновых кислотах, т. к. именно они представляют собой генетический материал вирусов.

Первыми изученными соединениями были аналоги гуанина и урацила. Эти два соединения привлекают наибольший интерес. С помощью аналогов 8-азагуанина, 2-тиоурацила и 5-фторурацила можно блоки-

ровать синтез вирусной РНК, не влияя на синтез клеточных РНК.

Опрыскивание листьев раствором 8-азагуанина вызывает заметное уменьшение развития некоторых вирусов. Это соединение приводит к незначительной задержке в росте и служит причиной деформации молодых листьев. Но, путем подбора определенной концентрации, можно добиться полного ингибирования вируса мозаики люцерны, вируса огуречной мозаики. Причем без заметного нарушения роста растения.

Антивирусная активность 8-азагуанина была проверена на ВТМ и вирусе желтой мозаики турнепса. Анализ обработанных растений показал, что аналог гуанина включается в РНК вирусной частицы, заменяя часть остатков гуанина. Вирусы, содержащие аналог, были менее инфекционны, чем нормальный вирус. Было высказано предположение, что ингибирующий эффект может быть обусловлен образованием стерильных вирусных частиц. Однако, до настоящего времени неясно каким образом возникают пустые белковые оболочки.

К метаболитам относятся различные аминокислоты. Как показали наблюдения, ни одна из исследованных аминокислот или их аналогов не обладает заметной антивирусной активностью.

Различные соединения типа регуляторов роста снижают содержание вирусов в растениях или маскируют симптомы болезни. К таким соединениям относятся нафтилуксусная кислота, индолилмасляная кислота, гибберелловая кислота. В последнее время интерес привлек кинетин. Это соединение стимулирует синтез РНК и белка в дисках, вырезанных из листьев различных здоровых растений. В то же время это соединение ингибирует размножение некоторых вирусов или уменьшает число местных поражений, возникших после механического заражения. Действие кинетина зависит от условий его применения. Так, синтез ВТМ в растениях табака либо стимулируется, либо подавля-

ется в зависимости от количества кинетина и от возраста листьев.

5.9.4. Вещества биологического происхождения

К этой группе относится очень много природных веществ, вызывающих стимулирующее, ингибирующее и специфическое действие на живые клетки и микроорганизмы. К таковым относятся: ферменты, антибиотики, вещества из высших растений, сыворотки, витамины.

В отношении вирусов были испытаны многие ферментные препараты, среди которых значительный интерес представляют нуклеазы. Так, высокая концентрация рибонуклеазы быстро инактивирует РНК ВТМ, несмотря даже на то, что нуклеиновая кислота внутри вирусной палочки защищена белковым капсидом от действия фермента. При смешивании фермента с вирусным препаратом ВТМ образуется комплекс «вирус-фермент» в виде длинных нитевидных частиц, содержащих около 14 % рибонуклеазы. Комплекс вирус-фермент не инфекционен, но при сильном разбавлении он легко может диссоциировать, что сопровождается образованием активного вируса. Данные говорят о том, что фермент не разрушает вирус полностью. Инактивация ВТМ за счет действия рибонуклеазы зависит от рН. При рН 7,0 рибонуклеаза не снижала инфекционности вируса, даже при рН 10,0 в препарате ВТМ деградирует лишь очень небольшая часть вируса. Следовательно, щелочная среда защищает вирус от инактивации.

Обнаженная вирусная РНК очень чувствительна к действию клеточных нуклеаз. Рибонуклеаза быстро инактивирует «голую» инфекционную РНК ВТМ.

Мелкие изомерические вирусы при обычных условиях устойчивы к действию рибонуклеаз.

Некоторые вирусы (например, ВТМ) устойчивы к протеолитическим ферментам, тогда как другие под-

действием их разрушаются (например, X-вирус картофеля). Доказано, что утрата инфекционности наблюдается сразу же.

Аналогично действует пепсин. При благоприятных условиях пепсин гидролизует X-вирус картофеля, который утрачивает при этом инфекционность и серологическую активность. На инфекционность ВТМ пепсин оказывает небольшое влияние и не связывается с этим вирусом.

В последние годы большое внимание ученых занимают антибиотики. Многие из этих веществ оказывают специфическое влияние на клеточные патогены и используются для лечения растений, животных и человека. Однако, антибиотики, применяемые с этой целью, влияют очень незначительно или не оказывают никакого влияния на вирусы (пенициллин, стрептомицин, ауромицин и другие).

Лишь немногие антибиотики обладают антивирусной активностью. Так, разбрызгивание цитовирина на листья незадолго до заражения предотвращает возникновение местных некротических поражений.

Антибиотик трихотecin был эффективен против нескольких вирусов, если его разбрызгивали на листья не ранее чем за два дня до заражения и не позднее чем один день после него.

Под действием антибиотика бластицидина заметно снижается количество ВТМ, образуемого в дисках, вырезанных из зараженных листьев табака, когда эти диски плавают на поверхности растворов, содержащих бластицидин.

Вышеперечисленные антибиотики действуют на РНК-содержащие вирусы. Актиномицин, как антибиотик, блокирует главным образом ДНК-зависимый синтез РНК.

В настоящее время испытано множество антибиотиков. Одни из них действуют непосредственно на вирус, другие на клетки хозяина. И в том, и другом случае наблюдается снижение вирусной инфекции.

Вирусная инфекция может способствовать появлению в растении веществ ингибирующих вирус. Экстракты из многих здоровых высших растений также содержат вещества, ингибирующие вирусную инфекцию.

Сильные ингибиторы были найдены в растениях свеклы и шпината. В соке шпината содержится два ингибитора. Один из них отличается высокой термостабильностью, другой быстро теряет ингибирующие свойства при нагревании до 70°C.

Ингибитор, подавляющий активность вируса огуречной мозаики и некоторых других, содержится в соке, получаемом из различных тканей огурца, как здорового, так и больного мозаикой. Ингибитор был обнаружен в зеленых и отмерших листьях, в семядолях, стеблях, корнях, семенах, плодах и цветах. Его не удалось найти лишь в лепестках. В хлоротичных участках мозаичных листьев отмечалась высокая концентрация вируса и низкое содержание ингибитора, много ингибитора было в зеленых участках. Значительное ингибиторное действие на вирус огуречной мозаики оказывал сок из листьев арбуза, шпината, умеренное или слабое - сок дыни, тыквы, табака и томата.

Продолжительность сохранения вирусной активности в отжатом растительном соке различна, что определяется неодинаковой устойчивостью и особенностями сока различных растений (табл.5.4).

Предполагается, что сок определенных растений проявляет сильное ингибиторное действие, когда он служит для заражения растений других видов, но нейтрален для заражения растений своего вида. Известны случаи, когда с развитием болезни у растений повышаются ингибиторные свойства сока.

Растительные ингибиторы вирусов могут иметь различную химическую природу. Это могут быть белки и аминокислоты или фенольные соединения.

Фенольные соединения очень широко распространены в растениях, и содержание их часто

бывает очень высоко. Для животных клеток присутствие фенолов не характерно.

Таблица 5.4.

**Продолжительность сохранения вирусов
в отжатом соке растений**

Вирус	Продолжительность сохранения в днях	Вирус	Продолжительность сохранения в днях
Мозаика свеклы	1 - 2	Мозаика табака	свыше месяца
Мозаика турнепса	1 - 2	Стрик табака	1,5
Мозаика фасоли	1 - 1,5	Бронзовость томата	0,5
Огуречная мозаика	свыше года	Некроз табака	20
Мозаика сои	3	Кустистость вер- хушки томата	0,5-1
Деморфирующая мозаика гороха	3	Х-вирус картофеля	2 - 3 месяца
Мозаика люцерны	7-9	У-вирус картофеля	1 - 1,5

Многие фенолы могут непосредственно реагировать с вирусными белками и инактивировать их.

Фенолы способны окисляться в хиноны, которые обладают очень высокой реакционной способностью, т. е. окислительные фенолы вызывают утрату инфекционности многих вирусов.

К растительным фенолам относят хлорогеновую и дубильную кислоты.

Химическая природа инактивации вирусов под действием фенолов не вполне понятна, и в литературе нет данных о том, каким образом растения защищены от вирусной инфекции. Но имеется много примеров, подтверждающих защитное действие фенолов. Вот некоторые из них. Многие виды розовых легко поражаются рядом вирусов, экстракты из этих растений являются сильными ингибиторами многих вирусов. Водный экстракт из листьев, стеблей и корней земляники содержит большое количество танинов, которые сильно снижают инфекцию вирусов. Если его добавить

к ВТМ, то вирус становится неинфекционным для растений табака.

Молдавские ученые в борьбе с вирусами, особенно против ВТМ, использовали соки сахарной и столовой свеклы, петрушки, смородины, липы, капусты, алоэ и других растений. Главный вывод: растительные вещества влияют на сам вирус, а не на клетки хозяина.

Под влиянием семян табака происходит лизис вирусных частиц. Вместо нормальных вирусов наблюдаются кусочки разрушенных вирусов - остатки вирусов.

Действие соков алоэ или агавы сказывается в том, что вирусные частицы как бы слипаются.

Бешенство передается вирусами, сосредоточенными в мозге бешеного животного. Если кусочек мозга бешеного животного ввести здоровому, то неизбежно развивается болезнь. Но, если перед введением здоровому организму «бешеных» мозгов их подержать в течение 10 минут в сосуде с летучими фитонцидами чеснока или лука, то действие вирусов сильно ослабляется или даже прекращается.

6. ИЗМЕНЧИВОСТЬ ВИРУСОВ

Как и все живые существа вирусы обладают свойством наследственности.

В некоторых случаях, если проследить за вирусными болезнями в течение длительного времени, можно заметить консерватизм наследственности. Например, инфекционный паротит, или свинка, был описан Гиппократом 2500 лет тому назад, но основные признаки болезни сохранились до наших дней.

Культура тюльпанов в Голландии имеет большую давность, более четырех веков тому назад на картинах голландских мастеров была изображена пестролистность лепестков - мозаика. Мозаика тюльпана, вызывающая своеобразный рисунок на цветах, широко распространена и сейчас.

За столь длительный период времени организм хозяина мало изменился - сохранил неизменными

ВНбiе биологические свойства и паразитирующий нем вирус. В тех же случаях, когда условия Жизнедеятельности вируса изменяются, достигая <питических показателей, он вынужден претерпевать наследственную изменчивость и приспособляться к новым условиям.

6.1- Основные формы изменчивости

В основе изменчивости вирусов лежат общие закономерности. Под влиянием различных физических и химических факторов вирусная частица подвержена изменениям. Условия жизни внутри клеток хозяина - результат а д а п т а ц и и и м у т а ц и и . Достаточно сказать, что к вирусу табачной мозаики оказались восприимчивыми растения 236 видов, относящихся к 33 семействам. Вирус огуречной мозаики I заражает 191 вид, принадлежащий к 40 семействам. Некоторые фитопатогенные вирусы размножаются не только в растительных клетках, но в организме насекомых-переносчиков.

Широкий круг хозяев наблюдается и у ряда вирусов, патогенных для животных и человека. Вирус желтой лихорадки, например, способен размножаться в организме человека, обезьян, в организме некоторых комаров, курином эмбрионе. Вирус весенне-летнего клещевого энцефалита, вызывающий тяжелое заболевание у человека, кроме клещей, поражает также много мелких млекопитающих, таких как ежи, полевки и Другие.

Первый случай изменчивости вируса был обнаружен в классических работах Л.Пастера по получению вакцины против бешенства. В результате 130 пассажей вируса бешенства через мозг кроликов был выделен змененный штамм, непатогенный для человека, которЫЙ удалось применить для вакцинации людей, укуенных бешеными животными. Кстати, во время ра-Т ' Пастера вирусы еще не были открыты.

Штаммы, новые типы вируса, появляются естественным путем в природных условиях или из системно инфицированного организма-хозяина. Изучение вирусных штаммов имеет большое практическое значение (получение вакцины) и, безусловно, теоретический интерес (наличие многих типов вируса гриппа).

Изменение вирусов в результате воздействия окружающей среды могут быть двух типов: системные, т.е. постепенные, длительные, типичные для эволюции, и кратковременные (циклические и случайные) или физиологические. Физиологическая изменчивость - это ответная реакция на случайные или направленные воздействия, требующие быстрой физиологической приспособляемости. Она чаще всего приводит к ненаследственным, временным изменениям, однако, может вызвать и изменения наследственного характера.

В настоящее время твердо установлено, что наследуемая изменчивость вирусов обусловлена изменениями в их генетическом материале (ДНК или РНК).

К явлениям, связанным с передачей всеми микроорганизмами и изучаемым генетикой формами наследственности, относятся: идентичная репродукция, мутация, трансформация, трансдукция, рекомбинация.

Идентичная репродукция - правильное распределение нуклеиновых кислот между дочерними организмами, имеющимися в материнской клетке. Репродукция - это их размножение, путем образования себе подобных.

Трансформация - изменчивость признаков посредством передачи агрегатов нуклеиновой кислоты из разрушенных клеток одной формы (донор) жизнеспособным клеткам другой (реципиент).

Трансдукция - форма изменения наследственных признаков, которая заключается в переносе наследственных факторов клетке при разрушении ее бактериофагом.

Рекомбинация - изменчивость, связанная с формой полового процесса, при которой происходит взаимный обмен наследственными факторами. Реком-

нация встречается у некоторых видов бактерий, ^t у актиномицетов, бактериофагов и вирусов.

М у т а ц и я - стойкие наследственные изменения, контролируемые различными признаками и свойствами организма, на уровне нуклеиновых кислот.

В настоящее время известно большое число мутагенов, и для многих из них хорошо изучен механизм изменения оснований вирусной нуклеиновой кислоты. Мутагены делятся на две группы. К первой относятся агенты, воздействующие на нуклеиновую кислоту только при ее репликации; ко второй - действующие на нуклеиновую кислоту в состоянии покоя.

Хорошо изученным мутагеном для вирусов является гидроксилламин, мутагенное действие которого обусловлено влиянием на цитозин. Мутации получены на вирусе полиомиелита, на фагах и других вирусах. Мутагенное действие азотной кислоты было показано для ВТМ, вируса полиомиелита, фагов Т2 и Т4.

Из факторов физической природы, обладающих мутагенным действием, широко применяется температура. При нагревании в молекуле ДНК происходит расхождение комплементарных нитей. Уже кратковременный тепловой шок, исчисляемый десятками секунд, является мутагенным фактором.

Различия между штаммами того или иного вируса касаются следующих изменений: 1) вирулентности вируса; 2) круга его хозяев; 3) специфических для данного вируса переносчиков.

Таким образом, рассматривая вопросы изменчивости вирусов, выделяют две категории явлений:

1) наследственная (фенотипическая) изменчивость, которая контролируется хозяином;

2) наследственная (генотипическая) изменчивость, включающая мутации и генетические рекомбинации.

6.2. Агенты, вызывающие изменчивость вирусов

В последние десятилетия уделялось большое внимание Действию на вирусы физических и химических

агентов, обладающих мутагенными свойствами. Почт все работы такого рода проводились на ВТМ и други растительных вирусах.

И з м е н ч и в о с т ь в и р у с о в п р и в ы с к и х т е м п е р а т у р а х . В ряде исследований было показано, что из инфицированных растений, выращенных при повышенной температуре, удается выде-1 лить множество разных вирусных штаммов. Это свя-зано с увеличением частоты мутаций при повышении температуры.

При действии повышенной температуры изменчивость вирусов носит направленный, адекватный харак-і тер. Например, при культивировании сильновирulentного «деформирующего» штамма ВТМ в зараженных черенках томата, выдерживаемых в течение 15 дней во влажной камере при 34,6°C, вирус претерпевает изменчивость - выделился новый штамм. Новый штамм отличался слабой патогенностью и при заражении табака не вызывал никаких внешних симптомов болезни. Особым свойством нового штамма оказалась его термотолерантность, т.е. способность размножаться в ку-сочках стебля табака в условиях термостата при 35,4°C, при температуре, превышающей температурный мак-симум размножения исходного штамма. Под воздей-ствием повышенной температуры происходит направ-ленная изменчивость вируса.

Примеров образования термотолерантных штам-мов очень много как в экспериментальных условиях, так и в природе.

В о з д е й с т в и е л у ч е й и р а д и а ц и и ,]
Данных о влиянии на вирусы рентгеновских и ультра-фиолетовых лучей, а также радиации, немного. В ос-новном работы проводились на листьях растений, за-раженных вирусами, преимущественно ВТМ. Облуче-ние листьев табака, зараженных ВТМ, рентгеновски-ми лучами при дозах в 12 000-14 000 р вызывает измен-чивость вируса, но при этом было выделено лишь три новых штамма. Изменчивость вируса наблюдалась лишь тогда, когда растения табака облучались до за-

жения. Предполагается, что в данном случае воздействием фактором являются изменения в метаболизме облученных растений.

Ионизирующее излучение и ультрафиолетовые лучи инактивируют вирусы, содержащие двухцепочечную ДНК, вызывая разрывы нуклеиновой кислоты.

Изменчивость очищенных вирусных препаратов и увеличение мутантных форм связано с концентрацией вирусов. Число мутантов увеличивалось в результате разведения препарата буферным раствором.

Интересно, что полученные в результате облучения вирусов ионизирующей радиацией и ультрафиолетовыми лучами новые штаммы имеют сниженную энергию размножения.

Воздействие химических веществ. Ранее уже упоминалось о влиянии химических веществ на инактивацию вирусов. Это очень важный вопрос для вирусологии.

Изучение изменчивости вирусов в период их внутриклеточной жизни дает многое для понимания процесса эволюции вирусов в природе. Очень важно также иметь представление об изменчивости вируса, извлеченного из клетки и находящегося в растворе. Так, путем воздействия на очищенные препараты ВТМ или только на его РНК азотистой кислотой были получены измененные штаммы вируса.

При воздействии азотистой кислоты на РНК в результате дезаминирования пуриновых и пиримидиновых оснований могут произойти следующие их превращения: аденина в гипоксантин, гуанина в ксантин и цитозина в урацил. Урацил не подвергается превращению, поскольку он не содержит аминогруппу.

Воздействуя на ВТМ или на его РНК азотистой кислотой, 1 М раствором при pH 4,2, экспериментально получено свыше 60 штаммов ВТМ.

Мутанты, полученные в результате обработки исходного вируса азотистой кислотой, сохраняют свои признаки в последующих пассажах и отличаются от одного природного слабой репродуктивной способ-

ностью. Если заразить мутантом ВТМ листья табака, то некрозы на листьях составят лишь 1-30 % от исходного штамма. Очевидно, выживаемость мутантов значительно ниже, чем у природного вируса, свойства которого сформировались в условиях естественного отбора.

В настоящее время азотистая кислота является наиболее эффективным средством, вызывающим мутации у вирусов.

Эффективным мутагеном считается гидроксилламин (NH_2OH). Эффект изменчивости получен при действии 1 М раствора при рН 6,1 на препарат РНК ВТМ, при этом возникают мутанты и происходит частичная инактивация РНК. Обработка РНК гидроксилламином при рН 9,1 приводит к ее инаktivации без образования мутантов. Гидроксилламин оказывает значительно менее эффективное мутагенное действие на ВТМ, чем азотистая кислота.

К прочим химическим мутагенам, используемым для получения мутаций вирусов, относят диметилсульфат. Он оказывает действие на РНК ВТМ. Азотистый иприт оказывает мутагенное действие на многие живые объекты, в том числе на вирусы. Так, в опытах были выделены мутанты X-вируса картофеля из инфицированных растений табака, выращенных в атмосфере паров азотистого иприта. В природном исходном препарате вируса таких мутантов не было обнаружено.

Изменчивость вирусов при пассажах через растения. Вирусы размножаются в клетках хозяина. Следовательно, экология вирусов в значительной степени определяется физическими и биохимическими особенностями хозяина. В клетках хозяина вирус может встретить особые, несвойственные условия, которые вызовут его изменчивость. Если же он не сможет приспособиться к таким условиям, то погибает. Например, вирус огуречной мозаики I при первых заражениях (пассажах) на вигне вызывает об-

образование местных некрозов. На восьмом или десятом пассаже, наряду с некрозами, на листьях появляются желтые пятна. За этим следует общее заболевание, часто приводящее растение к гибели. Если пассажи продолжаются, вирус претерпевает дальнейшую изменчивость, снижает патогенность, и заболевание приобретает характер маловредоносной мозаики.

Изменчивость, связанная с адаптацией вируса к новому хозяину, носит направленный характер. Если в качестве исходного материала взять слабовирулентный штамм, при пассаже он может приобрести высокую патогенность.

Адаптируясь к новому хозяину и на долгий срок утрачивая связи со старым хозяином, вирусы в некоторых случаях могут терять приспособленность к старому хозяину. Например, продолжительная репродукция X-вируса в растениях табака приводит к потере инфекционности для первоначального хозяина - картофеля. Некоторые штаммы X-вируса, размножаясь в растениях табака 18 месяцев, сильно снижают инфекционность для картофеля и полностью его утрачивают в течение 30 месяцев.

Изменчивость вирусов при смешанных инфекциях. Около 50 лет назад вирусологи обнаружили интересное явление. Если животным или растениям вводить два разных вируса, то один из них погибает, или подавляется его вредоносное действие, или оба развиваются одновременно. В большинстве случаев действует смешанная инфекция. Она может служить фактором изменчивости вирусов как родственных, так и генетически отдаленных.

Так, например, одновременное заражение растений табака ВТМ и вирусом мозаики подорожника приводит к проявлению смешанных симптомов, а также к образованию новых штаммов в отдельных очагах, возникших в результате изменчивости исходных штаммов. Все эти штаммы легко идентифицировать по внутриклеточным включениям, хорошо различимым даже при малых увеличениях микроскопа. При заражении таба-

ка исходным штаммом ВТМ в клетках образуются только гексогональные кристаллические пластинки, а штаммом вируса мозаики подорожника - округлые слоистые пластинки. Возникающие новые два штамма резко отличаются от исходных. Один из них образует крупные петлевидные включения, занимающие всю клетку. Другой формирует в клетках мелкие пластинки и большую массу беспорядочно расположенных паракристаллических фибрилл. Петлевидный штамм является производным штамма мозаики подорожника, а фибриллярный - ВТМ.

В литературе описаны случаи изменчивости вирусов при смешанной инфекции родственных штаммов. Так, при одновременной инокуляции листьев картофеля У-вирусом и С-вирусом происходит общее заболевание. При посредстве тлей, переносчиков вирусов, из больных растений выделяются отдельные изоляты вируса, обладающие свойствами обоих штаммов.

Изменчивость вирусов в природе происходит довольно часто, в результате смешанных инфекций родственных и не родственных вирусов, что играет большую роль в изменчивости и эволюционном развитии вирусов.

6.3. Изменчивость вирусов, патогенных для человека и животных

Направленная изменчивость вирусов хорошо просматривается в случаях адаптации к определенным хозяевам и тканям. Такая адаптация достигается повторяющимися пассажами вируса через организм нового хозяина. В качестве классического примера служит адаптация вируса бешенства к организму кролика.

Возникающие при этом наследственные изменения у вирусов, как правило, оказываются устойчивыми и сохраняются после неоднократных пассажей через организм естественного хозяина.

Адаптация к определенным тканям также происходит в результате направленной изменчивости вируса возникающей при заражении и последующих пассажах через данную ткань. Таким путем были получены наследственно измененные штаммы вируса гриппа, желтой лихорадки, герпеса и другие, в том числе вакцины, адаптированные в нервной ткани. Например, адаптированный к кролику штамм вируса бешенства приобретает свойства повышенной патогенности для кролика, но становится безвредным для человека. При адаптации вируса гриппа к мышам у них наблюдаются антигенные изменения.

Значение смешанных инфекций как фактора изменчивости установлена с вирусом гриппа. Например, при одновременном заражении мышей нейротропным штаммом А и штаммом В после инфекционного процесса выделяются две исходные формы и две новые. Новые формы сочетают в себе признаки обоих родительских штаммов.

У вируса гриппа случаи сложной изменчивости в результате смешанных инфекций довольно часты.

Направленная изменчивость, вызываемая ингибиторами, установлена для зоопатогенных вирусов, таких как вирусы полиомиелита, Коксаки, ЕСНО и риновирусы, имеющих в своем составе только РНК и белок. Например, при внесении в зараженную культуру тканей ингибиторов, в частности гуанина или других подавляющих репродукцию вирусов, с течением времени возникают мутантные формы, отличающиеся устойчивостью к применяемым ингибиторам. Возникают также мутанты, которые зависят от ингибитора и требуют для своего размножения его присутствия. Такие мутанты не способны к размножению без соответствующего ингибитора.

Подобный направленный характер изменчивости в^в вирусов наблюдается в организме хозяина. Подвергать изменчивости под влиянием метаболических процессов хозяина, вирусы вызывают изменение наследственных свойств организма. Например, вирус штри-

ховатости ячменя при заражении кукурузы вызыва у нее ряд мутаций: измененную окраску алейроновых зерен, альбинизм у проростков. У кукурузы вирус через семена не передается, поэтому изменения могут быть связаны только с присутствием вируса. Под влиянием онкогенных вирусов происходит злокачественный рост клеток, что обусловлено соматическими мутациями. Вирус в этих случаях выполняет роль фактора изменчивости.

Частота спонтанных мутаций колеблется от 10^4 до 10^8 . Некоторые вирусы обладают высокой, а другие низкой мутабельностью. Частота у РНК-геномных вирусов выше, чем у ДНК-геномных. Мутации разрушают однородность популяций и качественно изменяют их генофонд. Изменение генофонда, его многообразие в результате мутаций позволяет вирусам приспособляться к изменяющимся условиям среды.

Роль источника изменчивости выполняют и рекомбинации. Сущность рекомбинационной изменчивости заключается в перераспределении имеющегося в популяции генетического материала. Рекомбинации служат источником наследственной изменчивости. Их осуществление ведет к появлению вируса с новыми свойствами. Предполагается, что многие эпидемические группы вируса гриппа произошли в результате рекомбинаций.

Частота и интенсивность рекомбинаций зависят от той или иной группы вирусов. Рекомбинации у ДНК-геномных вирусов происходят на основе механизма, характерного для этого генетического материала - кроссинговера. У РНК-геномных вирусов частота рекомбинаций происходит реже и менее эффективно.

Рекомбинации у РНК-геномных вирусов происходят между обычным полным и дефектным вирусом. Дефектный вирус накапливается в популяции в тех случаях, когда полный вирус проходит несколько последовательных генераций в условиях заражения клеток многими вирусными частицами. При изменении условий культивирования вирусов в культуре клеток

(перенос из культуры в культуру больших количеств вируса) вирусная популяция обогащается дефектным вирусом. Вирусная популяция чаще всего происходит от небольшого количества вирусов или даже от одной вирусной частицы, проникшей в организм. Она несет свою генетическую информацию необходимую для воспроизведения себе подобных в клетке хозяина. Дефектные вирусы различаются между собой генетически, а популяция, содержащая дефектный вирус, неоднородна в генетическом отношении.

Изменчивость в результате взаимодействия между полным и дефектным вирусами носит направленный характер. Обычно наблюдаются однотипные изменения. Например, растет биологическая активность вируса - увеличивается число вирусных частиц на клетку, их урожайность, повышаются болезнетворные свойства.

Теоретически возможны различные комбинации в результате рекомбинаций, но большинство из них приводит к летальному исходу.

Таким образом, вирусы являются удобной моделью для изучения генетических проблем. На них наглядно и с безупречной воспроизводимостью в экспериментальных условиях решается такой трудный вопрос как наследование признаков. На вирусах демонстративно можно доказать направленный характер изменчивости, возникающей под действием экологических или биологических факторов. Для вирусов, помимо физических и химических факторов, таких как свет, температура и другие, большое значение имеет физиологическое и биохимическое состояние, связанное с функционированием клетки хозяина.

7. РАЗМНОЖЕНИЕ ВИРУСОВ

В жизненном цикле вирусов чередуются две фазы - внеклеточная, во время которой вирус существует в виде инертной инфекционной частицы вириона, и внутриклеточная, на протяжении которой проявляются особенности вирусов, закодированные в их генетическом аппарате, т.е. осуществляется размножение вирусов.

Вирусы, в отличие от всех простейших живых организмов, не способны размножаться бинарным делением. Размножение вирусов осуществляется путем репродукции их в клетке хозяина.

7.1. Отношения вируса с клеткой

Вирус с клеткой хозяина находится в очень сложных взаимоотношениях. Складываются они по-разному. Условно эти отношения можно свести к трем типам проявления инфекции.

Продуктивная инфекция наблюдается в том случае, когда цикл репродукции в клетке хозяина завершается образованием нового многочисленного поколения вирусов, что сопровождается гибелью клетки хозяина.

Абортивная инфекция, когда цикл репродукции вируса клетки прерывается на одной из стадий: репликации нуклеиновой кислоты вируса, или синтеза белков капсида, или на стадии сборки новых вирионов. В этом случае клетка хозяина сохраняет свою жизнеспособность.

Вирогенная характеризуется встраиванием вирусной нуклеиновой кислоты в геном клетки хозяина, что приводит к одновременной репликации ДНК клетки и нуклеиновой кислоты вируса. Клетка хозяина продолжает жизнь.

Для большинства вирусов характерно существование и репликация в клетках определенного хозяина и даже в определенных клеточных тканях. Другие вирусы приспособились к существованию в клетках разных

дояев, например, растений и насекомых (некоторые хитиноусы растений), позвоночных и членистоногих (энцефаловирусы). Имеются вирусы, способные реплицироваться в прокариотных клетках бактерий (бактериофаги) и эукариотных грибов (микофаги).

7.2. Стадии размножения

В 50-е годы было предложено много методов комплексного изучения заражения вирусом клетки хозяина, было установлено, что цикл репродукции можно подразделить на отдельные стадии, проходящие последовательно. Первым этапом этого сложного механизма является адсорбция, точнее хемосорбция - прикрепление вируса к поверхности клетки; потом следует внедрение - проникновение внутрь клетки; позже протекает скрытый период размножения - синтез ферментов, необходимых для репликации вирусной нуклеиновой кислоты, затем синтез сложных составных частей вируса, сборка и образование зрелых вирионов; и, наконец, выход вирионов из клетки хозяина. Таков в общих чертах сложный механизм размножения вирусов и их взаимодействия с клеткой хозяина.

1 стадия - хемосорбция вируса на поверхности клетки хозяина. Она возможна лишь при условии, если клетка несет на своей поверхности чувствительные рецепторы данного вируса. В клетках животных и человека функцию рецепторов для пикорна- и арбовирусов выполняют липопротеиды, для миксо- и парамиксовирусов и аденовирусов - мукопротеиды. Так, для вируса гриппа клеточным рецептором является гликопротеид, включающий нейраминовую кислоту, которая разрушается нейраминидазой вируса (рис.3.4).

У простоорганизованных вирусов рецепторами являются сочетания белковых субъединиц, находящихся на поверхности капсида. У более сложноорганизованных вирусов функцию рецепторов выполняют образования суперкапсида в виде шипов и выростов. На-

пример, у аденовирусов эту функцию выполняют 12 фибров (отростков на поверхности вируса); у вирусов кори, паротита, клещевого энцефалита, герпеса - особые плоскости на шипах, формирующиеся поверхностными вирусными белками.

Адсорбция сначала обратима, и вирусная частица может оторваться, но прикрепление в нескольких точках или к клеточным рецепторам необратимо.

2 стадия - проникновение вируса в клетку хозяина. Пути проникновения могут быть различны.

В 1979 г. был описан универсальный механизм для проникновения необходимых для клетки питательных веществ. Этот механизм получил название «рецепторный эндоцитоз». Он назван так потому, что вещества вначале прикрепляются к специфическим рецепторам на поверхности клеток. Поверхность клетки неровная, клеточные ворсинки чередуются с углублениями - ямками. На дне ямок расположены рецепторы.

Предполагается, что многие вирусы проникают в клетку путем рецепторного эндоцитоза. Как только к рецепторам прикрепляются вирусные частицы, ямки вытягиваются в глубь клетки и образующаяся полость отшнуровывается от клеточной поверхности - клеточная мембрана заглатывает вирус. В составе эндоцитарной вакуоли вирус, окруженный участком цитоплазматической мембраны клетки, попадает в цитоплазму (рис.7.1).

Рецепторный эндоцитоз складывается из нескольких этапов: 1) прикрепление вируса к клеточным рецепторам (адсорбция); 2) образование из ямки вакуоли (эндоцитоз); 3) выход вируса из вакуоли в цитоплазму путем слияния вирусной и клеточной мембран.

Вирусы животных наиболее часто проникают благодаря эндоцитозу (фагоцитозу и пиноцитозу), в районе адсорбции вируса клеточная мембрана образует впячивание и заглатывает вирус.

Рис. 7.1. Схема размножения вируса гриппа:

1 - проникновение вируса в клетку; 2 - вирус внутри клетки; 3 - освобождение вирусной нуклеиновой кислоты от белковой оболочки; 4 - проникновение РНК вируса в ядро клетки; 5 - синтез РНК вируса в клетке; 6 - биосинтез вирусного белка в рибосомах клетки; 7 - образование вирионов; 8 - выход вирусов из клетки; 9 - рибосомы; 10 - клеточная мембрана; Ц - цитоплазма; 12 - ядро.

Проникновение фагов в бактериальную клетку происходит за счет частичного разрушения оболочки клетки фаговым лизоцимом и сократительной реакции отростка фага. В цитоплазму клетки проникает только нуклеиновая кислота фага, а белковый капсид остается снаружи.

Фитопатогенные вирусы могут проникать в клетку с помощью насекомых-переносчиков при вегетативном размножении, во время ухода за растениями и другими путями.

3 стадия - депотеинизация вируса. После проникновения вируса в клетку образуется комплекс «ви-РУс-клетка», который может быть временным, а в некоторых случаях постоянным. Вирус, находясь вне клетки, не может вызвать инфекцию. Инфекционную^а активность он приобретает в том случае, если освобож-

дается его нуклеиновая кислота. Этот процесс называется «раздевание» вируса, или депротеинизация, - это начальный период.

Процесс раздевания вируса предусматривает освобождение его нуклеиновой кислоты от белков капсида. У многих вирусов депротеинизация идет параллельно процессам адсорбции и эндоцитоза. Пока вирус находится в эндоцитарной вакуоли, протеолитические ферменты клетки разрушают его белковую оболочку. После раздевания вирусный генетический материал должен достичь строго определенного участка в цитоплазме или ядре, чтобы возникла инфекция. Внутриклеточный транспорт «раздетого» вируса осуществляется механизмами клетки, принимающими нуклеиновую кислоту вируса за необходимые для клетки вещества.

Если депротеинизация вируса в клетке не может произойти, то клетка будет не чувствительна к вирусной инфекции.

Как только вирусная нуклеиновая кислота освобождается от белков капсида, наступает так называемый скрытый период - период э к л и п с а. Вирусная нуклеиновая кислота в этот период проходит по цитоплазме к ядру. У разных вирусов период эклипса длится от нескольких минут (у фагов) до нескольких часов у медленно размножающихся вирусов животных. Продолжительность этого периода зависит также от концентрации вируса, от температуры и других факторов.

В течение скрытого периода в инфицированной клетке происходит ряд биохимических процессов. Прежде всего образуются так называемые «ранние» вирусные белки. К ним относятся: ферменты, участвующие в репликации и транскрипции вирусных нуклеиновых кислот; белки, блокирующие синтез клеточных нуклеиновых кислот и белков; нуклеазы, разрушающие клеточные нуклеиновые кислоты. После окончания синтеза «ранних» белков начинается интенсивный син-

тез «поздних» белков, к которым относятся структурные белки вирусной оболочки и фаговый лизоцим.

4 стадия - синтез компонентов вируса. Процессы проходящие в этой стадии, можно подразделить на три этапа.

Первый этап - подготовительный. Некоторые авторы совмещают его со скрытым периодом предыдущей стадии, т. к. процессы, происходящие на этом этапе, кратковременны, невидимы в световом и электронном микроскопах и трудно изучаемы биохимическими методами. Однако, известно, что прежде чем начинается репликация вирусной нуклеиновой кислоты, в инфицированной клетке происходит ряд процессов, преследующих две цели: 1) подавить синтез клеточных белков и нуклеиновых кислот; 2) подготовить условия для репликации вирусной нуклеиновой кислоты и синтеза белков капсида вируса.

Второй этап - репликация нуклеиновой кислоты вируса. С этого момента начинается воспроизведение себе подобных, что в прямом смысле и есть размножение. Репликация - удвоение, повторение.

Поскольку генетический аппарат вирусов весьма разнообразен, то и механизмы репликации имеют существенные различия, однако, они идут по принципу модели Уотсона-Крика. Классическая модель Дж. Уотсона и Ф. Крика (1953) объясняла, каким образом генетическая информация может быть записана в молекуле ДНК, и позволила объяснить химический механизм самовоспроизведения нуклеиновой кислоты. Для всех клеточных организмов доказано, что ДНК является единственным носителем генетической информации и ее репликация идет однотипно в направлении: ~НК — • РНК — • белок. Что касается вирусов то, как указывалось выше, их генетический аппарат достаточно разнообразен, и соответственно, механизм епродукции несколько отличен.

Третий этап - синтез белков капсида.

З а к л ю ч и т е л ь н а я с т а д и я - сборка вирионов, или морфогенез вирусов и выход их из клетки.

Остановимся более подробно на механизме репликации вирусных нуклеиновых кислот и переходе вирусов во внеклеточное неактивное состояние.

7.3. Репликация вирусных нуклеиновых кислот

В зависимости от организации генетического материала все вирусы можно разделить на четыре основные группы: вирусы, содержащие двухцепочечную (1 группа) или одноцепочечную (2 группа) ДНК, вирусы, генетическим материалом которых является одноцепочечная (3 группа) или двухцепочечная (4 группа) РНК.

Репликация двухцепочечной ДНК вирусов. Для этой группы ДНК характерен тот же путь репликации, что и для всех клеточных организмов: транскрипция ДНК в информационную РНК, последующая трансляция РНК в белок. После проникновения вирусной ДНК в клетку в ней подавляются процессы синтеза клеточной ДНК, РНК и белка, и биосинтетический аппарат клетки начинает функционировать под контролем вирусного генетического материала.

Вирусная нуклеиновая кислота включается в клеточный обмен веществ и направляет синтез инфицированной клетки на два разных процесса: репликацию самой вирусной нуклеиновой кислоты и синтез вирусоспецифических белков.

Репликация двухцепочечной ДНК вируса идет по классическому пути - на каждой раскручиваемой цепи ДНК достраивается новая комплементарная цепь. В результате образуются дочерние молекулы ДНК - точные копии родительской ДНК вируса. Репликация ДНК у большинства вирусов происходит в ядре клетки и лишь в единичных случаях в цитоплазме (вирусы группы оспы).

Информационная РНК вируса транслируется рибосомами клетки и на вирус-полисоме по матрице РНК идет синтез специфических белков.

Составные компоненты вируса (ДНК и белок) синтезируются в инфицированной вирусом клетке отдельно и почти параллельно. Отмечено иногда более позднее начало синтеза структурных белков, репликация одноцепочечной ДНК и р у с о в. Это группа мелких ДНК-содержащих вирусов животных (группа парвовирусов, аденовирусов и некоторых фагов). Процесс репликации одноцепочечной ДНК начинается с синтеза её комплементарной пары. В результате образуется двухцепочечная кольцевая родительская ДНК, получившая название репликативной формы (РФ). Репликация РФ-молекул ДНК протекает по классическому полуконсервативному механизму Уотсона - Крика. На ранних стадиях репликации число РФ - молекул быстро возрастает, т.е. имеет место симметричный процесс репликации ДНК. После того как число синтезированных белковых субъединиц достигает определенного уровня, начинается ассиметричная репликация ДНК, заключающаяся в том, что в качестве матрицы выступает только (-)-цепи, на которых синтезируются комплементарные (+)-цепи, при этом на одной (-)-цепи могут одновременно* синтезироваться несколько (+)-цепей. Сходящиеся с (-)-цепи (+)-цепи ДНК заключаются в белковую оболочку. Этим завершается формирование новых одноцепочечных ДНК-вирусов.

Репликация одноцепочечной РНК Вирусов. К этой группе вирусов относится большинство вирусов растений, многие вирусы животных и мелкие бактериофаги. После проникновения в клетку РНК взаимодействует с клеточными рибосомами и функционирует как информационная РНК (+)-цепь, т.е. выполняет роль матрицы для синтеза РНК-реплика^{ка}^ы. Синтезированная РНК-репликаза связывается с^ои же родительской (+)-цепью РНК, и последняя слу^т*Ит теперь матрицей для репликации комплементар^{ен} (-)-цепи. Механизм репликации РНК напоминает⁸"Ринципе механизм репликации однонитчатой ДНК.

В результате репликации образуется двухцепочечная репликативная форма молекулы РНК. Образовавшаяся (-)-цепь репликативной формы служит затем в качестве матрицы для синтеза (+)-цепей, при этом на репликативной форме одновременно происходит синтез нескольких (+)-цепей.

В некоторых случаях для ряда простых РНК-вирусов (пикорнавирусов животных и растений) было показано, что одноцепочечная РНК вирусов представлена также информационной (+)-цепью, т.е. может прямо транслироваться в белки на клеточных рибосомах.

У более сложных вирусов (миксо- парамиксовирусы, рабдовирусы и др.) молекула РНК представлена комплементарной (-)-цепью, на которой сначала должна синтезироваться информационная (+)-цепь, и уже с нее осуществляется трансляция.

Таким образом, у РНК-геномных вирусов молекула РНК одновременно является генетическим материалом и выполняет функцию информационной РНК.

В 1970 г. у онкогенных вирусов был обнаружен фермент РНК-зависимая ДНК-полимераза (обратная транскриптаза), способный синтезировать ДНК, используя в качестве матрицы вирусную РНК. В результате в начале образуется гибридная молекула РНК — • ДНК. На такой молекуле ДНК, как на матрице, синтезируется комплементарная нить провирусной ДНК; образующаяся двухцепочечная молекула ДНК способна включаться в геном клетки-хозяина. Этап РНК — • ДНК (обратная транскрипция) необходим для внедрения вирусного генетического материала в клеточный геном и для последующего синтеза РНК (прямая транскрипция).

Репликация двухцепочечной РНК вирусов. К четвертой группе вирусов относятся как вирусы животных (реовирусы), так и растений (вирус раневых опухолей, вирус карликовости томата), генетический аппарат которых состоит из фрагментов. Так, реовирусы в РНК имеют 10 фрагментов, кроме того, в ней содержится вирусоспецифическая РНК-по-*j*

лимераза (РНК-транскриптаза), которая после освобождения вируса от белкового капсида активируется и осуществляет синтез информационных РНК. Считывание информации происходит только с одной цепочки родительских молекул РНК, т.е. по консервативному механизму. Синтезированные молекулы иРНК связываются с клеточными рибосомами и образуются специфические белки вируса. Образование дочерних молекул РНК протекает асинхронно: вначале на матрице родительской РНК синтезируются комплементарные ей цепочки, которые затем служат матрицами для синтеза второй цепочки РНК, в результате чего образуется двухцепочечные молекулы РНК.

7.4. Сборка вирионов и выход их из клетки

Заключительным этапом внутриклеточного существования вирусов является формирование из синтезированных вирусных компонентов (нуклеиновых кислот и белков) вирусных частиц с определенной присущей им структурой и формой. Для простых вирусов растений, мелких вирусов животных это процесс спонтанный - специфические вирусные белковые субъединицы в строго упорядоченном соединении располагаются вокруг нуклеиновой кислоты. Процесс сборки происходит после того, как содержание составных компонентов вирусных частиц достигает в клетке определенного уровня.

У сложноорганизованных вирусов сборка вирионов - процесс многоступенчатый. Взаимодействие нуклеиновой кислоты с внутренними белками приводит к формированию нуклеокапсидов, которые являются промежуточными структурами при сборке. С нуклеокапсидами взаимодействуют вирусные ферменты и принимают участие клеточные структуры - ядерная и Цитоплазматическая мембраны. Например, ортомикровирусы приобретают липополисахаридный суперкапсид при выходе их в среду через клеточные мемб-

раны, а вирусы герпеса покрываются капсидом при выходе их из ядра.

Выход вирусов из клетки у разных вирусов осуществляется по-разному. У ДНК-содержащих фагов зрелые частицы выходят из клетки в результате её лизиса, который осуществляется с помощью фагового лизоцима. Освобождение мелких РНК-фагов, количество которых достигает 10 000 на клетку, происходит в результате лизиса последней, но лизирующего фермента не обнаружено. Некоторые мелкие фаги выделяются из клетки через клеточную стенку, и это не приводит к гибели клетки. Вирусные частицы группы герпеса после созревания проникают в цитоплазматические вакуоли, с помощью которых выводятся из клетки.

Вирусы растений после созревания остаются в клетках до тех пор, пока клеточная стенка последних не будет разрушена каким - либо способом.

В некоторых случаях вирус может длительное время находиться в клетке в латентном состоянии и передаваться дочерним клеткам при делении материнской клетки. К латентным вирусным инфекциям относятся вирусы герпеса.

Наиболее часто цикл репродукции вируса завершается продуктивной инфекцией - образованием многочисленной популяции (100 - 200) полноценных вирионов, что чаще всего сопровождается гибелью клетки хозяина.

7.5. Изменения в клетке, пораженной вирусами

Для изучения изменений в клетках и организме в целом, пораженных вирусной инфекцией, применяются различные методы: тканевые культуры, хроматография, использование радиоактивных изотопов, интактные растения, экспериментальные животные. Параметрами, которые служат основой для изучения изменений, могут быть сырая и сухая масса растительных тканей, площадь листа и его возраст и другие. Мест-

ные изменения, обусловленные действием вирусов теплокровных, проявляются в формах некроза и пролиферации. Так, в случае таких вирусных болезней, как миома Рауса, бородавчатость Шоупа, фиброма кроликов, изменения имеют характер разрастания ткани, пролиферации, а при осповакцине, птичьей оспе, вирусном ларинготрахеите выражен некротический характер. Много изменений на уровне клетки.

На ранних стадиях инфекции в зараженных клетках наблюдается угнетение синтеза собственных нуклеиновых кислот и белка. Образуются новые ферменты, например, специфические нуклеиновые полимеразы, необходимые для построения вирусных нуклеиновых кислот. Местом синтеза вирусной РНК, по-видимому, является ядро, ДНК - цитоплазма при участии ядра.

Наблюдаются патологические изменения цитоплазмы клеток. В случае мозаик, вызванных вирусами, в желто-зеленых участках ткани резко снижено содержание рибосом. При этом уменьшение числа рибосом происходит параллельно уменьшению хлорофилла в хлоропластах. Так, темно-зеленые участки ткани в листьях китайской капусты, зараженных вирусом желтой мозаики турнепса, практически не содержали вируса, а концентрация белка почти не отличалась от нормы. В желто-зеленых островках ткани, в которых содержались значительные количества ВЖМТ, концентрация белка была почти в два раза меньше, чем в темно-зеленых участках того же листа.

При вирусных инфекциях в ту или иную сторону меняется содержание углеводов и липидов. При заражении слабыми штаммами содержание углеводов (глюкозы, фруктозы и сахарозы) в листьях выше, чем при заражении сильными, что, вероятно, связано с воздействием вирусов на фотосинтезирующий аппарат. ХОРОШО изучены изменения метаболизма растений, нежелательных других организмов. Наиболее общие физиологические и биохимические изменения, встречающиеся у зараженных вирусами растений, следующие:

- а) снижение скорости фотосинтеза;
- б) увеличение интенсивности дыхания;
- в) повышение активности некоторых ферментов, в частности полифенолоксидазы, и накопление окислительных полифенолов;
- г) снижение активности регуляторов роста.

7.6. Противовирусный иммунитет

В иммунологических взаимоотношениях между болезнетворными агентами и организмом хозяина имеются три формы:

- а) восприимчивость;
- б) невосприимчивость, иммунитет;
- в) сверхчувствительность, аллергия.

Восприимчивость или предрасположенность - это понятие определяет состояние организма на данный момент, его готовность к восприятию инфекционного патогена. Возникновение заболевания либо отсутствие его проявления - результат встречи болезнетворного начала с организмом хозяина. Итог этой встречи определен иммунитетом последнего.

Различают три типа противоинфекционного иммунитета при вирусных, риккетсиозных и других инфекциях.

1. К о н с т и т у ц и о н н ы й (синонимы: наследственный, физиологический). Например, иммунитету людей к облигатно-зоонозным инфекциям (ложная чума кур, плевропневмония рогатого скота и т.д.).

2. П р и о б р е т е н н ы й: а) естественный - после перенесенного заболевания, например, кори и др., б) искусственный - активный (после вакцинации против полиомиелита, оспы и др.) и пассивный (после введения иммунной сыворотки).

3. И н ф е к ц и о н н ы й (синонимы: нестерильный, депрессивный) - относительный иммунитет, сохраняющийся на продолжительный срок в связи с нестерильностью клеток организма после инфекции или вакцинации живой вакциной.

В основе механизма иммунитета человека и живот⁴ -
ных лежат различные факторы. Одни из механизмов
являются врожденными, видовыми. Другие вырабаты-
ваются в течение жизни. Все механизмы иммунитета
играют ту или иную роль при вирусных инфекциях.
К механизмам иммунитета относятся:

1) гуморальный, связанный с наличием антител в
сыворотке крови и в клетке;

2) фагоцитарный, или воспалительный, определя-
ющий повышенную активность клеток ретикулярной
системы в поглощении и разрушении инфекции;

3) интерференционный, препятствующий размно-
жению патогена в клетках, внутри которых уже веге-
тирует неинфекционный или слабовирулентный агент;

4) выделительный, зависящий от свойств нормаль-
ных выделений (слизей, ферментов и т.д.)

5) ареактивный, связанный с отсутствием клеток
и тканей, доступных для внутриклеточного паразитиз-
ма;

6) антибиотический.

Растениям свойственны те же три типа иммуните-
та, но факторы, определяющие устойчивость их к ин-
фекционным патогенам, несколько иные. Ниже при-
водятся основные механизмы иммунитета растений:

1. анатомо-морфологические особенности строе-
ния: толщина покровных тканей листа или других ор-
ганов, строение устьиц, опушенность листьев, воско-
вой налет;

2. химические и физико-химические факторы: рН
клеточного сока и его осмотическое давление; белки и
продукты их распада: алкалоиды, фенолы и другие ве-
щества, обладающие защитными свойствами;

3. фитонциды;

4. фитоалексины;

5. активизация ферментов: пероксидазы, полифе-
нолоксидазы;

6. влияние агроэкологических условий и защит-
ное действие микроэлементов и макроэлементов.

Одним из разделов иммунологии является серология, которая изучает серологические реакции на введение в организм специфических белков, в данном случае таким белком служит вирус-антиген. В ответ на введение в организм антигена вырабатываются антитела как защитная реакция на внедрение паразита.

Многочисленное введение антигена в кровь животного с интервалом в несколько дней повышает концентрацию антител в его крови. Через 8-10 дней после последней инъекции животное обескровливается. Кровь свертывается, после чего центрифугированием от нее отделяется содержащая антитела антисыворотка. Она имеет большое практическое значение. Антисыворотка обнаруживает типичную реакцию иммунитета - осаждение нерастворимого белка при прибавлении антигена. Выпадает осадок антитела.

При диагностике вирусов, патогенных для животных и человека, используют реакцию агглютинации, т.е. склеивания эритроцитов. Адсорбируясь на эритроцитах, вирусные частицы способствуют их склеиванию. Если внести соответствующую специфическую антисыворотку, этим можно предотвратить агглютинацию и идентифицировать вирус.

Антисыворотки широко применяются для диагностики вирусных болезней не только животных и человека, но и растений. Кроме реакции агглютинации применяются и другие серологические реакции.

8. ЭКОЛОГИЯ ВИРУСОВ

Вирусы уникальны как по своим биологическим свойствам, так и по экологии и по своему месту в биосфере. Для того, чтобы вирус мог продолжать свое существование, необходим соответствующий хозяин, в котором он может размножаться, эффективные способы распространения и заражения, а также взаимодействие многих биологических и физических факторов.

Изучение экологии вирусов важно для разработки соответствующих методов борьбы с вызываемым вирусом заболеванием. Основными экологическими факторами при этом следует считать природные очаги инфекции, способы передачи вирусов от хозяина к хозяину, перемещение их по тканям, а также способы, с помощью которых другие факторы воздействуют на распространение вирусов.

8.1. Природные очаги инфекции и циркуляция вирусов

Вирус вместе с поддерживающими его существование хозяевами составляет очаг инфекции. Изучение природных очагов имеет большое значение, так как позволяет научно объяснить закономерности развития эпидемий, обосновать возможность их распространения, а также перемещение старых и образование новых.

В растительной вирусологии известно много вирусных и микоплазменных заболеваний, характеризующихся природной очаговостью, - обыкновенная огуречная мозаика, столбур пасленовых, желтуха бобов и гороха, мозаика люцерны и ряд других.

Природный очаг в фитовирусологии понятие, которое подразумевает наличие возбудителя, переносчика и восприимчивость к болезни организмов, в качестве последних выступают дикорастущие растения, являющиеся резервуарами вирусов или микоплазм.

Различают два вида природных очагов. Первичный природный очаг существует независимо от культурных растений. Для заражения последних необходимо присутствие их в зоне очага инфекции, а также наличие условий для миграции переносчиков из природного очага на сельскохозяйственные культуры. Вторичные очаги инфекции образуются в тех зонах, где вирус, распространенный на культурных растениях, заражает многолетние и дикорастущие растения. Со временем представители дикорастущей флоры становятся постоянными естественными хозяевами того или иного патогена.

Любой природный очаг инфекции представляет собой патобиоценоз. Патобиоценоз-эволюционно сложившееся в определенных условиях внешней среды сообщество хозяина, переносчика и вируса.

В фитопатологии учение о природной очаговости болезней растений направлено на решение следующих задач:

- 1) выявление природных очагов - источников инфекции для культивируемых растений;
- 2) исследование особенностей циркуляции патогенов в природном очаге и условий перехода инфекции на культурные растения;
- 3) разработка мероприятий, предупреждающих вспышки заболеваний на сельскохозяйственных культурах.

Многолетние растения служат резерваторами многих инфекций. При этом тот или иной вирус обычно сохраняется и перезимовывает в растениях нескольких видов, что имеет приспособительное эволюционное значение. Так, резерваторами вируса обыкновенной огуречной мозаики являются пастушья сумка, физалис, барвинок малый и др.

В тех районах, где сельскохозяйственные культуры вегетируют круглый год, сорняки не играют решающей роли в поддержании устойчивой циркуляции вируса. Вирус может с помощью переносчиков перемещаться со старых посадок на новые. Например, пере-

дача У-вируса картофеля происходит через клубни картофеля, в результате вирус может устойчиво поддерживаться в культуре картофеля независимо от наличия или отсутствия резерваторов.

В числе объектов медицинской и ветеринарной вирусологии также есть вирусы, которые в отдельных случаях связаны с природными очагами (например, бешенство, ящур). Вирус бешенства имеет природные очаги инфекций, основными его резерваторами являются дикие животные - волки, лисицы и др. Вирус ящура распространен преимущественно среди домашних животных, однако, им могут заражаться и некоторые дикие животные - лоси, косули.

Природные очаги инфекций известны и в районах Средней Азии. О некоторых селениях Таджикистана и Туркмении издавна ходила худая слава. Люди, отважившиеся заночевать в заброшенных глинобитных домах и пещерах, непременно тяжело заболели. Причина болезни таилась в клещах, населявших развалины. Они могли долгие годы сохранять инфекцию и передавать возбудителя при укусе человеку.

Многие виды клещей в лесах, степях и пустынях переносят вирусные инфекции. «Это таежный и японский энцефалит, геморрагические лихорадки и др. Крупная вспышка японского энцефалита была в 1924 г. Тогда только в Токио заболело свыше 6000 человек, 3800 погибло. С вирусом весенне-летнего клещевого энцефалита люди встретились в необжитых таежных районах Сибири. Это были природные очаги вирусов и инфекций.

В районах, где человек соприкасается с дикой природой, он может столкнуться с новыми, неизвестными вирусными болезнями.

В Западной Африке в XVIII веке вирусная желтая лихорадка поразила около 500 тысяч человек. Жар, бред, рвота, часто с кровью, боли в спине, головные боли - все это приводило к поражению печени, желтухе и гибели заболевшего. По торговым путям из Чага инфекции лихорадка быстро распространилась

на север и юг побережья Америки, а затем и в Европу. Борьба с этим заболеванием стала возможна только после того, как стало известно, что комары переносят смертельную заразу.

Многие вирусные болезни имеют сезонность, а их возбудители циркуляцию. Вирус циркулирует по непрерывной цепи: позвоночный хозяин - членистоногий переносчик - позвоночный хозяин. Заражение позвоночных происходит через укус инфицированных членистоногих, выделяющих вирус, приобретенный во время кровососания больных позвоночных, с секретом слюнных желез. Позвоночными хозяевами вируса обычно бывают дикие животные, чаще мелкие грызуны. Так протекает цикл вируса. Если на пути зараженного комара встречается человек и комар нападает на человека, то этот контакт может привести к заболеванию.

Аналогичным образом происходит циркуляция растительных вирусов. В весенне-летне-осенний период вирусы проявляют высокую активность в вегетирующих растениях. В зимний период сохраняются на растительных остатках, корнеклубнеплодах, возможны в почве в свободном виде, а также в спорах грибов, в яйцах и других органах членистоногих. Таким образом наблюдается та же схема циркуляции вируса.

8.2. Пути распространения вирусов

Обязательным условием существования вирусов как биологических видов является последовательная передача от хозяина к хозяину или переход к новому хозяину.

Известны различные механизмы передачи: горизонтальные и вертикальные. При горизонтальной передаче вирус распространяется в популяции хозяев через внешнюю среду аэрогенно (грипп), с пищей или водой (полиомиелит) или переносчиками (энцефалиты и другие). При вертикальной передаче вирус передается

дит от материнского организма к дочернему, т. е. к потомству.

При горизонтальной передаче через внешнюю среду вирус оставляет хозяина, и вирионы подвергаются ряду жестоких воздействий. Это температура, солнечный свет, возможность высушивания или, наоборот, воздействие воды. Вирус встречается во внешней среде даже с разнообразными ферментами. Находясь длительное время во внешней среде, вирусы должны приспособиться к ней, в результате у них вырабатывается устойчивость или они изменяются. Изменяется вирус и в том случае, если он передается от хозяина к хозяину переносчиками.

8.2.1. Распространение вирусов растений

В природе вирусы от больного растения к здоровому проникают через механические повреждения. Прочные целлюлозные оболочки клеток цветковых растений делают их недоступными для внедрения вирусов. Только при повреждении клеточных оболочек вирусы могут проникнуть в живую цитоплазму и размножиться в ней. Очень важно, чтобы травмы были незначительными, так как при больших ранах, сопровождаемых быстрым отмиранием клеток, блокируется и вирус. В этом случае передачи инфекции фактически не происходит.

Растение, однажды инфицированное вирусом, остается его постоянным носителем. Подавляющее большинство вирусов распространяется от растения к растению с помощью насекомых. Переносчиками могут быть тли, цикадки, трипсы, алейродиды. Все эти насекомые имеют колюще-сосущий ротовой аппарат.

Согласно современным данным, известно около 100 видов тлей, переносящих свыше 150 вирусов. Вирусы эти принято делить на две основные группы - персистентные и неперсистентные.

Персистентные вирусы - это те, которые циркулируют в органах тлей. Их еще называют циркулятивные или стойкие. Тли с такими вирусами не сразу заражают растение, а прежде вирус должен из кишечника проникнуть в кровь или гемолимфу, а далее в слюнные железы. Лишь после такого периода циркуляции вируса, называемого латентным периодом, тля способна заражать другие растения. Инфицированное однажды насекомое постоянно остается заразным (вирофорным). Это биологическая передача инфекции.

Неперсистентные вирусы способны передаваться сразу же после питания тлей на больном растении. Способ называется механическая передача инфекции. Инфекционность тли сохраняется обычно не более часа и затем утрачивается. Поэтому механическая передача осуществляется очень быстро - вирусы находятся на кончике стилета. Например, тля, инфицированная вирусом огуречной мозаики I, при 5-минутном питании на больном растении может заразить здоровое растение в последующие 5 минут. Однако, при переходе тли на последовательный ряд растений она вскоре теряет инфекционность. Механическая передача менее специфична, чем биологическая.

Насекомое, которое передает вирусы биологическим способом, должно питаться на больном растении несколько часов. После этого на протяжении определенного времени (латентный или инкубационный период) насекомое питается на здоровом растении и не способно его заразить. За инкубационный период концентрация вируса в организме достигает предела, который дает возможность заразить здоровое растение. Инкубационный период зависит от биологических особенностей вируса и насекомого-переносчика (табл. 8.1.).

Основная роль в широком распространении инфекции принадлежит тлям и цикадам. Так, вирус желтухи астр переносят до 30 видов цикадок. Персиковая тля является переносчиком более 70 различных вирусов.

Как видно из данных примеров, один и тот же переносчик может переносить множество вирусов, а вирус может переноситься многими переносчиками.

Таблица 8.1

Инкубационный период вирусов в переносчике

Вирус	Переносчик	Инкубационный период
Курчавость верхушки сахарной свеклы	Цикадки	4 ч.
Желтуха сахарной свеклы	Тли	30 мин.
Окручивание верхушки томата	Тли	16 - 24 дн.
Столбур пасленовых	Цикадки	2 - 7 дн.
Верхушечный хлороз махорки	Трипсы	3 дн.
Закукливание злаков	Цикадки	6 дн.
Карликовость риса	Тли	3 дн.
Скручивание листьев хлопчатника	Тли	10 ч.
Желтуха астр	Цикадки	10 дн.
Курчавость листьев хлопчатника	Алейродиды	6 ч.

В числе переносчиков вирусной инфекции зарегистрированы трипсы (бронзовость томата, верхушечный хлороз), алейродиды (курчавость листьев табака, хлопчатника), клопы (веретеновидность клубней картофеля), клещи (мозаика пшеницы, инжира, лука, розеточность розы, мозаика персика). Определенную роль в распространении вирусов играют насекомые с грызущим ротовым аппаратом (жуки, гусеницы, бабочки, прямокрылые, уховертки), в целом роль эта незначительна.

Передача вирусов через почву. Ряд вирусов передается организмами, населяющими почву. Среди них большое значение имеют нематоды. Они не относятся к паразитическим формам, а являются свободноживущимися в почве, питаются соками корней разнообразных растений. Нематоды обладают острым хитиновым стилетом, при помощи которого прокалывают оболочку клеток. Способ передачи вирусов у них такой же, как и у тлей. Длительное сохранение инфекционного состояния, возможно, связано с накоплением вируса в организме.

Среди других обитателей почвы в распространении вирусов участвуют грибы. Гриб Олпидиум паразитирует в клетках корней многих растений, где образует зооспорангии. При их созревании в них появляются многочисленные зооспоры. В присутствии почвенной влаги зооспоры устремляются к молодым корням. Если в воде, где плавают зооспоры, есть вирусы, то они инфицируют зооспоры. Этот гриб является переносчиком вируса некроза табака, вируса разрастания жилок салата, вируса карликовости табака, вируса некроза огурца.

Сам гриб Олпидиум относится к классу низших грибов и является облигатным паразитом.

В распространении некоторых вирусов может принимать участие гриб Полимикса - переносчик вируса розеточной мозаики пшеницы, вируса ризомании сахарной свеклы.

Распространение вирусов через почву может осуществляться и без переносчиков (нематод, грибов). Вирусы в почве встречаются и в свободном виде. Они выделяются в почвенный раствор из корней зараженных растений. Заражение здоровых растений происходит через многочисленные мелкие травмы корней.

Своеобразные пути передачи инфекции наблюдаются при гидропонном выращивании растений. От отдельных зараженных растений вирусы попадают в питательный раствор и очень быстро заражают здоровые. При гидропонном выращивании овощей вирусы типа ВТМ и зеленой крапчатости мозаики огурцов могут длительное время сохраняться в пористом гидропонном субстрате - керамзите.

Передача вирусов с помощью повилки Ч некотором роде сходна с передачей путем прививки. Она может выполнять пассивную роль канала, соединяющего два растения. Используется в экспериментах по передаче вирусов. В полевых условиях повилка

не играет существенной роли в распространении вирусов, приносящих большой ущерб в растениеводстве.

В природе многие вирусы передаются от растения к растению с помощью беспозвоночных - переносчиков, находящихся в почве.

Передача вирусов при вегетативном размножении - это вертикальная передача. При вегетативном размножении растений вирусы переходят к потомству. Многие вирусные болезни картофеля передаются через клубни (морщинистая мозаика, X-вирус, скручивание листьев). Вирусы, поражающие лилейные растения, сохраняются в луковицах (мозаика лука, пестролепестность тюльпана). Вирусы могут быть в корнеплодах свеклы (мозаика и желтуха).

Распространение вирусов возможно при размножении растений черенками. Этим путем распространяется вирус махровости черной смородины. Использование окулировочного материала при прививках, взятого с больных растений, также в сильной степени способствует распространению некоторых вирусов.

Передача вирусов через семена. Известен ряд вирусов, передающихся этим способом. Это также вертикальная передача. Передача вирусов через семена встречается относительно редко. По-видимому, анабиотическое состояние зрелых семян, связанное со значительным их обезвоживанием и снижением всех физиологических функций, - причина непередаваемости многих вирусов через семена. Например, передача вируса мозаики дыни через свежесобранные семена составляет 28-93 %, но при хранении семян передача вируса снижается до 3-6 %.

При созревании семян, в них могут накапливаться вещества, инактивирующие некоторые вирусы. Например, экстракт из зрелых семян табака сильнее инактивирует препараты вируса табачной мозаики, чем экстракт из зеленых семян.

К вирусам, распространяемым через семена, относятся вирусы мозаики сои, обыкновенной мозаики фасоли, мозаики вигны, зеленой крапчатой мозаики огурцов, ВТМ (штамм, поражающий томаты), штриховатой мозаики ячменя и другие.

Механизм передачи тех или иных вирусов через семена различен. Инфекция может поражать зародыш семян, эндосперм, либо находиться в семенной кожуре или на ее поверхности.

8.2.2. Распространение вирусов животных и человека

Механизмы передачи вирусов животных и человека, как и фитовирусов могут быть горизонтальные (внешняя среда) и в меньшей степени вертикальные.

Капельная инфекция имеет огромное значение для распространения этой группы вирусов. При передаче инфекции от хозяина к хозяину во внешней среде рассеивается огромное количество вирусов. Нового хозяина достигают единичные вирусные частицы, а преобладающая часть популяции погибает. На гибель обречены неустойчивые вирусы. Вирус гриппа, например, рассеивается в воздухе при кашле и чихании больных людей. Попадая на слизистую оболочку дыхательных путей здорового человека и активно внедряясь в клетки, он может вызвать заболевание. Это прямая передача инфекции.

Капельным путем распространяются кроме гриппа острые респираторные инфекции (ОРЗ), вызываемые более чем 180 вирусами.

В 1979 г. в Бельгии зарегистрирована эпидемия гриппа среди свиней, во время которой были выделены штаммы вируса гриппа А, близкородственные по антигенному составу к выделенным ранее у уток в США и ФРГ. Следовательно, вирус гриппа А может передаваться млекопитающим.

Согласно программе ВОЗ планируется интенсификация исследований вируса гриппа диких птиц, свиней

ПО

и лошадей с выяснением путей распространения от людей к этим типам животных и, наоборот, от свиней к человеку. Эта программа объединяет и координирует более 90 лабораторий из различных стран.

Загрязнение пищевых продуктов или питьевой и природных вод некоторыми вирусами также способствует распространению инфекции. Так, вирусы, передающиеся через пищевые продукты, инфицируют пищеварительный тракт человека. Эту группу можно разделить на две категории: 1) вирусы, размножающиеся в кишечнике, а затем с кровью разносящиеся по всему организму, вызывая заболевания других органов (аденовирусы, ЕСНО); 2) вирусы, размножающиеся в кишечнике и являющиеся причиной различных расстройств пищеварения (астровирус, калицивирус, агент Норволк).

Водные вспышки вирусных инфекций характеризуются широким охватом населения. Более 100 различных вирусов могут включаться в циркуляцию воды и вызывать болезни человека и животных. Через воду, зараженную пищу, грязные руки легко передается полиомиелит. В сточных водах обнаружены вирусы группы Коксаки и ЕСНО, вызывающие заболевания, сходные с полиомиелитом. С загрязненной водой и пищевыми продуктами прямым контактом с больным распространяется вирус гепатита.

Через загрязненные руки и окружающие предметы передаются многие вирусы. Так, небольшие количества слизи из носоглотки больных ОРЗ могут переноситься руками на дверные ручки, двери, предметы и сохранять инфекционность в течение нескольких часов. В лабораториях было выделено от 3 До 1800 риновирусов с пальцев рук, касавшихся инфицированных предметов.

Наиболее часто пути распространения многих вирусов связаны с некоторыми млекопитающими и членистоногими. Эти переносчики являются причиной многих вирусных болезней.

Вирус весенне-летнего энцефалита паразитирует в иксодовых клещах, в которых размножается и через яйца передается следующим поколениям клещей (вертикальная передача инфекции). Питаясь на млекопитающих и других животных, клещи переносят на них вирус (горизонтальная передача инфекции). Пораженные вирусом животные становятся новым источником заражения для клещей. Человек в данном случае, хотя и восприимчив к заболеванию, но никакой роли в распространении и сохранении вируса в природе не играет. Заражение человека происходит лишь при попадании в естественный очаг инфекции.

Вирусы энцефалитов (весенне-летнего, шотландского, японского) входят в группу арбовирусов, т.е. вирусов животных, передающихся членистоногими. В настоящее время известно около 300 арбовирусов. К этой группе энцефалитов восприимчиво значительное число животных: мыши, обезьяны, свиньи, лошади, коровы, козы, овцы, собаки, кошки. Переносчики вируса - клещи и комары.

Наиболее распространенные арбовирусы, вызывающие заболевания человека: желтая лихорадка, лихорадка Денге и другие. Арбовирусы называли по месту выделения или по симптому болезни, поэтому многие из них носят экзотические названия - Кумба, Буньявера, Нтая. Лихорадка Денге, или "костоломная лихорадка", болезнь сгибающая суставы.

Проблема арбовирусных инфекций, как правило, возникает во время освоения новых территорий, внедрения человека в дикую необжитую природу.

Причиной распространения вирусов могут быть больные дикие и домашние животные. Вирус бешенства передается со слюной больных животных при укусах. Причем, было доказано, что частота случаев бешенства за последние два десятилетия постепенно нарастает. В 1981 г. число случаев бешенства среди животных увеличилось более чем в два раза. В 1978 г. в США зарегистрировано 3298 случаев бешенства. Вирус был выделен от 1657 скунсов, 567 летучих мышей,

148 лисиц, 254 сельскохозяйственных животных, 9 собак и 96 кошек.

В Европе начаты эксперименты по иммунизации животных против бешенства для ограничений распространения вируса в природных очагах. Для этого разбрасывают приманку, содержащую ослабленный вирус.

Интересные сообщения появились в научной литературе в конце 50-х годов. Были описаны случаи заболевания (в частности, опоясывающим лишаем, вызванные вирусами Коксаки, фитодерматозами) у людей, инфицировавшихся от растений. Эти данные подтверждены и экспериментально. Таким образом, обнаружены факты, показывающие, что одни и те же вирусы могут находиться у людей, животных, в том числе насекомых, а также и у растений. Это говорит о единой роли вирусов в природе и единстве патологических процессов.

8.3. Распространение вирусов по тканям и органам

Вирусы или штаммы вирусов избирательно поражают ткани и органы хозяев. От того места, где произошло заражение, вирусы с той или иной скоростью перемещаются к месту инфекции.

Фитовирусы проникают в растения через поражения, возникающие от механических причин, или при повреждении клеток насекомыми. При таком заражении вирус проникает в пораненные клетки эпидермиса, распространяясь отсюда в соседние клетки и паренхиму листа по плазмодесмам.

Скорость распространения вирусов, передвигающихся из клетки в клетку по плазмодесмам, невелика, в пределах от 1 до 6 мкм в час. ВТМ перемещается из верхнего эпидермиса в нижний со скоростью 8 мкм в час. Скорость резко изменяется, когда вирус достигает флоэмы. Попав во флоэму, ВТМ перемещается в растении со скоростью 1-1,5 см/ч. При

околыдевании флоэмы на стебле табака продвижение вируса сильно замедляется.

Предположительно перемещение вирусов в растении происходит пассивно и часто определяется направлением тока питательных веществ. Так, при удалении листьев или в темноте продвижение вируса ускоряется в направлении к верхушке. В обычных условиях, когда вирус внедряется в корневую систему, продвижение его в наземную часть растения происходит очень медленно. Известны случаи, когда для перемещения ВТМ в стебель и листья из зараженных корней требовалось около двух месяцев. Вирусы типа мозаик приспособились хорошо размножаться в клетках паренхимы листа или корня. Вирусы типа желтух избирательно накапливаются в клетках флоэмы, например, вирус курчавости верхушки сахарной свеклы. Большинство фитовирусов накапливается в цитоплазме клеток, некоторые в клеточном ядре - вирус гравировки табака и ВТМ. Хлоропласты при вирусных заболеваниях, как правило, патологически изменяются. При желтухе сахарной свеклы внутри хлоропластов образуются кристаллообразные скопления вирусных частиц, что придает листьям большую хрупкость.

В заключение следует сказать, что существует два типа перемещения вирусов в растении: относительно медленное распространение из клетки в клетку; быстрое по проводящим тканям флоэмы или ксилемы (или по той и другой).

Распространение вирусов в организме животных и человека происходит разными путями. Зоовирусы размножаются в клетках не всех органов и тканей, а лишь избирательно поражают некоторые из них.

Вирус полиомиелита, попав с пищей в пищеварительный тракт человека, накапливается в клетках стенки тонкого кишечника. Затем достигает центральной нервной системы и избирательно поражает двигательные нервные клетки спинного и головного мозга. Их гибель ведет к развитию параличей, которые сохраняются на всю жизнь. Вирус полиомиелита проникает

также в клетки слизистой ткани носоглотки и через лимфатические лакуны в окончания обонятельного нерва и дальше по нервному стволу в мозг.

Перемещение вирусов к различным внутренним органам происходит по кровеносным и лимфатическим сосудам, нервным волокнам.

Вирус бешенства постоянно обнаруживается в слюне больных животных. Заражение бешенством происходит при укусах, даже при минимальных поражениях кожи, но при условии попадания в них слюны больных животных. Размножается в головном или спинном мозгу, очень редко выявляется в крови. Мозговые поражения связаны с распространением вируса по осевым цилиндрам нервных волокон.

Вирусы энцефалитов вызывают острое воспаление головного мозга, переносчиком и резервуаром их являются клещи. После укусов последних вирусы по кровеносным сосудам проникают в мозговую ткань.

Ящур - рьяльно-копытная болезнь парнокопытных животных. Вирус ящура обнаруживается в крови заболевших животных и распространяется по кровеносным сосудам в течение всего лихорадочного периода-

8.4. Инфекционный процесс и его типы

Имеется множество факторов, влияющих на течение и характер инфекционного процесса.

Прежде всего - состояние хозяина. Существует несколько понятий, определяющих возможность проявления заболеваний: устойчивость, восприимчивость, иммунность.

Устойчивостью называют способность организма хозяина противостоять заболеванию при заражении определенным видом возбудителя. В основе устойчивости находятся сложные биологические взаимоотношения, возникающие в ходе инфекции между паразитом и хозяином.

В противоположность устойчивости, восприимчивость характеризуется полной неспособностью хозяина противостоять заражению и распространению вируса в его тканях. Оба термина могут быть и равнозначны, и противоположны. Например, "малая устойчивость" и "сильная восприимчивость" - оба понятия совершенно одинаковы.

Устойчивость и восприимчивость не являются постоянными свойствами организма, а зависят от его биологических и физиологических особенностей и условий внешней среды.

Иммунность означает невосприимчивость к заболеванию, к тому или иному возбудителю. Иммунность рассматривается как высшая форма устойчивости.

Течение любого заболевания состоит из последовательных этапов: заражения - проникновения вируса в клетки и ткани; инкубационного периода ^ ходе которого вирус распространяется по тканям и размножается; проявления симптомов заболевания, или собственно болезни; и затухание болезни, которое заканчивается выздоровлением или гибелью организма.

Заражение происходит от небольшого количества вирионов. Для некоторых вирусных болезней, передающихся через укус членистоногих, количество вируса, поступающего в организм хозяина, можно определить очень точно. Расчеты основаны на экспериментальных данных о содержании вируса в слюне и на данных о количестве слюны, которое выделяет насекомое и которое остаётся после укуса. Показано, что инфекция может развиваться после попадания в ранку 1-10 инфекционных вирусных частиц, максимальные заражающие дозы редко превышают эту величину в 30 раз. Далее размножение вируса идет в геометрической прогрессии. Одна вирусная частица дает потомство от нескольких сотен до нескольких тысяч вирионов, в зависимости от вируса и типа клеток.

Различают три типа заражения клетки вирусами, в том случае если в этом процессе участвуют несколько вирусных частиц. 1 - множественная инфекция, при которой клетка заражается несколькими вирионами, проникающими в нее в различных участках. 2- множественная локальная инфекция. Она осуществляется заражением клеток агрегированным вирусом. Вирусные частицы могут слипаться, и их агрегаты постоянно образуются при размножении вируса в хозяине, особенно в рыхлых органах и тканях. Локальная множественная инфекция клетки встречается в естественных условиях достаточно часто.

У многих вирусов локальную множественную инфекцию обеспечивает особый тип вирионов, так называемые мультиплоидные вирионы, они включают в себя не один, а несколько вирусных геномов и имеют большой размер.

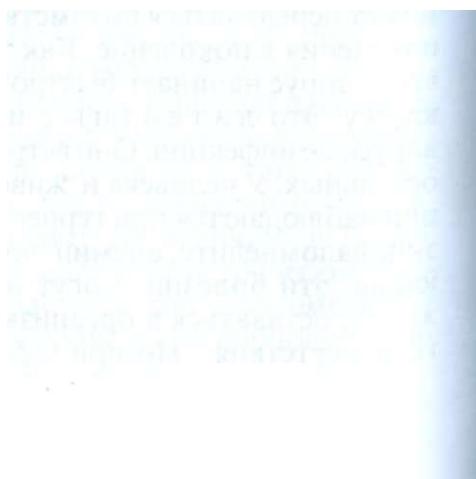
Как указывалось выше, даже одна вирусная частица может быть источником заражения. Это 3-й тип заражения - единичная инфекция.

Вирусные болезни могут носить явный характер, когда проявляются симптомы данной болезни. Они так и называются: явные или симптомные. Но вирусная инфекция может протекать скрыто, без видимых проявлений. Вирус проникает в клетку обычным путем и может оставаться в ней определенно долгое время, не оказывая губительного действия. Более того, вирус может передаваться потомству клетки и переходить из поколения в поколение. Как только организм ослабевает, вирус начинает быстро размножаться и убивает клетку. Это латентные или бессимптомные вирусные инфекции. Они встречаются в природе чаще остальных. У человека и животных латентные инфекции наблюдаются при герпесе, полиомиелите, гриппе, энцефаломиелите, анемии лошадей. Вирусы, вызывающие эти болезни, могут очень долго, иногда всю жизнь, оставаться в организме, не обнаруживая своего присутствия. Но при неблагоприятных условиях

(охлаждение, длительное освещение солнцем, излучение, эмоциональное потрясение, побочные заболевания) вирусы могут активизироваться и проявить свое болезнетворное действие. Неблагоприятные условия являются тем фактором, который переводит скрытую латентную вирусную инфекцию в явную.

Ученые предполагают, что генетический материал подключается к геному клетки. В этом случае клетка вновь и вновь воспроизводит вирус. Так возникает хроническая инфекция. Соединившись с генетическим веществом клетки, вирус как бы исчезает из клетки. Становится невозможным выделить его из клетки, обнаружить его присутствие, и все же он существует в ней, размножается и изменяет свои признаки.

Хронические вирусные инфекции могут вызывать дефектные вирионы, они имеют неполный набор генов и поэтому не способны интенсивно размножаться. Более того, они мешают размножению полноценных вирионов.



СПЕЦИАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

9. ВИРУСЫ БАКТЕРИЙ

Термины «бактериофаг» и «бактериофагия» стали общеизвестными. Наряду с ними в литературе широко применяется термин «фаг» - для обозначения и бактериофагов, поражающих бактерии, и открытых недавно актинофагов, поражающих актиномицеты, и альгофагов, которые поражают некоторые водоросли.

Для изучения морфологии и свойств бактериофагов их выделяют в чистом виде. Сделать это не трудно, они размножаются всегда только в растущих клетках бактерий. В том месте, куда попал фаг и поразил бактерии, образуется пятно, не содержащее бактерий. Бактерии и твердую питательную среду, на которой они росли, отделяют центрифугированием или фильтрованием и получают жидкость, содержащую фаги.

9.1. Морфология и химический состав фагов

Предположение, что бактериофаги имеют корпускулярную природу, было выдвинуто еще Ф.Д. Эреллем. Однако, только после открытия электронного микроскопа удалось увидеть и изучить тонкую структуру фагов, но еще длительное время вопросы их морфологии, особенностей основывались на результатах изучения кишечных бактериофагов Т-группы (Т1, Т2, ... Т7). В дальнейшем появились новые данные о морфологии и структуре. Были открыты разнообразные фаги не только бактерий, но и актиномицетов, водорослей, грибов.

Детальные электронно-микроскопические исследования в совокупности с некоторыми физико-химическими методами изучения бактериофагов Т-группы показали, что каждый фаг состоит из разных морфологических элементов.

Сложные большие Т-четные бактериофаги (Т2, Т4, Т6) состоят из полиэдрической головки длиной 100 нм

и отростка, или «хвоста», примерно такой же длины. Головка состоит из капсомеров и содержит внутри ДНК. Отросток фага Т2 имеет довольно сложное строение (рис. 9.1). В нем можно различить не менее трех частей: полый стержень, окружающий его сократимый чехол и находящуюся на конце стержня базальную пластинку с шипами и нитями. С помощью последних происходит адсорбция фага на клетке-хозяине.

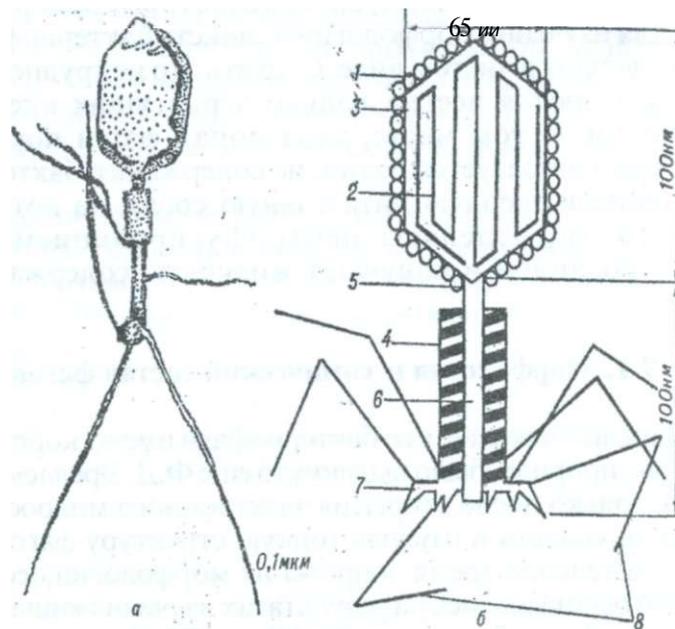


Рис.9.1 Структура бактериофага Т2:
а - электронная фотография фага Т2; **б** - схема структуры;
1 - белковая субединица капсида; **2** - ДНК; **3**- головка фага;
4 - футляр; **5** - отросток; **6** - стержень; **7** - пластинка с шестью зубцами; **8** - нитки отростка.

Многие бактериофаги имеют более простое строение. Поэтому, в последнее время исследователями было

предложено поделить все фаги на пять основных групп, с учетом их структуры и с эволюционной точки зрения (рис. 9.2).

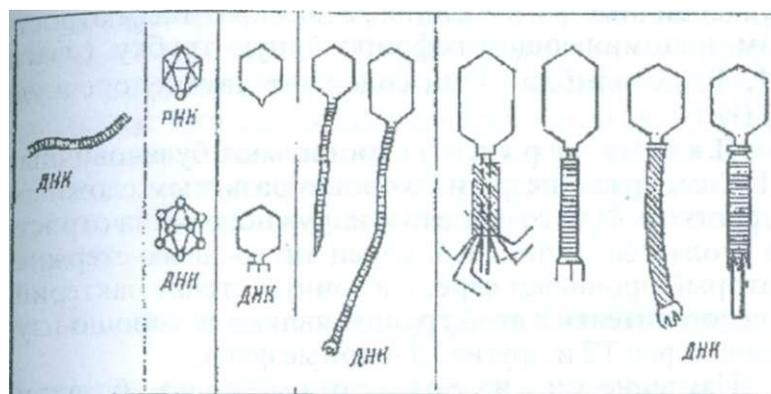


Рис. 9.2. Схематическое изображение представителей разных групп фагов.

К первой группе принадлежат нитевидные фаги fd, fl, M13 и другие. По форме они напоминают вирионы ВТМ. Это длинные гибкие палочки (700-850 нм), которые состоят из трубочкоподобного капсида со спиральным типом симметрии. Имеют одноцепочечную ДНК.

Ко второй группе относят мелкие сферические фаги икосаэдрической формы без дифференцированного оторостка. Их делят на две подгруппы. Фаги первой подгруппы (S13, фX174 и др.) содержат одноцепочечную ДНК, а фаги второй подгруппы - f2, fr, MS2, R17, M12 - РНК.

К третьей группе относят фаги с четко выраженным хвостовым отростком небольшого размера. Эта группа обнаружена у бактерий, актиномицетов, хлореллы и др. организмов. По строению отростка их делят на две подгруппы. Представители первой фаги T3 и T7 имеют короткий конусообразный отросток без базальной пластинки. Ко второй подгруппе принадлежат фаги, которые имеют короткий отро-

сток с базальной пластинкой (фаг Р22 и др.), содержат ДНК.

К четвертой группе принадлежат булавовидные фаги с длинным несократимым отростком, напоминающим гофрированную трубку, (фаги Т1, Т5, А,-лямбда). Они содержат двухцепочечную ДНК.

Пятую группу составляют булавовидные ДНК-содержащие фаги с хорошо развитым сложным отростком. При сокращении наружного чехла отростка оголяется дистальный конец внутреннего стержня, который проникает через клеточную стенку бактерий. Представителями этой группы являются хорошо изученные фаг Т2 и другие Т-парные фаги.

Изучение химического состава бактериофагов показало, что он довольно простой. Все фаги являются нуклеопротеидами, т.е. состоят из белка и нуклеиновой кислоты.

Фаговые частицы имеют несколько белков, прежде всего структурных, которые составляют капсид головки и элементы отростков (чехол, стержень, базальную пластинку и нити). Головка булавовидных фагов имеет также внутренний белок (3-7 % общего содержания белка). Количество белка у разных фагов составляет 50-90 %. У фагов обнаружены ферменты лизоцим и фосфатаза. Белки выполняют различные функции: защищают нуклеиновую кислоту от повреждения и действия ферментов нуклеаза; участвуют в тесном контакте фага с бактериальной клеткой; обеспечивают процесс заражения.

Бактериофаги, как и прочие вирусы, имеют только один тип нуклеиновой кислоты - ДНК или РНК. Чаще всего это двухцепочечная ДНК, а также одноцепочечная ДНК и РНК. Нуклеиновая кислота плотно упакована в белковый капсид.

У некоторых фагов обнаружено небольшое количество липидов (2,5-10,5 %), преимущественно жирных кислот и фосфолипидов, а также следы углево-

дов. Роль этих компонентов недостаточно изучена. Некоторые ученые предполагают, что указанные компоненты имеют клеточное происхождение и фаговый геном не кодирует их синтез.

Бактериофаги, как и все белковые тела, имеют антигенные особенности. При многочисленном введении фагов кроликам или другим животным можно получить сыворотки, которые содержат специфические антитела к соответствующим фагам. Такие сыворотки называют антифаговыми. Антифаговые сыворотки строго специфичны, их используют при серологической классификации фагов.

9.2. Взаимодействие фагов с бактериями

Репродукция бактериофага в клетке бактерий - процесс очень сложный. Его последовательные этапы, от заражения бактерий до освобождения зрелых инфекционных частиц, хорошо изучены с биохимической, генетической и морфологической сторон на примере Т - четных фагов.

В настоящее время различают два типа взаимодействия фага с бактериальными*клетками: литический цикл и лизогенный. Первый заканчивается лизисом пораженной клетки, приводит к ее гибели и размножению фагов. Второй не затрагивает пораженной клетки, а делает ее своеобразным носителем фага.

9.2.1. Литический цикл

Его часто называют продуктивной инфекцией. При литическом взаимодействии фага с бактериями различают четыре этапа: 1-адсорбция фагов на поверхности бактериальных клеток; 2-проникновение активного содержимого (нуклеиновой кислоты) в бактериальную клетку; 3 - латентный период внутриклеточного развития фага; 4- разрушение (лизис) клетки и выход из нее новообразованных Фагов. При смешивании взвеси свободных фаговых

частиц со взвесью бактериальных клеток фаги в результате случайных столкновений с клетками прикрепляются к поверхности последних адсорбция. Фаги, которые имеют отростки, адсорбируются на поверхности фагочувствительных бактерий дистальным концом этих отростков, а базальная пластинка с шипами и нитями обеспечивает тесный контакт. Фаги могут адсорбироваться к разным участкам клетки, жгутиков, ворсинок или других выростов. Адсорбция фагов на клетках - специфическая реакция. Она обуславливается образованием тесного контакта между специальным рецепторным аппаратом фага и специфичными рецепторами клетки.

После адсорбции фаговой частицы на поверхности бактерий с помощью фермента типа лизоцима, который содержится в нижней части отростка, происходит растворение клеточной стенки, и в небольшое отверстие конец отростка вводит нуклеиновую кислоту головки фага в бактериальную клетку. Белковая оболочка фага остается на поверхности клетки, не принимая участия в размножении бактериофага. Следует отметить, что в настоящее время полностью не изучен механизм проникновения в клетку нуклеиновой кислоты фагов, которые не имеют отростков или они не сокращаются.

Проникновением нуклеиновой кислоты в бактериальную клетку заканчивается второй этап размножения бактериофагов.

С момента проникновения генома фага в бактерию начинается третий этап взаимодействия бактериофага с клеткой - латентный (скрытый) период внутриклеточного размножения фага. Его продолжительность у разных фагов от 15-40 минут до 5 и более часов. Во время этого этапа нуклеиновая кислота фага, благодаря закодированной в ней информации, приводит к перестройке внутренних процессов в бактериальной клетке, полностью направляя их на образование новых частиц фага. Фаг, который присутствует в таком виде в клетке, принято называть вегетативным.

В начале третьего этапа, в так называемой эклир-фазе, обнаружить в зараженной клетке вегетативный фаг не удастся. Однако, именно в это время под его влиянием осуществляется угнетение функций синтеза ряда клеточных ферментов. Одновременно индуцируется образование новых фаговых ферментов, или так называемых «ранних» белков, которые катализируют процессы репликации фаговой ДНК за счет компонентов нуклеиновых кислот самой бактериальной клетки. Нити нуклеиновой кислоты фага, которые образовались на протяжении нескольких минут, сохраняются в клетке в виде рыхлых клубочков, не превышающих размеров головки фага.

Позже в клетке начинается синтез «поздних» белков, которые представляют собой ничто иное, как структурные белки фагов. В результате агрегации этих белков происходит построение отдельных элементов потомства фагов: головок, отростков, базальных пластинок и т.д. После образования всех компонентов фага протекает сборка взрослых фагов соответствующей формы. В зависимости от видов фага, состояния бактерии и других факторов в одной клетке может образоваться от нескольких десятков до нескольких сотен фаговых частиц. Поскольку в результате активной деятельности вегетативного фага зараженной бактерии появляется большое количество новых фагов, обычно говорят о размножении, хотя фактически при этом происходит не размножение, а р е п р о д у к ц и я фага силами и средствами бактериальной клетки на основе генетической информации, заданной нуклеиновой кислотой родительского фага. Именно в этом проявляется своеобразная форма паразитизма фагов на молекулярном уровне.

Внутриклеточное развитие фагов, которые содержат разные типы нуклеиновой кислоты, отличается по типу репликации. Так, одноцепочечные ДНК и РНК в начале должны превратиться в двухцепочечные репликативные формы, а затем осуществляется накопле-

ние в клетке новых молекул соответствующей фаговой нуклеиновой кислоты.

Одновременно с формированием зрелых фагов в бактериальной клетке образуются литические ферменты - фаговый лизоцин. Этот фермент воздействует на пептидогликановый слой стенки бактериальной клетки, гидролизуя связи между остатками сахара. В результате стенка постепенно становится все менее прочной и наконец разрывается под действием внутриклеточного осмотического давления, а фаговое потомство выходит вместе с остальным содержимым клетки в окружающую среду (рис. 9.3). Лизис клеточной стенки и выход нового потомства - четвертый этап взаимодействия бактериофага с бактериальной клеткой по лити

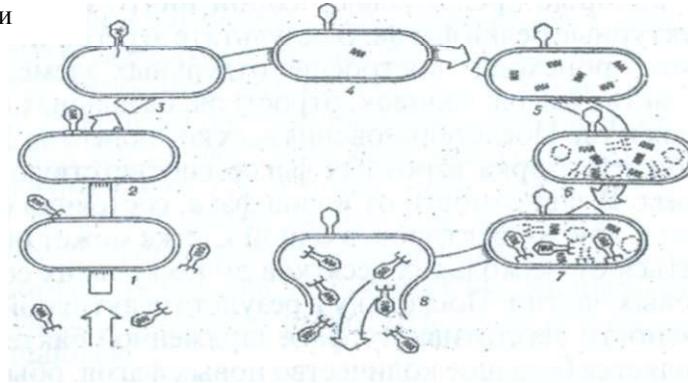


Рис. 9.3. Схема цикла размножения бактериофага T2:1-фаги окружили бактерию; 2-фаг прикрепляется к клетке; 3-в клетку впрыскивается фаговая ДНК; 4-капсид фага остается снаружи бактерии; 5-синтезируются новые молекулы ДНК; 6-образуются белковые оболочки фагов; 7-происходит сборка новых фагов; 8-бактерия разрушается (лизис) и фаги выходят наружу.

Литический, или продуктивный, цикл развития характерен для вирулентных фагов, которые являются настоящими паразитами бактерий. Однако, в природе есть и иной распространенный тип, так называемых умеренных фагов.

9.2.2. Развитие умеренных фагов: лизогения

При заражении умеренными фагами бактериальной клетки погибает только небольшая ее часть, а остальная нормально размножается и становится носителем умеренных или симбиотических фагов. Явление фагоносительства бактериями получило название лизогении, а сами бактерии определяются как лизогенные.

Лизогения широко распространена среди всех систематических групп микробов. Она изучена у возбудителей брюшного тифа и паратифа, дифтерийной палочки; выяснена среди стрептококков, спорозоносных бактерий, а также среди актиномицетов, дрожжей, пенициллов и других.

Лизогенные бактерии обладают способностью продуцировать фаги, но эту способность нельзя обнаружить ни морфологическим, ни серологическим исследованием. Фаг в таком неинфекционном состоянии, передающийся только дочерним клеткам при их делении, называют профагом. Наличие в бактериальной клетке профага наследуется. Считается, что все потомство лизогенной клетки тоже лизогенно, профаг, очевидно, должен реплицироваться синхронно и регулярно вместе с хромосомой клетки-хозяина. Следовательно, в лизогенной клетке профаг ведет себя как нормальный ее компонент.

Важной особенностью лизогенных штаммов бактерий является их высокая устойчивость к фагам, которые в них содержатся. В связи с этим изучение умеренных фагов лизогенных культур возможно лишь тогда, когда имеется другой штамм этого вида, но чувствительный к умеренному фагу данной лизогенной культуры. Такие культуры называются индикаторными.

Лизогения - устойчивый признак бактериального штамма. Потеря профага происходит лишь у очень небольшой части популяции лизогенных клеток. Основ-

ная же часть приобретает ряд новых признаков, определяемых присутствием профага, в том числе иммунитет к повторному заражению. Иммунность определяется наличием в лизогенной клетке белка-репрессора, синтезируемого под контролем ДНК профага в цитоплазме клетки. Если молекулы репрессора накапливаются достаточно быстро, то успевают выключить репликацию вируса и клетка остается лизогенной. Если же зрелые вирионы и лизоцим успевают образоваться до того, как проявится действие репрессора, то клетка лизируется. Репрессор препятствует переходу профага в вегетативное состояние и подавляет синтез фаговых белков.

Профаг лизогенной культуры может спонтанно или при индукции перейти в зрелый фаг, что бывает крайне редко (одна клетка на миллион). Спонтанный переход профага в инфекционное, литическое состояние, приводит к лизису клетки. Однако, целый ряд факторов, в частности ультрафиолетовые лучи, могут индуцировать в каждой клетке развитие профага, ведущее к образованию и высвобождению инфекционного фага. Успех такой индукции зависит от генетической структуры гена, физиологического состояния хозяина и среды. Индукция связана с устранением или инактивацией молекул репрессора. Итак, переход профага в вегетативный фаг под воздействием ряда физических и химических агентов, или спонтанно, назван индукцией, а внешние факторы, вызывающие ее, -индуцирующими агентами.

В ряде случаев под влиянием различных факторов у профага возникают мутации, в результате которых он при индукции не способен превращаться в полноценный вегетативный фаг. В этом случае образуются дефектные фаги, которые состоят из головки или только из одного отростка. Такие фаги могут адсорбироваться на бактериях, но не могут размножаться в них. Дефектная лизогения также широко распространена в природе.

9.3. Практическое использование бактериофагов

В последние годы получено много интересных данных не только в изучении лизогении и продуктивности фагов, но и в выявлении их роли как генетического фактора. Изменения, которые вызывают умеренные фаги, получили название лизогенных конвенсий. Кроме того, много исследований в современной генетике и молекулярной биологии основывается на учении о наследственности и изменчивости бактериофагов, поскольку бактериофагам присуще явление трансдукции.

В 20-30-е годы многие фаги применяли в качестве лечебных препаратов. Впервые разные фаги использовали Д. Эрелль и другие исследователи при кишечных инфекциях у человека. Применяли фаги также в хирургической и акушерской практике при инфекционных процессах, которые вызываются стафилококками, анаэробными кростридиями, и даже в офтальмологии и стоматологии. Однако, имелись также данные, отрицающие лечебный эффект при использовании фагов. Широкое применение сульфамидных препаратов и антибиотиков значительно уменьшило интерес к вопросу фагопрофилактики и фаготерапии бактериальных инфекций. И все же и в настоящее время выпускаются препараты фагов для профилактики и лечения дизентерии, брюшного тифа и некоторых других заболеваний. Фагопрофилактика и фаготерапия применяются в лечении животных. При паратифе телят используют гертнерфаг, поросят - суйпестиферфаг, при колибактериозах - колифаг.

Специальные методы диагностики инфекционных заболеваний человека, животных и растений с использованием бактериофагов, фагоидентификации бактерий нашли широкое применение на практике.

Бактериофаги сальмонеллы, кишечной палочки и других бактерий могут находиться в воде рек и водоемов, колодцев и особенно в загрязненных сточных водах. Содержатся они и в почвах. Выявление фагов

в воде и почве может служить показателем загрязнения этих природных сред соответствующими бактериями. Например, обнаружение колифага - это показатель фекального загрязнения воды.

Для выделения бактериофага из воды достаточно профильтровать ее через бактериальный фильтр Беркефельда, Шамберлана или через фильтр Зейтца. Проверяют наличие бактериофага в фильтрате с помощью бактериальной культуры. Для этого в пробирки с питательной средой вносят 1 мл фильтрата и одну каплю однодневной культуры испытуемого микроба. Контролем служит пробирка без фильтрата. Пробирки хранят при температуре, благоприятной для данного микроба. Через 6-8 час и 18-24 час подводят результаты. Если среда с фильтратом и микробом остается прозрачной, а в контроле мутной, то это является доказательством наличия фага.

Аналогичным образом выделяют фаги из почвы. Фаги против фитопатогенных бактерий выделяются из остатка пораженных растений. О наличии фага в том или ином субстрате узнают по лизису чувствительной к нему микробной культуры (тест-культуре).

В некоторых случаях приходится сталкиваться с отрицательной ролью бактериофагии. Фаги могут приносить большой вред при получении антибиотиков, бактериальных удобрений, молочных продуктов. В почве клубеньковые бактерии, азотобактерии и другие свободноживущие азотфиксаторы могут заражаться фагами, что приводит к задержке их развития, а это ухудшает процесс фиксации молекулярного азота, а значит негативно влияет на урожай.

В производстве кисломолочных продуктов, ГДВ брожение ведут молочнокислые стрептококки, основным пороком является несквашивание молока. Причина тому - появление на производстве фагов молочнокислых стрептококков, в результате происходит лизис бактерий. Это может быть лизогения и гибель бактерий по литическому циклу.

В заключение еще раз следует отметить, что **бактериофаги** – классический объект молекулярной биологии: их изучение привело к пониманию тонкой структуры гена, молекулярного механизма мутаций, расшифровке генетического кода.

10. ВИРУСЫ РАСТЕНИЙ

В настоящее время в литературе описано около 300 **вирусных** заболеваний растений. Среди возбудителей этих болезней хорошо изучено свыше 150 вирусов. Длительное время считалось, что они строго **специфичны**, приурочены к одному растению. Сейчас уже **известно**, что специфичность их условна. Например, ВТМ поражает не только табак и другие пасленовые, но и человека, а вирус гепатита человека – лебеду. Эти **факты** свидетельствуют об отсутствии резкой грани между вирусами растений и животных в отношении их специфичности. Полученные данные имеют большое теоретическое значение прежде всего для познания особенностей и природы вирусов.

10.1. Основные биологические свойства фитопатогенных вирусов

Вирусные болезни растений называют – **вирозами**. Для большинства **вирозов** характерно системное поражение хозяев, т.е. вирус перемещается по всем тканям растения. Многие вирусы не передаются вертикально. Перемещение вирусов из клетки в клетку **происходит** по плазмодесмам. Проникнув в клетку, нуклеиновая кислота нарушает нормальный ход обмена веществ, тормозит химические процессы, характерные для здоровых клеток. Наиболее тяжелым **результатом** вирусной инфекции является гибель клеток, **тканей** всего организма (некротизация тканей и орга-

^{0e} У фитовирусов широко распространено латентное (бессимптомное) состояние. Продолжительность

латентного периода разных вирусов сильно варьируется в зависимости от факторов окружающей среды в частности от температуры, при которой выращиваются растения. В этом случае иногда происходит «маскировка» признаков вирусного заболевания. Например, в жаркие летние месяцы до 50 % сахарной свеклы в посевах содержит вирус мозаики, не проявляя внешних признаков.

Эти возбудители, как правило, находятся в живых тканях и клетках растений. Некоторые же из них сохраняют свою инфекционность в выжатом соке растений много дней, а то и месяцев, другие всего несколько минут. Есть вирусы, отличающиеся большой стойкостью. В высушенных частях растений они сохраняют инфекционность в течение нескольких месяцев и даже лет. Известно, например, что ВТМ сохраняет свою инфекционность в высушенных листьях около 30 лет, а по некоторым данным даже 50 лет.

Многим вирусам свойственно явление уравниваемости. Так, ткани цветка тюльпана одновременно могут быть заражены двумя различными вирусами мозаики, которым присущи противоположные действия. Вирус мозаики 1 уничтожает окраску лепестков, а вирус мозаики 2 усиливает интенсивность окраски. Следовательно, пестролепестность является примером заболевания двух вирусов, которые существуют в растении в уравновешенном состоянии. В том случае, когда в растении преобладает только один вирус, оно погибает. Сахарная свекла одновременно может заражаться вирусами мозаики, желтухи и курчавости листьев. Картофель - вирусами X, Y и вирусом закручивания листьев. Все эти вирусы у сахарной свеклы и картофеля находятся в уравновешенном состоянии. Любой сдвиг и преобладание одного из вирусов вызывает специфичное данному вирусу заболевание.

Распространение фитовирусов в природе осуществляется несколькими способами: механической передачей с соком больных растений, с растительными остатками, в которых они сохраняют свою активность; че-

рез почву с вегетативными частями, органами и пыльцой вирусных растений; с семенами; с насекомыми, клещами, нематодами и грибными организмами. О механизме распространения и передаче вирусов сказано выше.

10.2. Симптомы вирусных болезней

Вирусные болезни растений по вызываемым симптомам можно разделить на две группы: мозаики и желтухи.

Мозаики характеризуются мозаичной окраской. При заражении вирусами наблюдается посветвление листьев, чередование светло- и темно-зеленых, желтых и зеленых участков листа, появление некротических пятен, штрихов, колец и др. Такие симптомы возникают в результате разрушения хлорофилла в пораженных участках листа. Мозаичная расцветка при некоторых болезнях бывает на лепестках цветков. При мозаике томатов и огурцов мозаичная расцветка заметна на зрелых плодах (рис. 10.1).

Желтухи не всегда вызывают пожелтение листьев. Для этого типа характерен общий хлороз. Обеднение листьев хлорофиллом происходит более или менее равномерно. Листья приобретают светло-зеленый или желтоватый тон. В результате чрезмерного накопления в них крахмала они становятся более жесткими и хрупкими. Например, при желтухе сахарной свеклы листья при сжатии не мнутся, а ломаются с характерным хрустящим звуком. То же наблюдается и с листьями картофеля, пораженного вирусом скручивания.

В зависимости от вида растения реакция их на один и тот же вирус может быть различной. При этом очень характерно нарушение обмена веществ, в том числе Ростовых веществ (ауксинов). Такие нарушения приводят к карликовости, чрезмерной кустистости, Раковым наростам, изменениям формы листа и др. Вирусы поражают в первую очередь наиболее молодые, развивающиеся органы растений.

Рис. 10.1. Симптомы вирусных мозаик:

1 - мозаика огурца;

2 - кольцевая пятнистость махорки;

3 - морщинистая мозаика картофеля.

Изменения тканей и органов растений, пораженных вирусной инфекцией, можно систематизировать в виде следующих явлений.

Некротические пятна - симптомы болезни, появляющиеся на листьях через несколько дней после заражения, характерны для целого ряда вирусов. Например, вируса мозаики табака, X-вируса картофеля и других.

Прояснение жилок листа-исчезновение зеленой окраски вдоль сосудов. Наблюдается при мозаике гороха, поражении У-вирусом картофеля сеянцев табака, при мозаике салата и цветной капусты.

Мозаика листьев - наиболее частое и распространенное проявление вирусных болезней, от едва различимых до четко очерченных пятен белого и желтого цвета, являющихся результатом торможения в развитии пластидов.

Кольцевая пятнистость - проявление правильных концентрических колец с пятном в центре. В ряде случаев вокруг такого некротического пятна их образуется несколько, например, при кольцевой пятнистости капусты, табака, малины и др. Проявление довольно часто на листьях.

Хлороз - желтуха, желтоватая окраска многих участков или всего листа без видимой мозаики. Например, при заболевании, вызываемом вирусом 4 сахарной свеклы, вирусом S картофеля.

Изменения морфологии листьев - задержка роста, изменение размера и формы (скручивание) листьев. Этот симптом обнаруживается обычно одновременно с явлениями мозаики и некроза. В результате несоответственного роста жилок и других тканей листьев возникают такие деформации, как морщинистость листа, характерная для морщинистой мозаики картофеля и других растений. При скручивании листьев хлопчатника, картофеля края листьев свертываются внутрь или подворачиваются кверху.

Задержка роста и изменения морфологии происходят в результате снижения ауксинов, количества хлоропластов в листьях и гибели отдельных клеток и тканей.

Опухоли (туморы) - появление на корнях и стеблях восприимчивых растений объемистых образований, вызывают которые вирусы раневых опухолей. На корнях опухоли возникают в местах прорыва поверхностных тканей боковыми корешками. В опухолях обнаруживаются элементы проводящей системы, которые расположены беспорядочно.

Изменения окраски цветов наблюдаются у тюльпана, флокса, петунии, анютиных глазок и других декоративных растений.

10.3. Диагностика вирусных болезней

Как указывалось, характерный признак многих вирусных болезней - мозаичная расцветка или пожелте-

ние листьев, сопровождаемые их изменениями. Поэтому для распознавания вирусных болезней прежде всего применяется визуальная диагностика, или диагностика по внешним симптомам.

Мозаика сопровождается иногда нитевидностью или другими деформациями листьев, кольцевой пятнистостью, некрозом (отмиранием тканей листьев стеблей, плодов).

Симптомы типа желтух - измельчение листьев, деформация листьев, цветов.

В ряде случаев симптомы вирусных болезней трудно отличить от болезней, вызываемых другими причинами и возбудителями. Поэтому визуальная диагностика лишь вспомогательный прием при установлении причины болезни.

Метод растений-индикаторов. Индикатором называют растение, дающее четкую специфическую реакцию на данный вирус. Например, при заражении табака ВТМ через 2-3 дня на листьях можно обнаружить некротические пятна, которые возникают только в результате инокуляции ВТМ. Восприимчивыми растениями огуречного вируса 1 являются огурец, табак, перец, дыня, люпин, люцерна, а симптомы на них - мозаика, нитевидность листьев. Местные некрозы появляются на 3-5-й день после заражения. Это метод установления инфекционности вируса.

Метод включений заключается в том, что в пораженных клетках обнаруживаются кристаллические или аморфные образования. Известно около 40 вирусных болезней, имеющих такие включения. Обнаружить их можно в обычном оптическом микроскопе при просмотре волосков или эпидермиса в пораженных листьях или плодах.

Серологический метод основан на свойствах белка, входящего в состав вируса, давать определенные реакции с соответствующими сыворотками. Такие сыворотки сохраняют в стерильных ампулах или в сухом виде. Они легко транспортируются,

просты и доступны в производстве и применении. Производятся во многих странах.

Как указывалось, реакцию ставят капельным методом.

Метод электронной микроскопии позволяет диагностировать любые вирусы с большой точностью и надежностью. Частицы разных вирусов отличаются по форме, строению и размерам.

Химический метод диагностики разработан для немногих вирусов: картофеля, огурцов, некоторых плодовых культур. Так, для анализа на огуречный вирус 2 берут небольшую массу семенника, растирают и отжимают сок, кипятят его в течение одной минуты и отфильтровывают. К фильтрату добавляют 3 %-ный медный купорос. Сок из больных плодов через несколько минут становится желтовато-зеленым или голубым. Сок из здоровых будет зеленым. Метод применим для семеноводства этой культуры, с целью получения здоровых семян.

Имеются и другие методы диагностики.

Все способы диагностики - это диагностика вирусных болезней и диагностика вирусов. К первой группе, т.е. диагностике болезней, относят изменения внешнего вида растений. Это самый быстрый, но неточный метод, поэтому является предварительным. Более точные методы, основанные на внутренних изменениях пораженных растений и их органов, а также на изменениях в обмене веществ.

Методы диагностики вирусов, наиболее часто применяемые - серологический, индикаторных растений^и и электронно-микроскопический.

10.4. Наиболее распространенные вирусные болезни растений

Изучению вирусных болезней растений и мер борьбы с ними уделяется большое внимание. Эти болезни ежегодно приносят значительный ущерб урожаю. В отдельные годы наблюдаются массовые их эпифитотии. первую очередь зерновых культур.

Вирусные болезни злаковых культур. В настоящее время описано 10 возбудителей вирусных болезней злаков. Однако, описание разновидностей таких болезней, распространенных в разных климатических зонах, дает возможность допустить, что их значительно больше. Особенностью большинства вирусов зерновых культур является то, что их развитие на растениях связано с переносчиками.

В Кыргызстане распространены мозаика озимой пшеницы и полосатая мозаика пшеницы.

Мозаика озимой пшеницы поражает пшеницу, ячмень, овес, просо. Возбудитель - пшеничный вирус 8 (ВМОП 8). Вирус имеет вид толстых, коротких палочек с округленными концами. Размеры 260x60 нм. На листьях появляются мозаичность и светло-зеленые или желтые пятна и полосы, которые к концу вегетации становятся хлоротичными. Больные растения низкорослые, сильно кустятся, часто не выколашиваются и погибают.

Передача вируса биологическая. Заболевание распространяется полосатой или шеститочечной цикадками, которые передают инфекцию через 15-60 дней, в течение которых вирус проходит инкубационный период в теле переносчика.

Зимует вирус в посевах озимых и падалице, а также в переносчиках.

Полосатая мозаика пшеницы (ВПМП). Вирус нитевидный, длиной около 700 нм, диаметром 12-15 нм. Поражает озимую пшеницу, ячмень, овес, кукурузу, сорго, рис, просо, однолетние и многолетние злаковые травы.

На листьях появляются мелкие хлоротичные полосы, штрихи и пятна, которые постепенно сливаются и образуют яркие широкие желтые полосы. Колос полностью или частично стерилен.

Передача инфекции осуществляется механически (с соком больных растений) и клещами, которые становятся вироморфными при питании на больных расте-

ниях в течение 2-30 минут. Инкубационный период вируса в растении длится 8-11 дней. Пораженные растения отстают в росте, образуют меньше продуктивных стеблей.

Вирус и его переносчик сохраняются в посевах озимых, падалице, сорняках. Вирус не сохраняется в семенах, почве и растительных остатках.

Вирусные болезни свеклы. На посевах фабричной и семенной свеклы в Кыргызстане имеют широкое распространение мозаика, желтуха и мочковатость корнеплодов.

Мозаика свеклы. Возбудитель болезни вирус мозаики свеклы 2 (ВМС 2) имеет широкую филогенетическую специализацию и, кроме свеклы, поражает лебеду, щирицу, марь белую и другие растения. Вирус нитевидной формы, размером 733x15 нм.

У больных растений свеклы на темно-зеленом фоне листьев верхнего яруса появляется большое число мелких, светлоокрашенных пятен, различных по форме. Поверхность участка листа, на котором расположены пятна, слегка морщинистая. На листьях среднего и нижнего ярусов на более темном фоне развивается светло-зеленая крапчатость.

В течение вегетации вирус распространяется черной свекловичной и зеленой персиковой тлями. Переносчиками могут быть также свекловичный клоп и Цикадки. Передача механическая. Возбудитель зимует в безвысадочных семенниках и сорных растениях.

Желтуха свеклы. Возбудитель болезни вирус свеклы 4 (ВЖСС4). Вирус нитевидной формы. Размером 1250x10 нм.

Характерные симптомы заболевания наиболее четко обнаруживаются на листьях нижнего яруса, а при дальнейшем проявлении - и среднего. На них появляются желтоватые, иногда желтовато-оранжевые пятна. Прогноз начинается с верхней части листа и распространяется к его основанию, при этом весь лист становится желтым, за исключением ткани вдоль главных

жилок, которая остается зеленой. Пластинка становится волнистой и как бы гофрированной, и на ней образуются углубления в результате неравномерного роста тканей. Листья становятся хрупкими, легко ломающимися.

Заболевание снижает урожай корней на 25-65 % а сахаристость на 1,5-2,7 %. Возбудитель распространяется в период вегетации различными видами тлей, а сохраняется в семенниках, корнеплодах маточной свеклы и многолетних сорняках.

Мочковатость корнеплодов свеклы¹ (ризомания). В последнее десятилетие распространение этой болезни наблюдалось во всех семеноводческих хозяйствах Чуйской долины. Возбудитель-вирус некротического поражения жилок свеклы (ВНПЖС).

Зараженные растения отстают в росте, листовые пластинки утончаются и сморщиваются, на листьях между жилками появляются нерезкие желтоватые или хлоротичные пятна. В нижней части корнеплода образуются многочисленные корешки. Они ветвятся, переплетаются и образуют большие мочки или «бороды». Болезнь иногда называют «бородатость свеклы» (рис. 10.2). На поперечных срезах больных боковых корней или около кончика главного корня наблюдается желтовато-коричневая окраска колец сосудисто-волокнистых пучков.

Основным источником и переносчиком вируса (ВНПЖС) возбудителя ризомании является почвенный гриб (*Polymyxa betae*). Резерваторм этого гриба служат сорные растения, комочки почвы, содержащие цитовирусы. Последние могут переноситься водой, растительными остатками, сельскохозяйственными орудиями и машинами.

Заболевание слабо изучено.

Вирусные болезни картофеля, имеющие распространение в Кыргызстане: морщинистая мозаика, крапчатая мозаика, полосчатая мозаика, скручивание листьев.

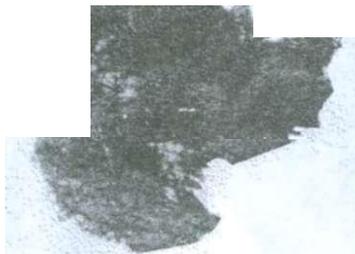


Рис. 10.2. Мочковатость корнеплодов сахарной свеклы.

Морщинистая мозаика. Возбудитель У-вирус картофеля (У-ВК) в комбинации с вирусами Х, S, М, А. Заболевание вызывает деформацию ткани между жилками, поверхность листьев становится морщинистой, а края загибаются вниз. Растения отстают в росте и развитии и дают лишь 30-70 % урожая. Возбудитель распространяется различными видами тлей, а также контактно (рис. 10.3).

Инфекция сохраняется в клубнях.

Крапчатая или обыкновенная мозаика. Возбудитель Х-вирус картофеля (Х-ВК). Заболевание проявляется на листьях, начиная с верхнего "руса, в виде светло-зеленой крапчатости, которая затем переходит в мозаику. Пораженные листья иногда формируются. Урожай снижается на 20-25 %. Возбудитель передается при соприкосновении больных и здоровых ростков, листьев, стеблей, корней, т.е. кон-

тактным путем. Вирус X нитевидный, размером 520x11 нм. В пораженных мозаикой клетках образуются внутриклеточные включения типа X-тела, диаметр которых 6-50 нм. Локализуются X-тела в большом количестве в клетках палисадной и губчатой паренхиме.

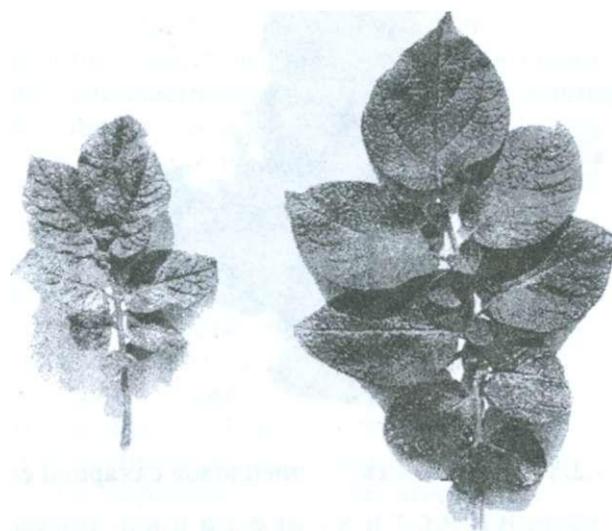


Рис. 10.3. Морщинистая мозаика листьев картофеля (сорт Берлихинген). Справа здоровый лист (ориг.).

Источники инфекции - клубни больных растений, сорные растения, а также культивируемые растения (табак, томат и др.).

Полосчатая мозаика. Возбудители У-вирусы вирус 20. Заболевание характеризуется почернением жилок листа и появлением темных штрихов и пятен в уголках между жилками, на черешках и стеблях. Сначала поражаются нижние и средние листья, а затем и верхние. Пораженные листья ломкие, мельче обычных и на нижних ярусах бурют и засыхают. Нередко на одном растении встречаются признаки и морщинистой, и полосчатой мозаики. Урожай снижается на 30-70 %.

Возбудитель распространяется тлями и контактным путем. Инфекция сохраняется в клубнях.

Скручивание листьев. Возбудитель - L-вирус картофеля (L-ВК). Его вирионы имеют сферическую форму диаметром 24 нм. На пораженных растениях листья становятся огрубевшими, хрупкими; они скручиваются вверх вдоль средней жилки (рис. 10.4). Симптом скручивания отмечается не только на листьях верхних ярусов, но и нижних. Клубни, собранные с больных растений, обычно более мелкие и нередко имеют внутренние некрозы. Они прорастают тонкими, нитевидными ростками.

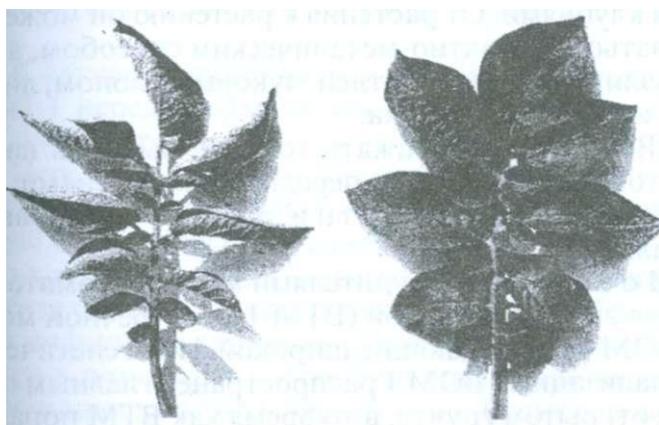


Рис. 10.4. Скручивание листьев картофеля (сорт Шемрок Киргизский). Справа здоровый лист (ориг.).

Переносчики вируса-тли различных видов. Вирус относится к числу персистентных, циркулирующих в переносчике, соком вирус не передается. Переносчиком могут быть полевые клопы.

Инфекция сохраняется в клубнях и сорняках, где сосредоточены переносчики.

Веретеновидность клубней (готика)
Возбудитель болезни - вириод (ВВКК), состоящий только из РНК. Симптомы заболевания проявляются на листьях, стеблях и клубнях. Листья мелкие, узкие отходят от стебля под острым углом. Края и жилки молодых верхушечных листьев имеют антоциановое окрашивание. Растения отстают в росте, плохо кустятся. Клубни больных кустов принимают характерную веретеновидную или грушевидную форму, часто растрескиваются. У места прикрепления к стolonу клубень сужен и вытянут. У красноокрашенных сортов наблюдается потеря характерной для сорта окраски кожуры.

Сохраняется и распространяется вириод с семенными клубнями. От растения к растению он может передаваться контактно-механическим способом, а также различными видами тлей, луковым клопом, личинками колорадского жука.

ВВКК может поражать томаты, вызывая на них симптомы курчавости, и передаваться семенами.

Вирусные болезни томатов, характерные для республики.

Мозаика. Возбудителями мозаики томатов являются вирусы табачной (ВТМ 1) и огуречной мозаики (ВОМ 1), обладающие широкой филогенетической специализацией. ВОМ 1 распространен главным образом в открытом грунте, в то время как ВТМ поражает растения и в открытом грунте, и в теплицах.

Проявляется заболевание как обычно и типично для всех мозаик: чередование светло-зеленых и темно-зеленых участков, особенно на молодых верхушечных листьях. Мозаика томата сопровождается пузыревидными вздутиями и деформацией листовой пластинки, может проявляться нитевидность и папоротниковидность листьев.

Инфекция передается контактным путем и легко распространяется с соком больного растения при пикировке, посадке рассады и других мероприятиях. Возбудитель сохраняется в растительных остатках, почве и семенах. Семенная инфекция - поверхностная. Д⁰,

полнительными источниками инфекции могут быть использованный материал (подвязочный), инструмент, рабочая одежда. ВТМ относится к группе стойких вирусов и длительное время сохраняет свои инфекционные свойства вне растения.

С т р и к, или ш т р и х о в а т о с т ь. Возбудитель ВТМ 1 в комплексе с вирусами Х и У картофеля, а также с вирусом огуречной мозаики (ВОМ 1).

Характерные признаки стрика - образование красно-коричневых пятен на листьях, стеблях и плодах. Пораженные листья становятся хрупкими и засыхают. Больные плоды приостанавливаются в росте, на них появляются бурые продолговатые пятна, пораженные участки вдавлены. Плоды не пригодны к употреблению.

В случае поражения томатов ВТМ в комплексе с ВОМ 1 нередко отмечается полная гибель растений (сложный стрик).

Передача инфекции осуществляется механическим путем при уходе за растениями. Возбудитель чрезвычайно быстро распространяется от растения к растению в процессе ухода за томатами. Он сохраняется в растительных остатках, почве, на семенах. Первичный очаг инфекции - единичные больные растения, появившиеся в результате сохранения инфекции на оболочке, или иногда в эндосперме семян. Возможна передача инфекции тлями с картофеля.

Д р у г и е в и р у с н ы е б о л е з н и. М о з а и к а т а б а к а. Возбудитель мозаики табака ВТМ первый из впервые открытых и хорошо изученных вирусов. Он имеет палочковидную форму 300х15 нм. Свойства вируса изучены исключительно хорошо в сравнении со многими другими, и соответствующие данные приводились в предыдущих главах. Вирус в клетках пораженных растений образует включения двух видов: кристаллические структуры и аморфные Х-тела. ВТМ характеризуется незначительной специализацией. Он поражает около 230 видов растений. Растения-индикаторы: дикий табак, фасоль, дурман, лебеда.

Симптомы мозаики зависят от штамма вирусов. При обыкновенной мозаике на листьях появляется пестрая окраска, вызванная чередованием светло- и темно-зеленых пятен, поверхность листьев становится деформированной, бугристой. Некоторые штаммы образуют на листьях некротические узоры, пятна, кольца, иногда происходит полное усыхание листьев.

Вирус распространяется от растения к растению контактным путем в процессе ухода за ними. Источником инфекции могут быть: загрязненная тара и инвентарь, почва и больные растения, в том числе и сорняки, и даже руки курильщиков. В сигаретах и табаке он сохраняет инфекционность на протяжении нескольких лет.

Пестролепестность тюльпанов. Возбудитель вирус тюльпана (ВТ) нитевидной формы. ВТ слабо изучен. Болезнь известна во многих странах. Типичный симптом поражения - изменение окраски лепестков цветка, когда на фоне основной окраски появляются штрихи, полосы (рис. 10.5). Кроме того, часто отмечаются признаки поражения листьев - крапчатость, штриховатость. Больные растения отстают в росте, зацветают в более поздние сроки. Инфекция распространяется посредством тлей, сохраняется в луковицах. Возможна также передача вируса инокуляцией сока.

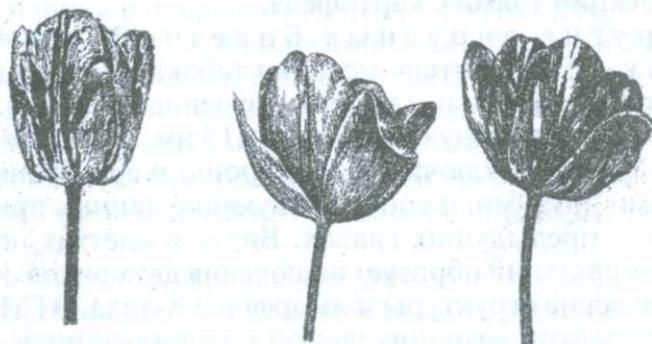


Рис. 10. 5. Пестролепестность тюльпана.

10.5. Физиология пораженных вирусами растений

Влияние вирусной инфекции на течение физиологических процессов в растении касается в первую очередь фотосинтеза и дыхания. Резко меняется водный режим больных растений, патологический процесс часто завершается увяданием и гибелью растения. Причинами могут быть поражения корневой системы или повышение транспирации.

При вирусных болезнях растений заметно изменяется углеводный обмен, что связано с уменьшением интенсивности фотосинтеза и оттоком синтеза углеводов. При мозаиках количество углеводов в листьях падает, при желтухах - увеличивается. Отношение углерода к азоту (C/N) также меняется и зависит от характера болезни. При мозаиках это отношение обычно меньше единицы, при желтухах - больше единицы.

Вирусы воздействуют на ферментативные процессы в клетке, подавляя одни системы ферментов и активируя другие. В тканях растений, в свою очередь, стимулируются защитные реакции, связанные с окислительными процессами, получившие название фитоалексины. В местах первичной инфекции часто образуются токсические вещества, убивающие зараженные клетки и блокирующие вирус, в результате предотвращается общее заболевание. Это защитная реакция характерна также для бактериальных и грибных заболеваний.

В настоящее время имеется ряд работ, посвященных влиянию инфекции на дыхание и фотосинтез. Можно привести много примеров резкого изменения газового обмена у растений, пораженных вирусами. Так, выделения углекислоты листьями малины, пораженной мозаикой, на 21-42 % превышают выделения ее здоровыми листьями.

Для большинства растений характерно, что уже на ранних этапах вирусной инфекции, еще до того как можно обнаружить симптомы заболевания, интенсивность дыхания в листьях заметно повышается, а в пе-

риод оптимального размножения вируса достигает максимума. У некоторых растений дыхание, если и изменяется, то незначительно. Все эти изменения, как видно, оказываются непостоянными и зависят от фазы болезни, возраста и физиологического состояния растения. Например, у молодых растений табака, зараженных вирусом огуречной мозаики, дыхание интенсивнее, чем у здоровых, тогда как у взрослых зараженных растений ИД ниже. При морщинистой мозаике картофеля уровень дыхания заметно повышается лишь при резком проявлении симптомов у молодых растений. С возрастом у больных листьев дыхание снижается.

В результате анатомических и цитологических изменений при вирусной инфекции растений наступает снижение интенсивности фотосинтеза. Чем сильнее проявляются симптомы заболевания, тем интенсивность фотосинтеза меньше. Например, в результате заражения вирусом скручивания листьев картофеля у сильно деформированных листьев снижается на 50-60 %, у слабо деформированных или не проявивших анатомических изменений, но зараженных, фотосинтез снижается на 20-15%.

При многих вирусных болезнях растений количество хлорофилла в хлоропластах снижается, с чем сопряжено проявление симптомов мозаики или общего пожелтения. У табака при мозаике содержание хлорофилла снижается на 20-50 %, в зависимости от патогенности штамма. У картофеля при скручивании в листьях содержание хлорофилла также резко снижается, до 36 %, а энергия фотосинтеза падает в среднем на 40 %. При крапчатой мозаике картофеля фотосинтез уменьшается на 20 %. Таковы данные многих авторов.

10.6. Методы оздоровления и борьбы с вирусными инфекциями

Выбор и применение разных методов борьбы с вирусными болезнями зависят прежде всего от типа

болезни и вида растений, на которых она распространена.

Общими приемами для борьбы с вирусными болезнями растений служат такие методы: 1) выведение и внедрение в производство устойчивых и иммунных против вирусов сортов растений; 2) уничтожение переносчиков; 3) ликвидация очагов распространения вирусов в природе путем агротехнических приемов и уничтожения сорной растительности; 4) использование для посевов здорового, безвирусного материала.

Оздоровление посадочного материала можно получить такими способами: термотерапией; проведением через культуру ткани растений; хемотерапией; сочетанием этих способов.

Метод термотерапии широко применяется для оздоровления от многих вирусов плодовых деревьев, ягодников, зерно-бобовых культур и картофеля. Существуют два способа термообработки. Первый - обработка растительного материала в период покоя (привои, клубни, семена, деревья). При этом происходит простое разрушение вируса. Температура нагревания 35-54° С, время обработки от нескольких минут до нескольких часов. Чем ниже температура, тем продолжительнее время обработки. Горячая вода меньше разрушает ткани в период покоя, чем активнорастущие. Второй способ, более широко используемый, - прогревание растущих растений. Прогревают горячим воздухом и реже горячей водой. Горячая вода часто убивает растение, поэтому не пригодна для клубней и луковиц. Вирусы, передаваемые тлями, с трудом подавляются термообработкой.

Метод культуры каллусной ткани применяется в тех случаях, когда все известные вирусологические приемы не эффективны.

В настоящее время получены безвирусные каллусы разных сортов картофеля. Оздоровлены растения Картофеля от X-вируса, табака от ВТМ. В настоящее время во многих странах широко распространен метод культуры апикальной меристемы. Выяснилось, что

даже в зараженном растении не все клетки содержат вирусную инфекцию. К их числу относятся самые молодые клетки так называемой апикальной меристемы. Они составляют самую верхнюю часть конуса нарастания стебля. Если с помощью специальных приспособлений отрезать частицу такой ткани (размером 0,2 - 0,5 мм), то в последующем из нее удастся вырастить растение, свободное от вирусной инфекции.

Этим методом получен свободный от вирусов маточный материал картофеля, земляники, гвоздики, ириса, гиацинта, орхидей.

Для оздоровления и лечения вирусных болезней применяются химические (хемотерапия) и биологические способы. К биологическим относят применение антибиотиков для оздоровления посадочного материала. Применение иманина и аринарина дало положительные результаты. Работы многих исследователей направлены на получение новых антибиотиков, способных угнетать развитие вирусов в растениях.

И. ВИРУСЫ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

К настоящему времени открыто свыше 500 болезнетворных вирусов, число которых продолжает нарастать за счет обнаружения все новых разновидностей. Вирусные болезни занимают основное место в инфекционной патологии человека и животных. Значение их возрастает в связи со снижением и ликвидацией бактериальных и других заболеваний. Предполагается, что свыше 75 % всех инфекционных болезней приходится на вирусные заболевания.

Вирусные инфекции часто приводят к возникновению эпидемий среди населения и эпизоотии среди животных. Достаточно вспомнить про эпидемии, вызываемые вирусом гриппа А. Вспышки их с интервалом 2-3 или 3-4 года регистрируются во многих странах мира. Наиболее опасными вирусными болезнями человека следует считать грипп, корь, полиомиелит, оспу, герпес, энцефалиты, гепатит; животных - ящуР»

чуму крупного рогатого скота, бешенство, клещевой энцефалит и другие (табл. 11.1).

В таблице представлен далеко неполный перечень болезнетворных вирусов человека и животных. Диапазон этих болезней довольно широк. Здесь и общие инфекции (грипп, корь, бешенство, свинка, оспа и др.), и местные поражения кожи и слизистых (герпес), и болезни отдельных органов и тканей, миокардиты, гепатиты, лейкозы), и злокачественные образования (рак, саркома). Считается, что при средней продолжительности жизни человека в 70 лет из них 7 лет он болеет вирусными болезнями.

Вирусы, вызывающие болезни человека и животных, относятся к разным семействам и родам, имеют различные морфологические структуры и отличительные размеры (рис. 11.1).

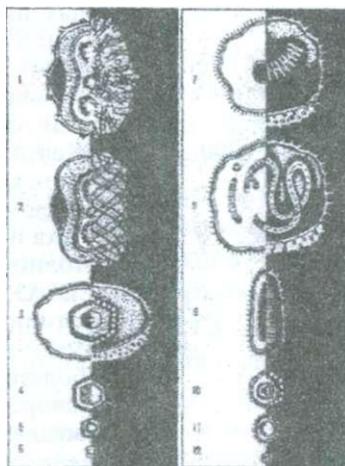


Рис. 11.1. Схематическое изображение строения основных вирусов, поражающих человека и животных. Слева представлены ДНК-содержащие вирусы: оспы (1), парвакцины (2), герпеса (3), аденовирус (4), паповавирус (5), Пикорнавирус (6), справа - РНК-содержащие вирусы: гриппа (7), парагриппа (8), везикулярного стоматита (9), реовирус (10), энцефалита (11), полиомиелита (12).

Таблица 1Ц

Некоторые болезнетворные вирусы
человека и животных

Название семейства и родов	Число предста- вителей	Вызываемые заболевания
Поксивирусы	Более 300	Все виды оспы человека и животных, стоматиты др.
Вирусы герпеса	30	Герпес, болезни глаз (кератиты, конъюнктивиты), болезни кожи и др.
Аденовирусы	55	Респираторные вирусы, опухоли животных
Реовирусы	16	Поражение верхних ды- хательных путей, диарея телят, геморрагическая болезнь оленей и др.
Парамиксовирусы		Корь, свинка, пораже- ние верхних дытель- ных путей и др.
Ортомиксовирусы		Грипп человека и животных, чума кур
Рабдовирусы		Бешенство, везикуляр- ный стоматит
Арбовирусы	300	Желтая лихорадка, японский клещевой энцефалит Денге, крас- нуха и др.
Пикорнавирусы		Полиомиелит, ящур, ЕСНО, коксаки, респи- раторные инфекции
Гепаднавирусы		Инфекционный гепатит (болезнь Боткина), сывороточный гепатит, "медленные вирусы"
Ретровирусы		Лейкозы.опухоли, СПИД и др.
Лейковирусы	60	Злокачественные ново- образования (рак, сар- кома), болезни крови (лейкозы человека и животных)
Аренавирусы		Лихорадка Ласса, мен- ингиты и др.

11.1. Висцеральные вирусы

В эту группу входят вирусы, относящиеся к внутренним органам, - возбудители кори, эпидемического паротита (свинки), эпидемического гепатита (болезни Боткина), сывороточного гепатита, инфекционного мононуклеоза, инфекционной анемии, желтой лихорадки, лихорадки долины Рифт, лихорадки Денге, лихорадки паппатачи, геморрагической лихорадки и др.

Остановимся на характеристике лишь некоторых представителей этой группы.

Корь. Вирус относится к парамиксовирусам. Размеры 70 - 140 нм. Коревой вирус чувствителен к внешним воздействиям; быстро погибает под воздействием ультрафиолетовых лучей, не устойчив к высушиванию. Вне организма, при комнатной температуре, остается жизнеспособным в течение нескольких минут - до 30.

Возбудитель кори содержит РНК, имеет внешнюю оболочку и спиральный тип симметрии.

К коревому вирусу восприимчивы обезьяны, шенки, мыши, морские свинки. Источником инфекции является только больной человек, особенно в первые дни болезни. Заражение осуществляется воздушно-капельным путем при соприкосновении с больным.

Инкубационный период 8 -10 дней. Болезнь сопровождается кашлем, насморком, светобоязнью. На слизистой оболочке щек через 3 - 4 дня появляются характерные для кори беловатые пятна Филатова-Коплика, исчезающие через два дня. Температура высокая. На 2-й день сыпь простирается на туловище. Пятна величиной с просыное или гречишное зерно, розового цвета и мягкой консистенции. Пораженные вирусом клетки умеренно увеличены, они претерпевают глубокие изменения вплоть до некроза.

В организме человека вирус содержится в носоглотке, в крови и в различных органах.

Висцеральные вирусы вызывают заболевания типа лихорадок. Они носят иногда названия по месту

обнаружения вируса или болезни. Например, в Африке распространен вирус чикунгунья, что означает «болезнь, сгибающая суставы». Из-за сильных болей в суставах больные лежат с согнутыми конечностями.

Лихорадки вызывают вирусы, относящиеся к разным родам и семействам, однако, большинство из них представители арбовирусов. Группа арбовирусов насчитывает более чем 300 известных сейчас представителей. Они обитают в любом районе земного шара, но многие предпочитают хозяйничать на своих территориях и получают соответствующие названия. Перемещаются арбовирусы с насекомыми и перелетными птицами. Птицы, перезимовав в теплых странах, возвращаются в умеренные широты, неся в крови или с насекомыми, которых всегда достаточно на их теле, вирусы. Перелетные птицы в последние годы признаны важными факторами циркуляции арбовирусов, а, следовательно, и многих лихорадок и других заболеваний.

Желтая лихорадка. Заболевание вызывает вирус из группы арбовирусов, содержит РНК и имеет 18 - 25 нм в диаметре. Он довольно стабилен и хорошо сохраняется в высушенном состоянии и при минус 70° С - в течение многих лет.

Вирус патогенен для обезьян, крыс, морских свинок, белых мышей. Переносчиками вируса являются многие виды комаров. Кровь больных желтой лихорадкой заразительна в течение первых трех дней болезни. Взрослые комары могут передавать вирус начиная с 10 - 12-го дня после заражения и до конца своей жизни.

Заболевание характеризуется тяжелым течением - высокая температура, бред, рвота, часто с кровью, боли в спине, головные боли и поражение печени. Заболевание дает высокий процент смертности. Имеется несколько типов желтой лихорадки: джунглевая, кубийская, домашняя. При домашнем типе источником является человек, а переносчиком комары. Джунглевая поддерживается независимо от присутствия человека; резервуаром инфекции становятся некоторые

живущие в джунглях позвоночные, а переносчиком - комары.

Лихорадка Денге, или «костоломная лихорадка», или семидневная лихорадка, наиболее часто встречается в любом районе тропической и субтропической зон, но имеет распространение и в умеренных областях. Вирус относится к арбовирусам, РНК-содержащим, диаметром 17-25 нм.

Источником вируса являются человек и обезьяна. Восприимчивыми к вирусу могут быть молодые мыши. Переносчиком инфекции от больных к здоровому человеку служат комары.

Лихорадка Денге вызывает сильнейшие боли в костях рук и ног, протекает с грозными симптомами повышенной кровоточности и нередко имеет трагический исход. Инкубационный период 8-11 дней.

Многие исследователи ставят лихорадку Денге по своей тяжести в ряд с желтой лихорадкой и полиомиелитом.

Геморрагическая лихорадка. Заболевание впервые было зарегистрировано в 40-х годах в Омской области, поэтому иногда его называют омской геморрагической лихорадкой. Оно характеризуется тяжелым общелихорадочным состоянием с кровоизлияниями в слизистые оболочки, желудочно-кишечными и легочными кровотечениями. В основе патологии лежат поражения мелких сосудов, особенно сосудов центральной нервной системы, сосудов внутренних органов и слизистых.

Возбудитель болезни устойчив к высушиванию и другим факторам. РНК-содержащий. Диаметр частиц около 30 нм.

Чувствительны к заражению вирусом белые мыши, полевки, морские свинки, кролики, ондатры, обезьяны. Переносчиком вируса является клещ. Наблюдается сезонность заболевания (2 волны - весной и осенью), связанная с такой же сезонностью колебания количества переносчиков.

Аналогичные симптомы заболеваний, сопровождающиеся кровотечениями и кровоизлияниями, имеют геморрагические лихорадки: лихорадка Ласса - возбудитель вирус Ласса, относящийся в аренавирусам; лихорадка Марбурга - вирус Марбурга (рабдовирусы) и близкая к ней лихорадка Эбола, вирус Эбола не отличим от вируса Марбурга.

Вирус лихорадки долины Рифт вызывает очень тяжелую геморрагическую лихорадку овец, крупного рогатого скота. В 1951 г. в Кении погибло 100 000 голов крупного рогатого скота и заболело 20 000 человек. У людей это тяжелое заболевание практически не вызывает смертельных исходов. Вирус относится к буньявирусам.

И н ф е к ц и о н н ы й м о н о н у к л е о з . Заболевание носит также название железистой лихорадки, или болезни Пфейффера. Источником ее является человек. Путь распространения - контакт. Заражению способствуют скученность, тесное общение людей.

Инкубационный период в пределах 6 -18 дней. Начало болезни острое, отмечается высокая температура, головная боль, потливость, боли в горле. Характерны лихорадка, гиперплазия шейных лимфатических узлов, ангина, увеличение печени и селезенки.

Вирус герпетической группы. Диаметр 90 - 135 нм, содержит ДНК.

Э п и д е м и ч е с к и й п а р о т и т (заушница, свинка). Возбудитель РНК-содержащий вирус, сферической формы, размером 100 - 200 нм. Вирус обладает малой устойчивостью: при воздействии высокой температуры, ультрафиолетового облучения, слабых растворов формалина, спирта быстро инактивируется. Кроме человека вирус патогенен для обезьян, у которых вызывает воспаление околоушных желез.

Источником инфекции становится больной человек. Передача инфекции происходит воздушно-капельным путем. Выявляется выраженная сезонность заболевания: зимние и весенние месяцы.

Инкубационный период длится в среднем 18-20 дней. Заболевание характеризуется повышением температуры и появлением припухлости околоушной железы, иногда опухоль распространяется на лицо и шею, могут воспалиться слюнные железы. Болезнь продолжается около двух недель. Для паротита характерно вовлечение в патологический процесс нервной системы и различных полостных органов.

Эпидемический гепатит, или болезнь Боткина, инфекционное заболевание, протекающее с преимущественным поражением печени и сопровождающееся зачастую желтушечным окрашиванием кожи, слизистых, склер. Это полиэтиологическое заболевание.

Вирусы гепатита обладают высокой устойчивостью, могут годами сохраняться в высушенном материале при комнатной температуре, выдерживать кипячение в течение 30 минут и кратковременную обработку обычными дезинфицирующими средствами. Различают три вируса: гепатита А, гепатита В, гепатита ни А, ни В. Наиболее распространен гепатит А, примерно 65 % всех гепатитов; 25 % - гепатит В, и 10 % - гепатит ни А, ни В. Вирусный гепатит А* - инфекционный (ИГ), вирусный гепатит В - сывороточный (ГС), вирусный гепатит ни А, ни В - посттрансфузионный (ГП).

Вирус гепатита А размером 25 - 28 нм, примитивного строения: одна маленькая молекула РНК, окруженная капсидом, содержащим 3 - 4 белка. Относится к энтеровирусной подгруппе пикорнавирусов. Нагревание до 60° С выдерживает в течение 1 часа, а при 100° С инактивируется через 5 минут. Устойчив к кислым значениям рН и благодаря этому не разрушается в желудке при действии желудочного сока и переходит в кишечник, оттуда попадает в печень. Гепатит А - болезнь грязных рук. Вирус передается фекально-оральным путем, через воду, молоко, овощи. Первые признаки болезни - повышенная температура, слабость, тошнота, понос и наконец желтуха. Летальность

практически отсутствует, хронический процесс не возникает и болезнь через несколько недель заканчивается полным выздоровлением.

Вирус гепатита В представляет собой совершенно другую структуру. Он в 1,5 раза крупнее и устроен гораздо сложнее. Его генетическим материалом является ДНК. Эта молекула имеет сложное строение: она кольцевая и двухцепочечная, но примерно на протяжении одной трети длины вторая нить отсутствует, т.е. этот отрезок ДНК одноцепочечный. С молекулой связан фермент, способный катализировать синтез ДНК (ДНК-полимераза). Как только вирус проникает в клетки печени, фермент устраняет дефект и превращает ДНК в полностью двухцепочечную структуру.

ДНК совместно с ДНК-полимеразой и внутренними белками находятся в сердцевине вирусной частицы, называемой частицей Дейна. Снаружи она окружена оболочкой, содержащей липиды и белки. Фрагменты наружной оболочки могут образовываться самостоятельно и, не входя в состав вирусной частицы, попадать в кровь и накапливаться в ней в огромных количествах. Эти фрагменты называют поверхностным антигеном гепатита В (HBS - антиген). Если симптомов болезни у человека нет, но в сыворотке крови обнаружены антигены, то это по сути носительство вируса. Очень важно установить носительство, чтобы предотвратить распространение инфекции и исключить такую кровь из донорской.

В отличие от гепатита А, который является кишечной инфекцией, вирус гепатита В передается через кожу и слизистые (парентерально). Вирус можно внести при хирургических операциях и стоматологических манипуляциях, инъекциях, переливании крови, через инструменты.

Особенно тяжелые формы гепатита В возникают в том случае, когда к вирусу гепатита В присоединяется вирус-помощник, дельта-агент. Это мелкий вирус, содержащий РНК. Дельта-агент - дефектный вирус, не

способный к самостоятельному размножению. Недостающие для его размножения факторы предоставляет ему вирус гепатита В. Только в его присутствии дельта-агент способен активно размножаться и вызывать болезнетворные процессы. В том случае, когда к вирусу гепатита В присоединяется дельта-агент, наблюдается переход гепатита в хроническую форму - цирроз печени.

Таким образом, возбудитель гепатита В представлен тремя морфологическими структурами: частицей Дейна, антигеном и дельта-агентом (рис. 11.2).

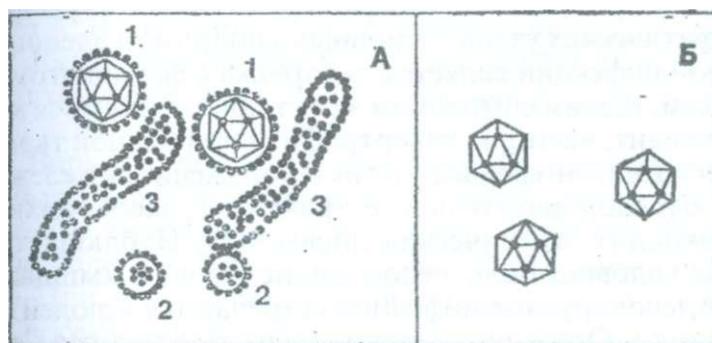


Рис. 11.2. Модель вируса гепатита В и НBS-антигена: 1 - частицы Дейна; 2 -3 - НBS-антиген; Б - сердцевинки.

Вирусы гепатита ни А, ни В представляют собой сборную группу вирусов, большая часть которых не идентифицирована. В эту группу входят вирусы с разными путями передачи: фекально-оральным и парентальным. Возможно, первые сходны с вирусом гепатита А, а вторые - с вирусом гепатита В. Заболевание, вызванное этой группой (ни А, ни В), протекает очень тяжело, с поражением не только печени, но и почек.

11.2. Респираторные вирусы

Респираторные или пневмотропные вирусы включают несколько групп: аденовирусы, кишечные вирусы, ортомиксовирусы.

Аденовирусы. В настоящее время известно 28 типов, выделенных от человека и 12 типов - от обезьян. Частицы вируса имеют 70 нм в диаметре, в их состав входит ДНК. Аденовирусы поражают дыхательный тракт человека, начиная с полости носа и кончая легкими, а также слизистые оболочки глаза и кишечного тракта, что вызывает некроз клеток с воспалительными реакциями и гипертрофию соответствующих лимфатических узлов. Основным синдромом аденовирусной инфекции является лихорадка с фарингитом и кашлем. К этим симптомам могут присоединиться конъюнктивит, насморк, гипертрофия лимфоидной ткани носоглотки, лимфоаденопатия и поражение нижележащих отделов дыхательного тракта - трахеобронхит, бронхиолит, атипическая пневмония. Наблюдается также головная боль, недомогание и боль в мышцах.

Аденовирусные инфекции встречаются у людей во всем мире. Особенно широко они распространены зимой.

Кишечные вирусы, вызывающие гриппоподобные заболевания. К этой группе относятся также ЕСНО-вирусы, некоторые из них связывают с респираторными инфекциями. ЕСНО-вирусы получили название по первым буквам английских слов, означающим «кишечные цитопатогенные человеческие сиротские». Группа ЕСНО подразделяется на несколько типов. Они вызывают заболевания с выраженной сезонностью: летом - гастроэнтериты, зимой - поражения верхних дыхательных путей. Вирусы малого размера, содержат РНК, относятся к пикорнавирусам.

Острые респираторные заболевания (ОРЗ). Известно почти две сотни вирусов, вызывающих гриппоподобные острые заболевания дыхательных путей. В частности, их вызывают парагрипп-

позные вирусы 1, 2, 3 типов, риновирусы, реовирусы, коронавирусы, миксовирусы и другие.

М и к с о в и р у с ы . Особый интерес этой группы представляют исследования, касающиеся этиологии, эпидемиологии и клиники гриппа. Как уже отмечалось, около 200 вирусов вызывают ОРЗ. Примерно половина из них представлена вирусами гриппа. Вирусы поражают не только человека, но и животных. Их выделили от свиней, лошадей, собак, телят и других видов домашних животных, а также птиц.

В настоящее время распространены три вируса человека, обозначаются они буквами латинского алфавита А, В и С. Вирус гриппа А имеет три разновидности, обозначаемые Н1 N1, Н2 N2, Н3 N3. Все они хорошо изучены. Уникальная особенность вирусов гриппа - изменчивость их структуры.

Вирус гриппа сферической формы, в его сердцевине молекула РНК, снаружи белковые молекулы, составляющие внутреннюю и наружную оболочки. Последняя содержит гемагглютинин (Н) и нейраминидазу (N). При детальном изучении оказалось, что существуют восемь видов нейраминидазы и более двух десятков гемагглютинина.

По мере циркуляции среди людей оба белка постепенно меняются, а через несколько лет настолько, что выработанный после заболевания иммунитет перестает частично или полностью защищать против повторного заболевания гриппом. Изменения наружных белков получили название антигенного дрейфа. Наряду с антигенным дрейфом периодически, внезапно и скачкообразно появляются антигенные шифты (сдвиги, смены). Это означает появление совсем нового вируса с новыми нейраминидазами и гемагглютинином. Например, 1918 году появился вирус с антигенной формулой Н1 N1. Его дрейф продолжался до 1957 года, на смену ему пришел вирус азиатского гриппа Н2 N2. Через 11 лет этот вирус был сменен гонконгским вирусом Н3 N2. Он отличался от предшественников только одним белком - гемагглютинином (Н3 вме-

его H2), нейраминидаза при этом сохранилась прежняя (N2). В 1947 г. началась большая эпидемия гриппа, распространившаяся по всему земному шару. Она была вызвана вирусом H1 N1. В 1977 г. после 20-летнего отсутствия грипп с этим вирусом (H1 N1) вернулся. Лица моложе 20 лет заболевали этой формой гриппа особенно тяжело, т.к. не было к нему в организме антител.

Когда происходит сдвиг, т.е. появление нового вируса, то все человечество оказывается к нему неиммунным, и тогда возникают мировые эпидемии-пандемии.

Существует гипотеза, что сдвиги появляются в результате пересортировки генов вирусов гриппа человека и животных. Этот процесс легко воспроизводится в лаборатории и наблюдается в природе, т.к. после каждой крупной эпидемии гриппа среди людей соответствующие вирусы переходят в животные популяции, где их легко обнаружить. При этом происходит широкая пересортировка генов. Предполагается, что при этом могут возникнуть вирусы, патогенные для человека и, вторгшись в человеческую популяцию, вызвать пандемию. К сожалению, как появляется эпидемия (пандемия), куда она уходит и как образуются новые штаммы (формы), науке пока неизвестно. Науке также неизвестно, насколько можно заразиться гриппом от домашних животных и заразить их самих.

Структура вирусных частиц гриппа типов В и С сходна со структурой вируса А. Они не вызывают пандемий, иногда охватывают одну или несколько стран, циркулируют только в человеческой среде. Нейраминидаза в составе вируса гриппа С отсутствует, заболевание чаще возникает у детей.

Вирус гриппа хорошо сохраняется в высушенном состоянии и при низких температурах. При нагревании до температуры 65 С погибает в течение 5 - 10 минут. Передается грипп от больного человека воздушно-капельным путем при чихании, кашле и разговоре. Симптомы гриппа хорошо известны каждому.

Нет пока препарата, который бы подавлял размножение вируса внутри клетки. Для лечения гриппа нередко применяют химиотерапевтические препараты ремантадин и интерферон. Маленьких детей лечат иммуноглобулином. В основном при гриппе поддаются лечению только его симптомы. Для этого используются жаропонижающие, отхаркивающие и снимающие болевой синдром препараты.

Экономический ущерб, причиняемый вирусом гриппа, огромный. Так, в благополучной Америке ежегодно от «банального» гриппа и его последствий умирает от 10 до 40 тысяч человек. Ущерб составляет около 4 млрд. долларов.

Во время эпидемий и пандемий от гриппа гибнет несколько сот тысяч и более. Смертность резко повышается при сопутствующих заболеваниях сердца, сосудов, легких. Историческим примером может служить 1918 год. После окончания первой мировой войны, разразилась небывалая пандемия гриппа, получившего название «испанки». За полтора года пандемия охватила все страны, поразив более миллиарда человек. Болезнь протекала исключительно тяжело. Около 25 миллионов человек погибло. *

Стало быть, грипп не столь уж безопасен, каким он кажется большинству.

11.3» Дерматозные вирусы

К группе дерматозных, или дерматропных, вирусов относятся вирусы натуральной оспы, осповакцины, коровьей оспы, ветряной оспы, герпеса, эпидемического воспаления конъюнктивы, афтозного стоматита.

Натуральная оспа и осповакцина. Четыре группы вирусных инфекций подлежат международному надзору: желтая лихорадка, грипп, оспа и Полиомиелит. В борьбе с ними применяются эпидемиологические и карантинные мероприятия, вакцины и сыворотки.

Оспа - одно из древнейших заболеваний. В прошлом она была самым распространенным и самым опасным. Описание оспы нашли в египетском папирусе. Оспенные поражения сохранились на коже мумии захороненной в Египте 3 000 лет до н.э. Своей наибольшей убийственной силы оспа достигла в 16-18 веках н.э., когда каждый третий умирал от нее. В отдельные годы только в Европе заболевало оспой 10-12 миллионов человек, из которых около 1,5 миллиона погибало.

В средние века от 50 до 75 % теряли зрение в результате перенесенной оспы.

Тысячелетиями человечество пыталось бороться с этой страшной заразой. Примеры искусственного заражения (вариоляция) легкой формы оспы уже существовали за 1 000 лет до н.э. у многих народов. Но практически борьба с оспой началась в 1796 г., когда английский врач Э.Дженнер привил «коровью» оспу мальчику. Не без борьбы вакцинация вскоре распространилась по всему свету.

В России в 1919 г. было зарегистрировано около 200 тысяч случаев заболевания оспой с довольно высоким процентом смертельных исходов. В этом же году В.И.Лениным был подписан декрет об обязательном оспопрививании, что положило начало массовым прививкам. К 1936 году в СССР оспа была полностью ликвидирована. С 1960 по 1978 год СССР передал безвозмездно в фонд борьбы с оспой Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) около 1,5 миллиарда доз вакцины.

Таким образом, человечество, объединив усилия, одержало победу над страшным недугом. Согласно заявлению ВОЗ последние коллекционные образцы вируса оспы, хранящиеся лишь в двух центрах - в Атланта (США) и городе Кольцово под Новосибирском, должны быть уничтожены к 30 июня 1999 г. Однако, в Африке зафиксированы случаи заболевания люден обезьяньей оспой. На сессии ВОЗ было решено оста-

вить коллекционные образцы и отложить окончательный приговор оспе до 2002 года.

Вирус оспы относится к роду поксивирусов - один из наиболее крупных ДНК-содержащих вирусов, размером 125 x 180 нм. Форма параллелепипеда с закругленными углами. Вирус оспы относится к группе сложных вирусов и состоит из нуклеотида, окруженного трехслойной оболочкой, на противоположных сторонах его под оболочкой располагаются два боковых тельца. Иммунологически вирусы натуральной оспы, вакцины и коровьей оспы идентичны.

Размножение вирусов оспы и осповакцины сопровождается образованием особых цитоплазматических включений - телец Гварниери. Относительно их образования имеется несколько гипотез, но наблюдаются они только при оспе и осповакцине, поэтому наличие телец может служить одним из признаков диагностики заболеваний оспенной природы. Вирусы выделяют при размножении растворимый антиген, обладают геммагглютинирующей способностью.

От больного оспа передается воздушно-капельным путем и через контакт с зараженным материалом. К вирусу оспы восприимчивы обезьяны, кролики, морские свинки, белые мыши.

Инкубационный период 11-14 дней. Заболевание начинается высокой температурой, сильной головной болью, головокружением, беспокойством и другими симптомами. К концу 3-х суток появляется сыпь, вначале на лице, голове, шее, затем распространяется на все туловище (рис. 11.3). Оспины приподнимаются и нагнаиваются, на 11-14 день начинают подсыхать и образуются корки. Общая продолжительность болезни 5-6 недель. На месте корочек остаются рубцы на всю Жизнь.

Натуральную оспу напоминает ветрянка, которая вызывается самостоятельным вирусом ветряной оспы. Она протекает доброкачественно, кожная сыпь не оставляет рубцов.

Рис. 11.3. Оспенная сыпь на лице.

Существует мнение о биологическом сродстве вирусов оспы, сходстве между оспой человека и оспой животных. Коровья является результатом заражения коров человеческой оспой, овечья оспа также может происходить от человеческой. Оспа лошадей может возникнуть в результате заражения их коровьей оспой посредством людей. Оспенным материалом от коров можно заразить лошадь и наоборот.

11.4. Нейротропные вирусы

Нейротропные вирусы являются возбудителями воспалительных процессов ткани мозга и мозговых оболочек. Обусловленные этими вирусами болезни могут быть отнесены к следующим группам: группа полиомиелита, группа хориоменингита, группа энцефалита, группа бешенства.

Группа полиомиелита включает такие болезни, как полиомиелит, полиомиелитоподобные заболевания, энцефало-миокардит, асептический серозный менингит и другие.

Возбудитель полиомиелита принадлежит к пикорнавирусам. Это небольшие, диаметром 12 нм, РНК-содержащие вирусы, капсид которых имеет икосаэдрическую форму и состоит из 32 капсомер-Вирус стоек при воздействии на него различных хи-

мических веществ и физических факторов. Замороженный при температуре минус 20 - минус 70° С, он сохраняется годами, не теряя своей активности. Попав во внешнюю среду, например, в сточные воды, вирус может сохранять жизнедеятельность также продолжительное время. Проникая в кишечник здоровых людей, вызывает заболевание. В пищеварительный тракт вирус полиомиелита попадает через рот. В условиях, когда организм не обладает достаточным иммунитетом к данному возбудителю, развивается заболевание, которое появляется в трех клинических формах: спинальной, паралитической, скрытой.

Инкубационный период 10-14 дней. Полиомиелит проявляется либо в отдельных, спорадических случаях, либо в виде эпидемических вспышек большей или меньшей интенсивности. Чаще всего эпидемии наблюдаются в теплые месяцы года и возникают периодически, с интервалом в несколько лет.

Грязные руки, пищевые продукты, мухи - основные факторы распространения инфекции. Вирус может передаваться также воздушно-капельным путем.

Группа энцефалитов включает несколько видов заболеваний: клещевой (весенне-летний), японский, шотландский, Сен-Луи. Возбудители энцефалитов входят в группу так называемых арбовирусов, т.е. вирусы, передающиеся членистоногими. В их организме вирусы способны размножаться и поддерживаться в активном состоянии в течение длительного времени. Кроме членистоногих, циркуляцию вируса в природе поддерживают различные виды диких и домашних животных и птиц. У животных и птиц инфекция может протекать бессимптомно.

Вирус клещевого энцефалита относится к мелким вирусам, размером 15-25 нм, сферической формы, содержит РНК.

Вирус клещевого энцефалита вызывает у человека острое лихорадочное заболевание, часто протекающее

с высокой летальностью. Вирус обладает гемагглютинирующими свойствами. У выздоровевших нередко остаются явления в виде стойких параличей мышечных групп (плечевой пояс).

К группе энцефалитов относится также вирус японского энцефалита. Он относится к арбовирусам. Диаметр вирусных частиц 20-30 нм, в их составе обнаружена РНК. Вирус инактивируется при 56° С за 30 минут, хорошо сохраняется при -70° С и в высушенном состоянии. К возбудителю восприимчиво большое число диких и домашних животных. Переносчики - комары. Заболевание людей происходит после укуса зараженного комара. Резерваторм вируса являются грызуны. Сезонность заболевания летне-осенняя.

Все энцефалитные заболевания характеризуются воспалением головного мозга, высокой температурой, головной болью, расстройством сознания и параличами.

Группа бешенства. Бешенство представляет собой острое инфекционное заболевание, характеризующееся гиперфункцией нервных клеток, паралитическими изменениями в них. К бешенству восприимчивы человек и все теплокровные животные, а также птицы. Заболевание человека бешенством неизменно ведет к летальному исходу; среди собак отмечаются редкие случаи выздоровления.

Вирус бешенства выделяется слюной, что и определяет пути заражения: при укусе или попадании слюны на поврежденные покровы.

Возбудитель бешенства принадлежит к семейству рабдовирусов, имеет шаровидную форму. Размеры вируса 100-150 нм. Хорошо развивается в мозговой ткани и относится к нейротропным вирусам. В клетках нервной системы наблюдаются специфические включения, известные под названием телец Бабеша-Негри.

Страшная и неизлечимая болезнь бешенство, или водобоязнь, от которой умирали ежегодно тысячи и тысячи людей в мире, была в значительной мере по-

беждена благодаря трудам Л.Пастера. Он нашел способ вакцинации людей путем предохранительных прививок.

Существует два самостоятельных типа вируса бешенства: уличный и фиксированный. Уличный - природный вирус, встречается у больных домашних и диких теплокровных животных. Фиксированный - стойковирulentный, вызывающий заболевание с коротким и постоянным инкубационным периодом, получен в лабораторных условиях, последовательными пассажами (перепрививками) через мозг кролика. Этот вирус используется после ослабления активности для прививок. Образование телец Негри фиксированный вирус не вызывает и теряет способность выделяться через слюнные железы зараженных животных. Широко используется для специфической профилактики бешенства.

Природный вирус быстро погибает при повышенных температурах. Прямой солнечный свет и ультрафиолетовое облучение быстро разрушают вирус.

12. РЕТРОВИРУСЫ

Название «ретровирусы» связано с тем, что в их размножении участвует обратная транскриптаза (ревертаза), которая осуществляет синтез ДН К на матрице вирусной РН К. РН К этих вирусов не может воспроизводиться путем простой репликации, необходима ее предварительная транскрипция в ДН К с последующей интеграцией этой ДН К в одну из хромосом клетки-хозяина.

К семейству ретровирусов относятся онкогенные вирусы и СПИД.

12.1. Онкогенные вирусы

Идея о том, что вирусы вызывают опухоли, была высказана в начале XX века, вскоре после открытия

вирусов. В результате экспериментов было обнаружено, что лейкоз кур передается фильтратом плазмы. Таким же образом можно вызвать саркому кур - бесклеточным фильтратом. Накопились и другие факты передачи заболевания от больных животных к здоровым. Эти работы положили начало онковирусологии.

В настоящее время все опухолеродные вирусы по способности вызывать злокачественное перерождение клеток можно подразделить на три группы: 1) высокоонкогенные (аденовирусы подгруппы А, вирус саркомы Рауса, вирус полиомы ОВ-40 и другие); 2) вирусы, вызывающие трансформацию клеток и накопление их популяции в организме, происходит перерождение единичных клеток в злокачественные (вирусы лейкоза Раушера и Фрейда, вирусы папиллом, вирус фибромы Шоупа, лимфотропные герпесвирусы); 3) вирусы, обладающие трансформирующей активностью, но почти лишенные онкогенных свойств (аденовирусы подгрупп СиД).

Для трансформации нормальной клетки в онкогенную необходим онкоген. Под ним понимается специфический ген опухолеродного вируса, отвечающего за трансформацию клетки. Для трансформации достаточно даже часть генома вируса.

Опухолеродные вирусы, как и все вирусы вообще, делятся на две принципиально различные группы: ДНК-содержащие и РНК-содержащие.

12.1.1. Онкогенные ДНК-содержащие вирусы

Среди ДНК-содержащих вирусов имеются вирусы, относящиеся к аденовирусам, герпесвирусам, паповавирусам и поксивирусам.

К поксивирусам относятся типичные представители группы оспы и онковирусы (возбудитель - фибромы кролика, вирус Яба, поражающие обезьян, вирус миксоматоза кроликов, вызвавший почти полное исчезновение кроликов в Австралии). Вирусы доволь-

но

но крупные, 200-300 нм, имеют спиральный нуклеокапсид и оболочка. Содержат ферменты и по меньшей мере 30 различных белков. Круг хозяев: позвоночные и насекомые.

Аденовирусы имеют сложно построенную структуру. Форма - икосаэдр, диаметр 80 нм. Содержат линейную двухцепочечную ДНК. Представители этой группы многочисленны и являются возбудителями респираторных инфекций и гастроэнтеритов. Кроме того, они обладают злокачественным типом информации, т.е. при введении чувствительным животным дают начало опухолям.

Герпесвирусы - это средней величины вирусы диаметром около 140 нм, икосаэдрической формы. Нуклеокапсид с двухцепочечной линейной ДНК, окруженной оболочкой. Размножение вирусов происходит в клеточном ядре, созревание - на ядерной мембране. Некоторые представители вызывают опухоли (вирус болезни Марек у птиц, вирус Люкке у лягушек).

Паповавирусы представлены двухцепочечной кольцевой ДНК. Форма икосаэдра, диаметр 45-55 нм. К этой группе относятся опухолевые вирусы, в частности обезьяний вирус 40.

Во всех случаях вирусная ДНК включается в геном клетки-хозяина и приводит к опухолевой трансформации. В трансформированной клетке образуется белок (Т-антиген), который запускает репликацию клеточной ДНК, и в результате начинается размножение клеток и быстрое образование опухолей.

12.1.2. Онкогенные РНК-содержащие вирусы

Образование опухолей вызывают ретровирусы. Они относятся к икосаэдрическим вирусам с оболочкой и содержат одноцепочечную РНК. Частицы с / Диаметр около 100 нм. Ретровирусы - опухолевые вирусы, их делят на две большие группы: лейкозные и

саркоматозные. К ним относят многие формы опухолей у животных, в том числе лейкемии, саркомы, лимфомы и др. Каждое из этих заболеваний имеет свои аналоги у человека.

Для РНК-содержащих вирусов характерно интенсивное встраивание вирусных геномов в клеточную ДНК, так называемая интеграция. Интеграция является способом размножения нуклеиновых кислот, которая происходит и при инфекционном и при злокачественном путях развития инфекции. При инфекционном процессе вирусы разрушают клетки и ткани или повреждают их. Например, при гриппе вирус повреждает клетки, выстилающие верхние дыхательные пути, в результате чего развивается воспаление. Вирус и продукты распада тканей, попадая в кровь, вызывают общее расстройство организма.

Другое дело онковирусы, вызывающие неопластические процессы. При заражении опухолеродными вирусами клетки не только не погибают, но, наоборот, начинают усиленно размножаться. Размножение это перестает контролироваться организмом и пораженный участок разрастается и становится опухолью. Более того, отдельные клетки отрываются от опухоли и разносятся кровью по всему организму, образуя очаги новых разрастаний в других органах - метастазы, от которых в конечном счете и погибает организм, пораженный опухолью. Принято неопластическое перерождение эпителиальных клеток называть раком, а перерождение клеток крови лейкемией, или лейкозом.

Возвращаясь к вопросу об интеграции РНК-содержащих вирусов с клеточной ДНК, следует напомнить о размножении РНК в клетках хозяина. РНК-содержащие вирусы имеют особый фермент - обратную транскриптазу (ревертазу). Фермент, катализирующий синтез ДНК на матрице РНК. Синтез протекает в два этапа: сначала на матрице РНК синтезируется комплементарная ей нить ДНК, а затем уже на этой нити достраивается вторая нить ДНК и одновременно происходит разрушение, деградация нити РНК.

В настоящее время РНК - содержащие ретровирусы признаются главными возбудителями онкогенных процессов.

12.2. Вирусный канцерогенез

В начале 70-х годов онковирусология вплотную подошла к открытию некоторых вирусов рака и других злокачественных новообразований (неопластических процессов). К настоящему времени обнаружено уже более 40 онкогенных вирусов животных. Эти вирусы относятся к разным группам, РНК- и ДНК-содержащих. Они являются возбудителями неопластических процессов у птиц, мышей и других животных; заражение этими вирусами в опыте вызывало развитие лейкоза, саркомы или рака. Опыты проводились в разных странах в разных лабораториях и у разных исследователей. Сложность работы с этими вирусами сводилась к тому, что многие опухоли человека - это чисто человеческие заболевания, а экспериментировать на человеке нельзя.

Уже на ранних этапах изучения этиологии (происхождения) опухолей было установлено, что обычные ткани животных образуются в результате регулируемого, ограниченного роста клеток, однако, изредка клетка может выйти из-под регуляторного контроля и начать неограниченно делиться, образуя ненормально разрастающуюся ткань. Такие разрастания называли опухолями или новообразованиями. Некоторые опухоли, например большинство папиллом (бородавок), являются доброкачественными. Они остаются локальными и не причиняют существенного вреда, хотя в исключительных случаях могут переродиться в злокачественные.

Злокачественные опухоли характеризуются инвазивным ростом, в результате тот орган, в котором они возникли, повреждается, а животное погибает.

О причинах, вызывающих новообразования, накапливались и другие факты - данные о профессиональных опухолях. Они привели к формированию представлений о канцерогенах, химических веществах, с помощью которых удавалось вызывать новообразования в экспериментах на животных. Так, регулярное смазывание кожи кроликов дегтем приводило к развитию у них рака кожи. Было выяснено, что определенные вещества являются канцерогенами. Также выяснено, что и регулярное облучение рентгеновскими или другими лучами тоже может вызвать рак. Например, взрывы атомных бомб в Хиросиме и Нагасаки привели к заболеванию лейкозами многих сотен выживших после этих двух ядерных катастроф. Чернобыльская трагедия уже дала свои результаты. Она спровоцировала различные заболевания, в том числе и лейкозы, не только у ликвидаторов, но и у людей, находившихся некоторое время в зоне.

Сейчас известны уже сотни канцерогенов, изучена их химическая структура и определена судьба в организме. Среди них в первую очередь - циклические углеводороды, содержащиеся в продуктах перегонки нефти и каменного угля. Канцерогены можно обнаружить в выхлопных газах, табачном дыму, в некоторых производственных отходах.

В 1946 году советский вирусолог Л.А. Зильбер разработал вирусогенетическую теорию рака, подтвержденную многими исследователями. Согласно этой теории все неопластические процессы вызываются вирусами. Однако, рак не инфекционная болезнь, а патология совершенно иного типа. Суть теории Зильбера заключается в том, что при онкогенезе нуклеиновая кислота вируса внедряется как фрагмент в геном клетки, становится его составной частью, и эта интеграция образует звено процессов, в результате которых нормальная клетка превращается в раковую. Клетка приобретает ряд новых свойств, одно из которых способность к ускоренному размножению. Так возникает очаг

молодых быстроделющихся клеток, склонных к безудержному росту.

Опухолевые вирусы, хотя и не способны разрушить клетку, но могут вызвать в ней наследственные изменения, причем, с этого момента опухолевые клетки больше не нуждаются в вирусе. В уже возникших опухолях вирус часто не обнаруживается. Это позволило сделать вывод, что вирусы в появлении опухолей выполняют роль стартового толчка. Имеются также данные о том, что измененные клетки не чувствительны к повторному заражению вирусом.

Зильбер писал: "Каким бы путем опухолеродный вирус не проник в организм человека, долгое время он ничем не проявляет своего присутствия. В этом нет ничего удивительного. Он мало болезнетворен. Ему нужны особые условия, чтобы проявить болезнетворность, и пока этих условий нет, вирус вполне безобиден". Процессы, приводящие к развитию рака, - действие химических и физических канцерогенов и старение организма, они могут иметь важнейшее значение.

Таким образом, вирусогенетическая теория объясняет кажущиеся противоречивыми факты, отводя вирусам этиологическую (причинную), а канцерогенам - патогенетическую (причастную к механизму) роль в развитии рака и других непластических процессов.

Логика развития вирусогенетической теории рака человека привела к поиску онкогенов, т.е. тех генов, которые непосредственно вызывают злокачественное перерождение клеток. Многие исследователи такие гены нашли. При этом природа их оказалась разной. У онкогенных ДНК-содержащих вирусов они оказались составными частями их генома, необходимыми для размножения самих вирусов. У онкогенных РНК-содержащих вирусов (ретровирусов), главных виновников опухолей, эти гены имеют клеточное происхождение, сходные гены обнаружены и в нормальных клетках.

В течение короткого времени было открыто более двух десятков клеточных онкогенов, природа которых

оказалась разной. Одни продукты генов - ферменты модифицируют клеточные белки путем присоединения к ним молекул фосфата (так называемые протеинкиназы). Другие усиливают рост клеток, третьи обладают регулирующей активностью гормонального типа. Место действия этих продуктов онкогенов - клеточная мембрана, цитоплазма, ядро.

При дальнейшем изучении вирусных онкогенов оказалось, что злокачественное перерождение клеток проходит в две стадии. На первой стадии клетки приобретают способность в неограниченному делению. Этот процесс получил название иммортализации (имморталис-бессмертный), ибо клетки как бы становятся бессмертными. На второй стадии происходит их злокачественное перерождение. Предполагается, что эти две стадии канцерогенеза осуществляются разными генами.

Большое значение для успешного развития онковирусологии имеет применение культуры клеток, получаемых из раковых опухолей, например, клеток "Гела". В начале 50-х годов в одной из клиник США умерла женщина по имени Генриета Лак. Из оперированной у нее злокачественной опухоли ученые вывели линию клеток, известную теперь каждому вирусологу и цитологу. Эти клетки есть во всех вирусологических лабораториях мира. Уже много лет они служат своеобразным эталоном в многочисленных исследованиях. Имеются и другие клетки, выделенные от клеток человека и животных и служащие моделью для онковирусологии.

Изучив онковирусы животных, многие исследователи установили, что, наряду с истинно онкогенным вирусом, в злокачественно перерожденных клетках обычно присутствуют и вирусы-спутники и вирусы-помощники. Но они не обладают способностью вызывать злокачественную трансформацию и способностью к нерегулируемому росту.

И в заключение следует отметить, что онковирусы широко распространены. Много их и в организме человека и животных, но они находятся в латентном состоянии (скрытом). Предполагается, что канцерогенные вещества или другие факторы приводят латентные вирусы в активное состояние, образуются опухолевые разрастания. Например, хорошо известный всем вирус герпеса под влиянием каких-то факторов, чаще всего температурного, выходит из латентного состояния и вызывает знакомую всем "лихорадку", чаще всего на губах. Как указывалось, герпесвирусы являются причиной образования опухолей.

12.3. Образование опухолей у растений

Опухоли у растений вызывает вирус раневых опухолей (ВРО), относящийся к группе реовирусов. Имеет сложное строение: икосаэдр с двойным капсидом, диаметр составляет 60 нм. ВРО содержит двухцепочечную РНК.

Передача вируса осуществляется только биологическим путем несколькими видами цикадок, инфицированных вирусом раневых опухолей. Этот вирус присутствует во многих тканях насекомого, в том числе в мышечных клетках и слюнных железах. Наибольшее скопление, часто в виде микрокристаллов, отмечается в цитоплазме жирового тела, где и происходит размножение.

Симптомы заболевания разносторонние. На листьях наблюдаются разрастания жилок, утолщения, обычно неравномерные, появляются листовидные образования. На корнях, а иногда и стеблях зараженных растений развиваются деревянистые опухоли (рис. 12.1). Вирус располагается в тканях псевдофлоэмы и в немногих толстостенных клетках в области ксилемы.

Болезнь не имеет существенного экономического значения, но ее изучение представляет большой научный интерес.

Недавно удалось установить, что возбудителями некоторых опухолей растений могут быть вириды.

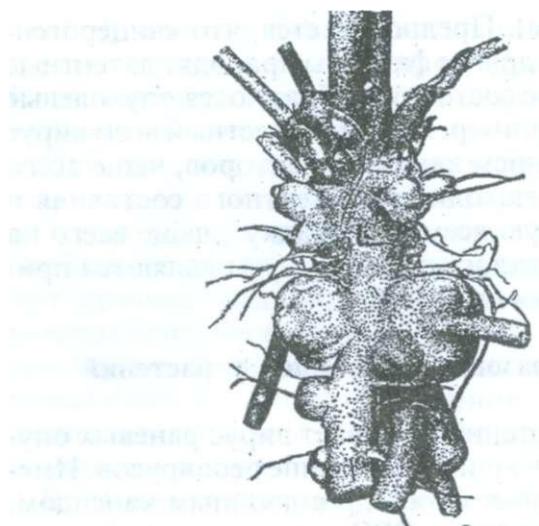


Рис. 12.1. Участок корня, пораженный вирусом раневых опухолей.

В заключение следует подчеркнуть, что вирусы нельзя рассматривать, как единственную универсальную причину возникновения опухолей. Однако, изучение вирусного канцерогена является важнейшей задачей современной онковирусологии, т.к. позволяет подойти к решению вопроса о механизме перерождения нормальной клетки в опухолевую.

В литературе имеются данные о возможности симбиотических взаимоотношений между онкогенными вирусами и эукариотными клетками, примерно такие, какие наблюдаются на примере бактерий и умеренных фагов (лизогения). Главная особенность, которую получает клетка животных в результате подобного симбиоза - это способность к неограниченному размножению, позволяющая клеткам осуществлять регенерацию и определенные стадии эмбриогенеза. Кроме того, на-

личие онкогенных вирусов в геноме клетки может придать ей иммунитет к инфекции патогенных онкогенных вирусов. Выгоды, получаемые онкогенным вирусом, как и в случае с умеренными фагами, сводятся к возможности безопасного распространения в пределах данной популяции.

12.4. СПИД

Синдром приобретенного иммунодефицита как новая болезнь впервые стал известен с 1979 года. А уже к концу 1986 года было зарегистрировано 36,5 тысяч случаев заболевания в 110 странах мира. По данным, поступившим во Всемирную организацию здравоохранения в 1988 году, считалось, что по меньшей мере 5 миллионов человек во всем мире заражены вирусом СПИДа, а в ближайшие пять лет эта болезнь поразит еще около миллиона человек. Но болезнь опережала прогнозы. К концу 1998 года заражен 31 миллион человек, 6 миллионов болевших СПИДом уже умерли. За тот же период 9 миллионов детей заразились от собственных родителей. По статистике ежегодно СПИДом заражается свыше 9 тысяч человек, причем тысяча из этого числа дети.

До сих пор по сути нет достаточно эффективных и доступных средств лечения или предупреждения СПИДа, как нет их и по многим вирусным болезням. Перед ретровирусами, вызывающими злокачественные опухоли и СПИД, человек практически безоружен.

Поиск противоядия против вирусов продолжается во всех странах. Так, британские ученые из Ноттингемского университета, обратив внимание на описание в Коране целебных свойств популярного фрукта граната, обнаружили, что экстракт из сока граната способен в считанные минуты уничтожать многие вирусы, включая СПИД. Ученые не знают в чем суть механизма действия гранатового экстракта, но уверены что в нем содержится вещество, способное уничтожить

вирусы пока в лабораторных условиях.

СПИД - болезнь сложная. Поэтому поиск путей лечения должен идти в трех направлениях: необходимо подавить вирус, стимулировать иммунную систему организма и избавиться от сопутствующих болезней.

Загадочная эпидемия еще только начиналась, но медики и вирусологи многих стран, мгновенно отозвались на нее, была выяснена общая картина болезни, был выделен возбудитель - вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), разработан метод анализа крови, выявляющий наличие инфекции. Четко определены и родственные связи вируса.

Вирус иммунодефицита человека - это не один, а несколько видов, причем все они возбудители СПИДа и принадлежат к семейству ретровирусов. Кроме человека, один из видов найден у здоровых африканских зеленых мартышек. Другие виды - возбудители различных болезней лошадей, овец и других животных.

Вирус представляет собой округлой формы частицы, диаметром 80-100 нм. Внутри него упрятаны две одинаковые молекулы геномной РНК. Оболочка составлена из жиров, белков и углеводов. Снаружи оболочка покрыта множеством шипов, служащих для прикрепления к клеткам хозяина (рис. 12.2).

Размножение вируса не зависит от деления клетки хозяина, оно происходит в результате обратной транскрипции вирусной РНК, для чего внутри вируса имеются две молекулы фермента обратной транскриптазы. Вновь образованная ДНК затем встраивается в ДНК клетки-хозяина, и в цитоплазме происходит сборка и почкование новых вирусных частиц в отдельных местах клеточной мембраны. Вирус СПИДа относится к Т-лимфоцитарным. Эндемический очаг родственных штаммов вируса находится в экваториальной Африке.

Клеточный и гуморальный иммунитет человека связан с Т-лимфоцитами крови. Деятельность Т-лимфоцитов разнообразна. В основном она обеспечивает

постоянство многообразных белков, из которых состоят клетки, ткани и органы. Появление в клетках чужеродных белков-антигенов, т.е. вирусов и других патогенов, сопровождается уничтожением их Т-лимфоцитами. Система Т-лимфоцитов включает Т-супрессоры, Т-хелперы (помощники) и Т-киллеры. функция В-лимфоцитов заключается в образовании антител в ответ на внедрение чужеродных белков.

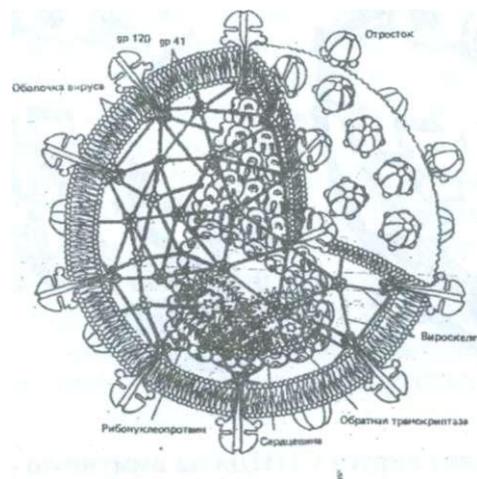


Рис. 12.2. Молекулярная модель вируса иммунодефицита человека.

В целом система Т-лимфоцитов работает тесно и слажено с системой В-лимфоцитов, обеспечивая эффективный иммунитет против чужеродных клеток и антигенов, попадающих в организм из вне или образующихся внутри организма.

Как указывалось, к ретровирусам относятся онкогенные вирусы, содержащие транскриптазу. Их вновь образованная ДНК интегрирует с геномом Т-лимфоцитов, последние начинают усиленно размножаться, развивается лейкоз. ВИЧ обладает противоположным действием: он вызывает не бурное размножение Т-лимфоцитов, а их гибель, своего рода лейкоз, или рак "наоборот". При этом вирус действует не на Т-лимфоциты, а лишь на одну их разновидность Т-хелперы. Ре-

зультат получается катастрофический, так как нарушается слаженная работа киллеров, хелперов, супрессоров и В-лимфоцитов. Образуется своеобразный дефект, дефицит иммунитета. Болезнь получила название - синдром приобретенного иммунодефицита. Действие вируса СПИДа на иммунную систему человека можно изобразить схематично (рис. 12.3)

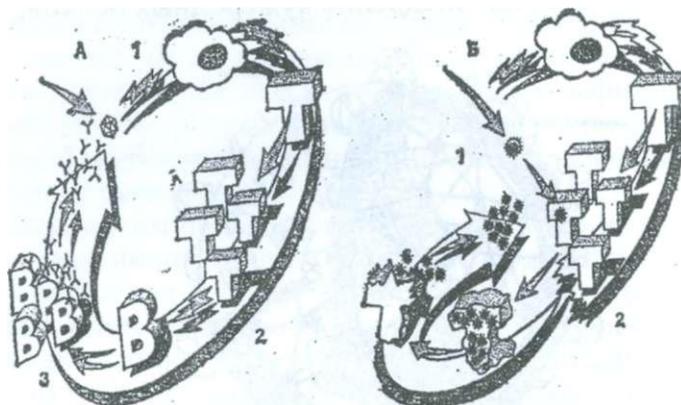


Рис. 12.3. Действие вируса СПИДа на иммунную систему человека.

А - нормальная иммунная система:

1 - микрофаг встречает проникший в организм вирус и включает Т-лимфоцит; **2** - Т - лимфоцит размножается с образованием нескольких классов Т-клеток, включая Т-хелперы (помощники). Т-хелперы стимулирует В-лимфоциты; **3** - В- лимфоциты размножаются и продуцируют антитела, которые убивают вирус.

Б - действие вируса СПИДа:

1 - вирус СПИДа поражает Т-хелперы и превращает их в вирусные фабрики; **2** - пораженные Т-хелперы парализуют иммунный ответ организма.

Болезнь развивается постепенно, после длительного скрытого периода, измеряемого 1-3 годами, а иногда

да и более. При этом все же происходит выработка небольшого количества антител к вирусу. По их наличию в крови тест-анализ дает заключение о заражении. Человек становится потенциальным вирусоносителем.

Признаки болезни разнообразны: увеличение лимфатических узлов, длительные и не поддающиеся лечению лихорадки, продолжительный кашель, вяло протекающее воспаление легких, обильное потоотделение, затяжные поносы, сильное исхудание. Все эти болезненные состояния связаны с ослаблением иммунитета, поэтому малоопасные возбудители могут приносить тяжелые последствия.

Нарушения клеточного иммунитета может быть причиной развития у больных СПИДом особой формы саркомы. В конечном итоге тяжелое развитие болезни (гибель Т-хелперов) приводит к гибели больного от случайной инфекционной болезни или злокачественной опухоли. Почти все больные, заболев случайной инфекцией, умирали из-за отсутствия иммунитета самое позднее через 4 года.

13. РИККЕТСИИ И *МИКОПЛАЗМЫ

Риккетсии и микоплазмы - это две самостоятельные группы, имеющие много общего с вирусами. Так, риккетсии, как и вирусы, обладают внутриклеточным паразитизмом и поэтому культивируются в куриных эмбрионах. Вызывают заболевания типа лихорадок. С эволюционной точки зрения группа риккетсии слабо изучена. Их относят к переходной биологической группе между бактериями и вирусами, а в некоторых случаях даже к представителям крупных вирусов.

Микоплазмы, а точнее микоплазмopodobные организмы (МПО), вообще причисляют к вирусам, как группу, вызывающую болезни растений типичные для желтух.

13.1. Риккетсии

Это облигатные паразиты некоторых членистоногих (особенно блох, вшей, клещей). Они не вызывают симптомов болезни у своего членистоногого хозяина, но в случае передачи их путем укуса позвоночного, у последнего может возникнуть тяжелое и даже смертельное заболевание. Главные болезни, вызываемые риккетсиями, - сыпной тиф, пятнистая лихорадка Скалистых гор, японская речная лихорадка.

Открыли эту группу живых существ в 1909-1913 годах Риккетс и Провачек, изучая лихорадку Скалистых гор и эпидемический сыпной тиф, и доказали этиологическую роль бакетриоподобных существ при названных заболеваниях. Кстати, оба исследователя погибли от сыпного тифа.

Риккетсии - это полиморфные, бактериоподобные самостоятельные организмы, размножающиеся в тканях членистоногих. Имеется четыре морфологических типа риккетсии а, в, с, d. Микроорганизмы типа а имеют овальную или эллипсоидную форму размером около 0,5 мкм. Иногда обнаруживаются в виде гантелевидных диплоформ, цепочек или конгломератов. Тип в представлен короткими палочковидными формами. Тип с и d - это бациллярные и нитевидные формы большой длины.

Построены риккетсии из липидов, фосфатидов, протеинов, углеводов и нуклеиновых кислот (у них имеются РНК и ДНК). Хорошо переносят высушивание в течение многих дней и месяцев. Культивирование осуществляется на куриных эмбрионах, мышах (заражение), в культуре ткани, а также в естественных их переносчиках - вшах, блохах, клещах.

Краткая характеристика патогенных риккетсии и вызываемых ими заболеваний.

В о з б у д и т е л ь с ы п н о г о т и ф а - р и к -
к е т с и я П р о в а ч е к а, типичный представитель
порядка риккетсии. Существование их поддержива-

ется во вшах, находятся и в органах зараженных морских свинок. Вши заражаются кровью больных, которая содержит риккетсии. Распространению сыпного тифа способствуют значительные передвижения масс людей в связи с войной, понижением жизненного уровня людей, голодом. Ученые полагают, что лица, переболевшие сыпным тифом, являются носителями этой инфекции, их называют вирусоносителями. Подтверждается предположение сыпнотифозно-вирусоносительства тем фактом, что риккетсии обнаруживаются в лимфатических узлах у людей, перенесших давно сыпной тиф. Однако, вопрос о месте хранения возбудителя во внеэпидемическое время остается открытым.

Инкубационный период при сыпном тифе - 14 дней. Заболевание начинается внезапным подъемом температуры, которая держится несколько дней. Появляются сильные боли головы, бронхит. На 4-6 день выступает сыпь по всему телу, которая держится почти до конца заболевания. Имеются изменения и внутренних органов. Селезенка нередко увеличена. Характерные симптомы со стороны центральной нервной системы: помрачение сознания, бред, смена угнетенного состояния возбуждением, возникают также сердечно-сосудистые расстройства.

Риккетсия тифа вызывает эпидемический или крысиный тиф. По клинической картине эта болезнь очень похожа на сыпной тиф, но менее тяжелая. Заболевание спорадическое. Резервуар болезни существует вне человека. Таким резервуаром являются крысы и мыши. Риккетсии были выделены из блох и мозга крыс.

Эпидемический тиф - естественная инфекция крыс и мышей. Заболевание передается от крысы к крысе либо крысиной блохой, либо крысиной вошью. От крысы к человеку болезнь передается через блох, а также и от человека к человеку - через платяную вошь. Восприимчивы к этому тифу (помимо человека, крыс и мы-

шей) также обезьяны, кошки, ослы, белки, песчанки, морские свинки, хлопковые крысы и другие. Размножаются риккетсии в клетках блох, не вызывая их заболевания, причем, однократно инфицированная блоха выделяет риккетсии с фекалиями в течение всей жизни.

По сравнению с классическим (эпидемическим) сыпным тифом, крысиный (эндемический) тиф представляет собой более древнюю болезнь, а связь между риккетсией сыпного тифа и человеком или вошью возникла сравнительно недавно.

Возбудитель лихорадки Ку-риккетсия Вернета. Возбудитель лихорадки Ку, или пневмориккетсиоз, был выделен Дерриком (1939).

В ряде местностей, эндемичных по лихорадке Ку, встречается одноименная инфекция у иксодовых клещей, а также у различных зверьков, на которых паразитируют клещи. Таким образом, определена возможность природной очаговости при данной инфекции, причем, зараженные клещи сами могут образовывать резервуар инфекции в природе. Основным же резервуаром возбудителя лихорадки Ку является крупный и мелкий рогатый скот (коровы, овцы, козы), заражение которого первоначально происходит в природных очагах инфекции, а в дальнейшем возникшая инфекция распространяется внутри стад, причем, она может охватывать и других домашних животных (лошадей, ослов, собак и т.д.).

У зараженных животных Ку-риккетсиоз протекает, как правило, бессимптомно и заканчивается самоизлечением. В отдельных случаях он может принимать хроническое течение, затягиваясь на многие месяцы (иногда свыше двух лет). В течение этого времени возбудитель лихорадки Ку выделяется больными животными с молоком, фекалиями и с плацентой. Вследствие стойкости возбудителя заражение предметов внешней среды указанными выделениями может быть очень длительным.

Выделения больных животных служат фактором заражения как здоровых животных, так и людей, соприкасающихся с инфицированным материалом.

Входными воротами при этом заболевании являются кожные покровы (при укусах зараженных клещей, при соприкосновении с зараженным материалом, особенно при наличии поврежденной кожи), слизистые оболочки (попадание заразного материала на конъюнктиву глаза, соприкосновение со слизистой рта) и дыхательные пути (вдыхание воздуха с зараженными частицами).

Наиболее частым считается воздушный путь заражения, особенно пылевая инфекция. При этом прямыми опытами доказано наличие возбудителя в пыли коровьих, овечьих и козьих ферм в эндемических районах. Клещи, паразитирующие на животных, могут инфицировать их шерсть и другие поверхности.

Так как возбудитель лихорадки Ку выделяется с молоком вполне возможно заражение при употреблении сырого молока. Следует отметить, что обычная пастеризация не освобождает молоко от риккетсии.

У человека это заболевание наблюдается в странах всех континентов, имеются отдельные районы, где лихорадка Ку имеет свои очаги. Инкубационный период продолжается от 3 до 32 дней, в среднем 19-20 дней. Заболевание обычно начинается внезапно с озноба, высокой температуры. С первых дней отмечаются слабость, повышенная потливость, сильная головная боль, возможны носовые кровотечения, выявляется гиперемия лица, зева. Имеются нарушения со стороны внутренних органов. Со стороны сердца отмечаются брадикардия, умеренная гипотония, приглушение сердечных тонов. Иногда наблюдаются признаки поражения системы органов дыхания - бронхит, трахеит и даже пневмония. Со стороны нервной системы беспокоят головные и мышечные боли, боли при движении глазных яблок. Часто нарушается сон, появляются бред, галлюцинации, подавленность, или наоборот возбуждение.

Лихорадка Ку заболевание инфекционное и требует эпидемиологического надзора.

Болезнетворными для человека могут быть и другие представители риккетсии, переносчиками которых являются клещи. Риккетсия риккетсии вызывает лихорадку Скалистых гор; риккетсия Конори - средиземноморскую (марсельскую) лихорадку; риккетсия цугамуши (ориенталис) - японскую сыпную лихорадку; риккетсия Акари - осповидный риккетсиоз. Вши вызывают пятдневную (окопная, волынская) лихорадку, возбудителем которой является риккетсия квинтана или риккетсия педикули. Все вышеперечисленные риккетсии являются возбудителями лихорадок по симптомам во многом схожих с лихорадкой Ку и сыпным тифом.

К порядку риккетсии относится также семейство хламидий. Это элементарные тельца, имеющие близкую к шарообразной форму. Паразитируют внутри клеток.

Хламидий обладают сложным циклом развития. Внедряясь в восприимчивые клетки, они образуют крупные цитоплазматические включения, внутри которых происходит размножение патогена. Известны три стадии их развития: инициальные тела, большие тела и элементарные тельца. Последние - шаровидной или близкой к ней формы с плотным центром (нуклеоидом), окруженным оболочкой.

Хламидий паразитируют в организме различных позвоночных (человека, птиц и других). У человека вызывают ряд заболеваний (воспаление дыхательных путей, трахома), у птиц - пситтакоз. Трахома представляет собой заболевание конъюнктивы век, приводящее нередко к разрушению роговицы глаза и тем самым к слепоте. Естественным резервуаром возбудителя трахомы является человек. Инфекция распространяется путем контакта.

13. 2. Микоплазмы

Представители этой группы были описаны в 1967 г. японскими вирусологами, которые во флоеме больных растений обнаружили своеобразные тела сферической и эллипсоидальной формы. Для них характерен ярко выраженный полиморфизм. В культуре одного вида можно обнаружить крупные шаровидные тела, мелкие зерна эллипсоидной, дисковидной, палочковидной и нитевидной формы.

По объему генетической информации микоплазмы, содержащиеся в геноме, занимают промежуточное положение между бактерией кишечной палочки и Т-фагами.

Микоплазмы представляют собой группу чрезвычайно разнообразную с точки зрения физиолого-биохимических особенностей. Они могут расти на средах разной степени сложности или только внутри организма-хозяина. Микоплазмы находят в почвах и сточных водах, горячих источниках как свободноживущие формы, они могут существовать и в различных симбиотических ассоциациях с бактериями и другими низшими и высшими организмами. Многие из них патогенны и являются возбудителями заболеваний растений, животных и человека. Например, острых респираторных заболеваний и пневмоний у человека.

Первоначально к вирусным болезням относили такие заболевания, как карликовость шелковицы, желтуха астр, ведьмины метлы картофеля, филлодия клевера, столбур пасленовых, круглолистность картофеля, бледно-зеленая карликовость зерновых, пролиферация яблони и т.д. По признаку инфекционности они относились к типу желтух и считались вирусными. Однако в настоящее время их отнесли к микоплазмоподобным организмам. Переносчиками этих заболеваний являются цикадки. Микоплазмы найдены не только в растениях, но и в клетках цикадок.

От вирусов, как удалось выяснить, микоплазмы

отличаются строением и способностью некоторых из них размножаться на искусственных средах, где они образуют специфические колонии, напоминающие яичницу-глазунью. Микоплазмы растений размножаются только внутри клеток. Внутриклеточный образ жизни ведут также микоплазмы, патогенные для человека и животных.

Несмотря на то, что микоплазмы относятся к специфической группе патогенов, занимающей промежуточное положение между вирусами и бактериями (более приближающейся к бактериям), изучением микоплазменных болезней занимаются вирусологи. И это не случайно. При всем своеобразии микоплазмы имеют много общего с вирусами. Пути циркуляции микоплазм и многих вирусов в природе подчиняются общим закономерностям.

Цикл развития микоплазм весьма сложен и изучен недостаточно. Внутри клеток микоплазм имеется цитоплазма, а в центре ядерный материал в виде фибрилл ДНК (рис. 13.1). Что касается мелких репродуктивных форм (элементарных телец), то их строение практически неизучено. Известно, что по размерам они приближаются к вирусам (порядка 80 нм).

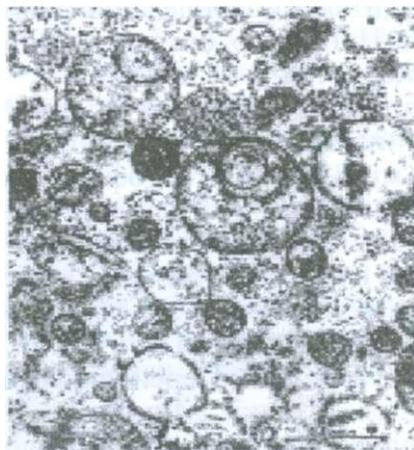


Рис. 13.1. Микоплазменные тельца.

Микоплазменные болезни растений весьма вредоносны. Характерно для них искаженное развитие генеративных органов. Это может проявляться в позеленении цветков (виресценция), в превращении отдельных частей цветка в листовидные образования (филлодия), в появлении вместо одного множества цветков с искаженным развитием или множества тонких побегов из спящих почек (пролиферация). При микоплазмозах отмечаются и другие разнообразные симптомы - карликовость, увядание растений, разные типы деформации листьев и т.д.

Микоплазмозы широко распространены на овощных, ягодных и древесных породах, на декоративных и сорных растениях. В середине 80-х годов произошло полное разделение многочисленных вирусных болезней на две самостоятельные группы: вирусные и микоплазменные болезни.

Методы диагностики микоплазменных болезней предстоит еще совершенствовать. Наиболее распространенный метод - электронно-микроскопическое выявление в тканях больных растений микоплазмоподобных структур. Далее устанавливается их инфекционность, косвенным методом. Таким методом служит выздоровление больных растений под влиянием антибиотиков группы тетрациклина. Обладая избирательным действием, антибиотики подавляют развитие именно микоплазменных заболеваний.

Микоплазменные болезни растений распространены во всем мире, в том числе и в Кыргызстане. Передача болезней осуществляется посредством прививок, через повилику, а главное с помощью насекомых-переносчиков, преимущественно цикадок. Из микоплазменных болезней плодовых культур следует отметить мелкоплодность черешни, израстание яблони и айвы, мелкоплодность яблони, махровость смородины.

На овощных культурах наиболее распространенным и вредоносным микоплазменным заболеванием является столбур (рис. 13.2). Столбур встречается на

томатах, картофеле, перце, баклажанах, табаке и других растениях.

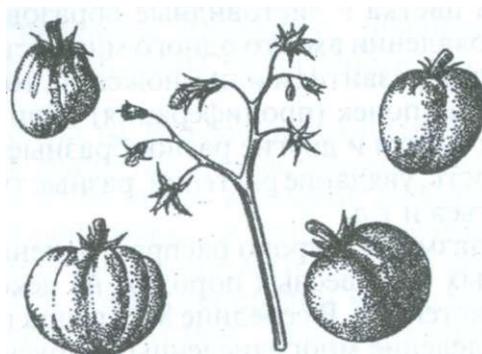


Рис. 13.2. Столбур томатов на соцветии и плодах.

Вредоносность болезни на томатах заключается в снижении урожая и ухудшении качества плодов, снижении их сахаристости. Плоды на столбурных растениях, если они вообще образуются, часто бывают одревесневшими, с плохими вкусовыми качествами. На плодах некоторых сортов наблюдаются симптомы белой пятнистости в виде бугристых участков ткани. Листья редуцируются в нитевидные образования и изменяют цвет, что проявляется в виде просветления, хлороза. Часто происходит сильное изменение генеративных органов - гипертрофия чашелистиков, израстание цветка и образование внутри него вегетативного побега. Семена, полученные с больных плодов, шуплые, с низкой всхожестью.

На картофеле симптомы поражения следующие: растения имеют угнетенный вид, приземистые, число стеблей увеличено. Листовые пластинки измельченные, их доли округлые. Цветение отсутствует. Клубни уродливые, мелкие. Инфекция почти на 100 % передается через клубни картофеля.

В настоящее время известно около 60 заболеваний, вызываемых микоплазмами. Как указывалось, передача микоплазменных болезней осуществляется вегетативным путем (прививки, клубни), насекомыми-переносчиками. Резерваторами инфекции могут быть многолетние сорняки.

В Чуйской долине микоплазменные болезни отмечены на сложноцветных - декоративных растениях, на клевере и одуванчике (рис. 13.3).

Идентификация прокариотных организмов решается с помощью "Определителя Берги", выпускаемого обществом американских бактериологов с привлечением крупных специалистов в области изучения тех или иных групп микроорганизмов. Последнее девятое издание в 4-х томах вышло в 1984-1989 гг., под руководством Д.Х.Берги. В этом Определителе риккетсии, хламидии и микоплазмы выделены в особую, специфическую, многим отличающуюся от бактерий группу (18).



Рис. 13.3. Филлодия и позеленение цветка одуванчика, (ориг.)

14. ПРОИСХОЖДЕНИЕ И КЛАССИФИКАЦИЯ ВИРУСОВ

Вопрос о происхождении вирусов и их природе имеет не только научный, но и практический интерес. Все более глубокое познание свойств вирусов, их места среди других патогенов позволяет лучше ориентироваться и в принципиальных подходах к борьбе с вирусными инфекциями.

14.1. Природа и происхождение вирусов

Большинство ученых полагают, что вирусы - это самые простейшие формы жизни, активизирующиеся при попадании в клетки восприимчивых организмов. По мнению академика Н.П.Дубинина, частицы вируса, находящиеся вне клетки, лежат как бы на грани живого и неживого, не проявляя свойств жизни; при попадании же в клетку они, используя в этой клетке ее биохимический потенциал, проявляют все свойства, характерные для живого.

Главное отличие вирусов от неживого - передача потомкам наследственных свойств, которая происходит в процессе репликации вирусов. Нельзя также не обратить внимания на то, что вирусы являются продуктами длительной эволюции, они чрезвычайно приспособлены к устойчивой циркуляции в природе.

Однозначного ответа на вопрос о происхождении вирусов пока нет. Все существующие гипотезы можно разделить на три главные: 1) вирусы являются потомками первичных доклеточных форм жизни; 2) происхождение вирусов связано с патогенными бактериями, которые прошли регрессивную эволюцию в результате перехода на внутриклеточный паразитический способ питания; 3) вирусы берут начало от нормальной клетки, которая вышла из-под контроля механизма регулирования, и их развитие пошло по особому эволюционному пути.

Каждая из перечисленных гипотез имеет свои доказательства и противоречия. Против первой гипотезы ученые выдвигают такие доводы. Во-первых репликация вирусов возможна только в живых клетках. Возможность размножения их вне клетки в первичной, пусть даже очень сложной среде, мало вероятна. Во-вторых, ни химический состав, ни особенности структуры генетического материала вирусов полностью не выявляют общих черт в сравнении с самыми примитивными клеточными организмами, хотя имеют такой же нуклеотидный состав, используют генетический код, аналогичный клеточным организмам.

Важным аргументом против регрессивного происхождения вирусов как клеточных паразитов стала их неклеточная организация. С точки зрения этой гипотезы трудно объяснить появление разнообразных форм генетического материала вирусов. М.В.Гусев и Л. А.Минеева (Микробиология, 1978) приводят данные о том, что между сложноорганизованными вирусами (вирус осповакцины) и примитивнейшими внутриклеточными паразитами бактерий, хламидий и микоплазм не имеется больших отличий.

Наиболее популярна гипотеза о том, что вирусы появились после возникновения клетки и вместе с клеткой проделали длинный путь эволюции. В соответствии с этой гипотезой вирусы произошли из фрагментов клеточных нуклеиновых кислот (ДНК-содержащие вирусы приобрели свой генетический материал из клеточных ДНК, РНК-содержащие вирусы - из клеточных РНК), которые вышли из-под клеточного контроля, оделись белковой оболочкой и приобрели способность заражать клетки, став патогенными агентами.

14.2. Классификация и номенклатура вирусов

Вирусы образуют очень гетерогенную группу. Одни из них содержат ДНК, другие РНК. Нуклеиновая

кислота может быть одно- или двухцепочечной. В случае одноцепочечной РНК в вирионе может содержаться "плюс" - цепь и "минус" - цепь. Нет оснований считать, что вирусы имеют единое происхождение, поэтому невозможно представить их эволюцию в виде родословного дерева, как это обычно делается в отношении живых организмов.

На протяжении ряда лет Международный комитет по номенклатуре вирусов (МКНВ) пытается установить единую номенклатуру и таксономию вирусов. Современная классификация более или менее универсальна для вирусов позвоночных, беспозвоночных, растений и простейших. Она опирается на фундаментальные особенности вирионов, главными из которых являются нуклеиновая кислота, морфология и антигенные свойства. К основным критериям данной классификации относят следующие: 1) характеристика вирионов - их структура, химические и физические особенности, морфология; 2) репликация; 3) круг восприимчивых хозяев; 4) патогенность; 5) географическое распространение; 6) способы передачи; 7) антигенные особенности.

14.2.1. Классификация вирусов человека и животных

Современная классификация вирусов человека и животных охватывает примерно 415 известных в настоящее время вирусов. Их отнесли к 18 семействам; из них 7-ДНК-геномных вирусов и 11-РНК-геномных (рис. 14.1). Некоторые из этих семейств являются также вирусами беспозвоночных и растений. Так, реовирусы имеют круг хозяев, кроме позвоночных еще и насекомых; присутствие их выявлено у растений. Рабдовирусы обнаружены у растений, известно восемь представителей, среди них вирус мозаики пшеницы, кукурузы и другие. Пикорнавирусы у растений представлены вирусом желтой мозаики турнепса, вирусом кустистой карликовости томатов.

БЕЗОБОЛОЧНЫЕ		ОБОЛОЧНЫЕ			
ДВУНИТЧАТАЯ ДНК		ДВУНИТЧАТАЯ ДНК			
Иридовирусы	Аденовирусы	Вирус оспы	Герпес-вирусы	Гепадна-вирусы *	
Паповавирусы Φ					
ДВУНИТЧАТАЯ РНК		ОДНОНИТЧАТАЯ РНК			
Реовирусы		вирусы	вирусы	вирусы	вирусы
ОДНОНИТЧАТАЯ РНК	ОДНОНИТЧАТАЯ ДНК	Арена-вирусы	Φ-вирусы	Вратт-вирусы	Тога-вирусы
О	Φ				
Калици-вирусы	Перес-вирусы				

Рис. 14.1. Семейства вирусов:

1 - иридовирусы; **2** - аденовирусы; **3** - паповавирусы; **4** - реовирусы; **5** - калицивирусы; **6** - пикорнавирусы (вирус полиомиелита); **7** - парвовирусы; **8** - вирусы оспы; **9** - вирусы герпеса; **10** - гепаднавирусы (вирус гепатита В); **11** - парамиксовирусы (вирусы кори, свинки); **12** - ортомиксовирусы (вирус гриппа); **13** - рабдовирусы (вирус бешенства); **14** - ретровирусы (вирусы лейкоза, СПИДа); **15** - аренавирусы; **16** - коронавирусы; **17** - буньявирусы; **18** - тогавирусы.

На рисунке показаны форма, соотношение размеров, наличие или отсутствие оболочки и нуклеиновой кислоты (Букринская, Жданов, 1986).

В качестве примеров приведем характеристику наиболее известных вирусов. Следует отметить, что многие вирусы уже упоминались в данной книге в связи с болезнями человека.

А. Вирусы позвоночных и беспозвоночных

Семейство Поксивирусов. Имеется оболочка; размеры вирусной частицы 200-300 нм. Спиральный капсид, вирион по форме напоминает кирпич. Двухцепочечная ДНК, молекулярная масса 160×10^6 . Вирион содержит ряд ферментов и около 30 различ-

ных белков. Круг хозяев позвоночные и насекомые. Типичные представители: вирус осповакцины, вирус натуральной оспы, вирус коровьей оспы, вирус оспы мышей, вирус миксоматоза.

Семейство Парвовирусов (маленькие вирусы). Икосаэдр, не имеет оболочки, диаметр 20 нм, Одноцепочечная ДНК с молекулярной массой $1,2 \times 10^6$ - $1,8 \times 10^6$. Одна часть вириона содержит "минус"-цепь, а другая часть - "плюс"-цепь.

Семейство Реовирусов. Икосаэдр. Имеется двойной капсид. Наружный диаметр 75-80 нм, внутренний - 45 нм. Вирион содержит двухцепочечную РНК с молекулярной массой $0,4 \times 10^6$ - $2,8 \times 10^6$. Круг хозяев: позвоночные, насекомые, несколько видов обнаружено у растений. Симптомы заражения этим вирусом у человека - нетипичная лихорадка.

Семейство Рабдовирусов. Имеется оболочка, структура пулевидная, 70-175 нм. Спиральный нуклеокапсид. РНК одноцепочечная ("минус"-цепь), молекулярная масса 4×10^6 . Круг хозяев: млекопитающие, насекомые, растения. Типичные представители: вирус везикулярного стоматита (хозяева: крупный рогатый скот, свиньи, членистоногие), вирус Марбурга (африканские зеленые мартышки); у растений известно восемь представителей, среди них вирус мозаики пшеницы, кукурузы и другие.

Б. Вирусы, встречающиеся только у позвоночных

Семейство Герпесвирусов. Икосаэдр; имеется оболочка. Нуклеокапсид с двухцепочечной ДНК. Мол.масса 10^8 . Размножение происходит в клеточном ядре, созревание на ядерной мембране. Типичные представители: вирус герпеса у человека, вирус псевдобешенства, вирус Марека у птиц, вирус Люкке у лягушек.

Семейство Аденовирусов. Икосаэдр. Диаметр 80 нм. Линейная, двухцепочечная ДНК с

мол. массой 20×10^6 - 30×10^6 . Имеет сложно построенную структуру. Некоторые представители вызывают образование опухолей.

Семейство Ретровирусов. Вирион с оболочкой, имеет форму округлой частицы с диаметром около 100 нм. Спиральный нуклеокапсид содержит две одинаковые молекулы РНК с мол. массой 3×10^6 каждая. Вирусы лейкоза, СПИДа.

Семейство Парамиксовирусов. Вирион с оболочкой, которая отличается изменчивостью формы (плеоморфна). Средний диаметр 150 нм. Спиральный нуклеокапсид имеет 18 нм в поперечнике и 1 000 нм в длину. Многие представители содержат нейроминидазу и гемагглютинин в гликопротеиде, входящем в состав оболочки. Одна молекула одноцепочечной РНК. Типичные представители: вирус кори, вирус ньюкаслской болезни кур, возбудитель свинки.

Семейство Ортомиксовирусов. Вирион имеет полиморфную оболочку. Размер 80-120 нм. Длина варьирует. Вирион содержит нейраминидазу и гемагглютинин в обособленных друг от друга гликопротеидах. Одноцепочечная РНК, состоящая из восьми молекул с общей мол. массой 5×10^6 . Типичный представитель: вирус гриппа.

Семейство Пикорнавирусов. Икосаэдр. Поперечник капсида 27 нм, одноцепочечная инфекционная РНК ("плюс"-цепь), мол. масса $2,7 \times 10^6$. Представители: вирус полиомиелита, возбудитель ящура (крупный рогатый скот, свиньи и др.), вирус ЕСНО (человек, обезьяны), вирус Коксаки (мыши), вирус МЕ (мышинного энцефалита) и др. Пикорнавирусы у растений: вирус желтой мозаики турнепса, вирус кустистой карликовости томатов.

14.2.2. Классификация вирусов растений

Для вирусов растений еще не выработана окончательная классификация. Вирусы разбиты на различ-

ные группы, каждая из которых названа по имени наиболее характерного представителя.

В настоящее время фитовирусологи не придерживаются какой-либо определенной номенклатуры при названии вирусов растений, а присваивают простые обозначения - вирус табачной мозаики (ВТМ), вирус желтой карликовости ячменя (ВЖКЯ). Для многих вирусов ставится порядковый номер. Например, вирус табачной мозаики 1, вирус табачной мозаики 2.

Все известные в данное время вирусы составлены в 21 группу. Приводим краткую характеристику групп.

Г р у п п а т о б а м о в и р у с о в . Типичный представитель - ВТМ. Круг хозяев широкий. Симптомы - различные типы мозаики, деформация листьев. Передача вируса механическая.

Г р у п п а т о б р а в и р у с о в . Жесткие палочковидные частицы. Широкий спектр хозяев. Переносчики - нематоды, возможна передача вируса механическим путем. Симптомы связаны с некрозом.

Г р у п п а п о т е к с и в и р у с о в . Типичный представитель - X-вирус картофеля. Гибкие палочки. Вирус передается механически. Спектр хозяев сравнительно ограниченный. Основным симптомом - крапчатость, иногда некрозы.

Г р у п п а п о т и в и р у с о в . Типичный представитель - У-вирус картофеля. Формы гибких палочек. Спектр хозяев сравнительно узкий, переносчики тли. Симптомы болезни - разные типы мозаики. К этой группе относят: вирус обыкновенной мозаики фасоли, вирус желтой мозаики фасоли, вирус мозаики свеклы, вирус мозаики гороха и другие.

Г р у п п а к а р л а в и р у с о в . Слегка гибкие палочки. Переносчики - тли, инфекция передается также механическим путем. Симптомы выражены слабо. Типичный представитель латентный вирус гвоздики. В данную группу входят: S- и M-вирусы картофеля, вирус прижилковой мозаики клевера и другие.

Г р у п п а к у к у м о в и р у с о в . Типичный представитель - вирус огуречной мозаики. Одноцепо-

чечная РНК, частицы изометрические, диаметром 30 нм. Спектр хозяев широкий. Инфекция передается тлями и механически. Симптомы - мозаика, деформация листьев, иногда некроз.

Группа вирусов раневых опухолей. Представители этой группы относятся к реовирусам. Реовирусы известны среди млекопитающих и птиц. Из фитовирусов в данную группу отнесен типичный представитель вирус раневых опухолей клевера. Переносчики - цикадки, в организме которых вирусы размножаются. Частицы изометрические, диаметром около 70 нм. Вирионы содержат двухцепочечную РНК.

Группа рабдовирусов. Эти вирусы хорошо известны как возбудители заболеваний животных и человека (вирус бешенства, вирус везикулярного стоматита). Вирионы бациллоподобной формы и довольно сложной структуры. Из фитовирусов в данную группу отнесены вирус некротического пожелтения, вирус желтой карликовости картофеля.

Группа вирусов скручивания листьев картофеля. В группу входят также вирус скручивания листьев фасоли, вирус желтой карликовости ячменя и др. Группа имеет много представителей. Вирионы изометрические, диаметром около 25 нм. Переносчики - тли. Симптомы - скручивание, хлороз и ломкость листьев.

Такова краткая характеристика основных групп фитовирусов.

14.3. Криптограммы

В фитопатологии произвольные названия вирусов (Х-вирус, М-вирус) часто сопровождаются криптограммами, в которых зашифрована определенная информация о патогене и его основных свойствах. Такие криптограммы разработали А.Гиббе и В.Харри-

сон (и вирусологи постепенно переходят к их использованию). Пользование криптограммами облегчает идентификацию вируса, позволяет сразу же получить большой объем информации, помогает преодолеть трудности, связанные с наличием синонимов. Кроме того, криптограмма легко может быть модернизирована в том случае, если будут получены дополнительные сведения о вирусе.

Криптограммы в основном используются в публикациях и для стандартной основной информации о вирусе. Например, у вируса табачной мозаики криптограмма имеет следующий вид: R/1:2/5:E/E:S/*.

Каждая криптограмма состоит из четырех пар символов. Для расшифровки криптограммы необходимо знать значение каждого символа. Ниже приводятся эти сведения.

Первая пара символов (R/1) указывает на тип нуклеиновой кислоты (R - РНК или Д - ДНК) и число цепей в молекуле (1 - одноцепочечная, 2 - двухцепочечная). Следовательно, из записи криптограммы видно, что ВТМ содержит в своем составе одноцепочечную РНК.

Вторая пара символов (2/5) означает молекулярную массу нуклеиновой кислоты (в миллионах углеродных единиц) и ее процентное содержание в инфекционных частицах.

Из записи второй пары символов криптограммы ВТМ следует, что молекулярная масса РНК ВТМ составляет 2 миллиона, а содержание нуклеиновой кислоты в вирионе равно 5 %.

Третья пара символов (E/E) характеризует форму вириона и форму нуклеокапсида, т.е. нуклеиновой кислоты и прочно связанного с ней белка. Для обозначения этих структур приняты следующие символы: S - сферическая форма, E - удлиненная с параллельными и незакругленными концами, V - удлиненная с параллельным и закругленным концом (концами), X - сложная структура или отличная от перечисленных.

Применительно к ВТМ третья пара символов E/E означает, что вирусы и нуклеокапсид имеют удлиненную структуру с параллельными сторонами и незакругленными концами.

Четвертая пара символов (S/*) означает тип заражаемого хозяина и тип переносчика.

Символы для обозначения типов хозяина: А - актиномицеты, В - бактерии, F - грибы, I - беспозвоночные, S - семенные растения, V - позвоночные.

Символы для типов переносчиков: Ac - клещи, Al - белокрылки, Ap - тли, Ai - цикадки, Cc - кокциды, Cl - жуки, D1 - мухи и комары, Gu - клопы, Ne - нематоды, Ps - листоблошки (псилиды), Si - блохи, Ph - трипсы, Ve - переносчик известен, но не относится ни к одной из указанных групп.

Если о каком-либо свойстве вируса ничего неизвестно, для всех пар символов используется знак *. Сведения, заключенные в круглые скобки (), указывают на то, что они сомнительны, сведения в квадратных скобках относятся к вирусной группе в целом.

Таким образом, применительно к ВТМ четвертая пара символов (S/*) расшифровывается так: заражаемые хозяева - семенные растения, переносчик - неизвестен.

Примеры криптограмм:

Криптограмма вируса желтухи свеклы -R/I:4,3/5:E/E:S/Ar.

Криптограмма вируса мозаики свеклы - */**/*:E/E:S/Ar.

Криптограмма X-вируса картофеля - КЛ :2,2/6:E/E:S/0(EN).

Криптограмма Y-вируса картофеля - R/*:**/*:E/E:S/Ar.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вирусологию многие считают одной из тех отраслей науки, которая в наше время переживает свой золотой век. Важнейшей из задач этой науки является выработка эффективных способов профилактики и

лечения вирусных инфекций. Лекарственные препараты должны быть таковы, чтобы избирательно подавляли хотя бы один из этапов репродукции вирусов и не затрагивали бы процессы жизнедеятельности клетки.

В настоящее время одним из более или менее эффективных противовирусных препаратов является интерферон. В здоровом организме он содержится в незначительном количестве, но при заражении вирусной инфекцией количество его резко возрастает. Причем, вырабатывать интерферон способны клетки всех позвоночных, от рыб до человека.

Интерферон - групповое название, которое объединяет целый ряд белков со сходными свойствами, молекулярная масса которых 25 000-110 000. Некоторые интерфероны необычайно устойчивы к действию кислот и щелочей, ультрафиолетовых лучей и высокой температуры. Они выдерживают длительное прогревание при 65° С - температуре, достаточной для разрушения большинства известных белков. Являясь продуктом клеток организма, интерферон не ядовит. Это очень важное обстоятельство, так как тысячи предложенных противовирусных препаратов были забракованы из-за их токсичности.

Механизм действия интерферона заключается в нарушении трансляции вирусной и РНК рибосомами клетки, что ведет к прекращению синтеза вирусных белков. При заражении клетки вирусом он начинает размножаться и одновременно с этим клетка-хозяин продуцирует в большом количестве интерферон. Интерферон выходит из клетки и вступает в контакт с соседними клетками, делая их невосприимчивыми к вирусу. Таким образом, интерферон не обладает прямым противовирусным действием, а вызывает такие изменения в клетке, которые препятствуют размножению вируса. Интерферон применяется для лечения гриппа, некоторых заболеваний кожи и слизистых оболочек. В специальной литературе описаны случаи применения интерферона при некоторых формах рака. При

лечении интерфероном у больных наблюдалось уменьшение размера опухолей и подавление образования метастазов. Установлено также, что интерферон положительно действует на иммунную систему организма.

Все эти данные остро ставят вопрос о производстве необходимых для медицинской практики количеств интерферона. Получают этот препарат из лейкоцитов крови доноров, то есть из очень дорогого сырья, причем с очень и очень мизерным выходом интерферона. Поэтому идут поиски более дешевых и менее дефицитных видов.

В последние годы предприняты попытки получать интерферон микробиологическим синтезом. В 1980 году методом генной инженерии удалось получить штамм кишечной палочки, производящей человеческий интерферон.

Известно, что иммунная система любой биологической особи строго индивидуальна. Именно поэтому остро стоит вопрос о способах преодоления тканевой несовместимости в проблеме трансплантации органов и тканей. Некоторые ученые пытаются привлечь к этой проблеме вирусы. Многие вирусы оказываются биологически совместимыми с самыми различными организмами. Поэтому именно вирусы могут помочь в прочном биологическом совмещении клеток различных видов.

Если учесть, что вирусы поражают все существующие на Земле биологические виды, от бактерий до высших организмов; что многие вирусы чередуют свое пребывание в растении и насекомом, в теплокровном животном и в клеще или другом переносчике; что многие вирусы длительно пребывают в организме хозяина, то вполне понятна роль вирусов не только как возбудителей болезни, но и как переносчиков генетической информации, посредников генетического обмена в биосфере.

ПО СТРАНИЦАМ ГАЗЕТ

... Заболеваемость гепатитом в мире не снижается, среди вирусных инфекций он вышел на второе место после гриппа. И это делает проблему особенно актуальной. Но уже одно то, что вирус заставили, хоть и медленно, с трудом, расти на культурах клетки, - большая заслуга ученых. Процесс этот длительный. Порой проходит до 10 недель, пока вирус начнет расти, давать потомство. Для сравнения: вирусы гриппа, полиомиелита, энцефалита размножаются за несколько часов... Одновременно идет работа над поисками противогепатитной вакцины, синтезируемой методом генной инженерии...

"Известия", февраль 1980.

... В западногерманском Марбурге заболел и в страшных мучениях умер лаборант фармацевтической фирмы "Берингверке А.Г.". Вскрытие трупа повергло патологоанатомов в ужас: все внутренности превратились с сочащуюся кровью желеобразную массу. Так впервые заявила о себе лихорадка Эбола, названная марбургской... Вирус передается всеми путями, кроме как через насекомых.

"Аргументы и факты", ноябрь 1995.

... За последние два десятилетия появилось как минимум 30 новых инфекционных заболеваний, против которых пока не найдено эффективных средств. Только ВИЧ (СПИДом) ежедневно инфицируются 6 тысяч человек.

"Комсомольская правда", май 1996.

... Установлено, что листья табака, когда им угрожает болезнь, начинают выделять салициловую кислоту... Ученые проделали такой опыт: заразили табачные кусты вирусом мозаичной болезни, а когда те начали выделять кислоту, отсосали воздух из камеры, где находились подопытные растения, и

впрыснули его в другую камеру, где помещались здоровые. И что же? Здоровые растения немедленно начали вырабатывать в своих тканях салициловую кислоту.

"Комсомольская правда", октябрь 1997.

... В Англии наблюдается вспышка коровьего бешенства (губчатая энцефалопатия). Поданным ВОЗ, через скелетные мышцы (мясо), сердце, молочные железы (вымя), молоко, кровь, серозную жидкость, почки, цирроз (отдел желудка), слюнные железы, слюну инфекция не передается в принципе. Высокая степень инфекционности только у мозга и спинного мозга. Средняя - у селезенки, миндалевидной железы, лимфатических узлов, толстой кишки. Слабая - у седалищного нерва, гипофиза, надпочечников, костного мозга, печени.

Таким образом, мясо, если в него не попали лимфатические узлы, безопасно. Субпродукты же в той или иной степени представляют угрозу здоровью.

"Комсомольская правда", ноябрь 1997.

... На сегодня 26 человек уже избавились от "чумы XX века" с помощью "Арменикума". Еще 44 ВИЧ-инфицированных проходят курс лечения. В настоящее время используемым методом вирус иммунодефицита человека не обнаруживается ни в плазме крови, ни в целом ряде фракций, клеток крови, ни в сперме. Нормализовались размеры печени, прошла сыпь, в том числе гнойничковая на теле, уменьшились некоторые из периферических лимфоузлов. Но для того чтобы говорить о 100-процентной эффективности, нужны время для долгосрочных клинических испытаний, подтверждения лабораторных данных, большее число наблюдений, оптимизация схемы лечения.

"Комсомольская правда", май 1999.

... Ростовская больница скорой помощи с 16 июля оказалась вовлеченной в борьбу с неизвестным

вирусом. Врачи ходят, как космонавты, закутанные в маски и халаты.

Предположительно буйствует вирус конго-крымской геморрагической лихорадки. Передается лихорадка лишь при переливании крови, тесных контактах. Переносят ее клещи. Зона риска, где водятся переносчики - юг России, а также Украина и Узбекистан. В лесостепных зонах этих регионов.

"Комсомольская правда", июль 1999.

... В Кара-Бууринском районе Таласской области вспышка ящура. Этим недугом поражено 270 голов крупного рогатого скота и более 300 - мелкого.

В соседних районах ведутся обследования на выявление этого опасного заболевания практически у всего домашнего продуктивного скота.

"Вечерний Бишкек", август 1999.

Древнеегипетский барельеф, свидетельствующий о том, что и три с половиной тысячи лет назад людей поражал полиомиелит.

ЛИТЕРАТУРА

Агол В.И. Взаимодействие вируса и клетки. Молекулярная биология вирусов. - М.:1971 - С. 194 - 210.

Биологический энциклопедический словарь. - М.: Советская энциклопедия, 1989.

Букринская А.Г., Жданов В.М. Рассказы о вирусах - М.:Знание, 1986.-64 с.

Вирусы и вирусные болезни растений. - Киев: Наукова думка, 1974. - 300 с.

Власов Ю.И., Геворкян З.Г. Микоплазменные болезни растений. - Ереван: АН Армянской ССР, 1981. - 125 с.

Генкель П.А. Микробиология с основами вирусологии. - М.:Просвещение, 1974. - С. 223-246.

Гиббс А., Харрисон Б. Основы вирусологии растений. - М.: Мир 1978. - 429 с.

Гольдин М.И. Вирусные включения в растительной клетке и природа вирусов. - М.: АН СССР, 1963.

Дементьева М.И. Фитопатология.- М.: Агропромиздат, 1985. - С.40-62.

Жданов В.М. Место вирусов в биосфере / Общая и частная вирусология/. - М.: Медицина, 1928. - Т.1. С. 11-25.

Жданов В.М., Ершов Ф.И., Новохватский А.С. Тайны третьего царства. - М.: Знание , 1981. - 192 с.

Земсков М.В. Основы общей микробиологии, вирусологии и иммунологии - М.: Колос, 1977. - 311 с.

Лукомская К.А. Микробиология с основами вирусологии. - М.:Просвещение, 1987. - С. 172-190.

Лурия С, Дарнелл Дж. Общая вирусология. - М.: Мир, 1981. -680 с.

Майер В., Кенда М. Невидимый мир микробов. - М.: Мир, 1981.- 336 с.

Мэтьюз Р. Вирусы растений - М.: Мир, 1973.-600 с.
Общая вирусология. - М.: Мир, 1981.

Практикум по вирусологии. - М.: Колос, 1967. - 103 с.

Рыжков В.Л., Проценко А.Е. Атлас вирусных болезней растений. - М.: Наука, 1968. - 135 с.

Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. - М.: Медицина, 1967.-С. 103-117,126-176.

Стейниер Р., Эдельберг Э., Ингрэм Дж. Мир микробов. В 3 т. - М.: Мир, 1979. - Т.2, С. 153-205.

Стенли У., Вэлленс Э. Вирусы и природа жизни. - М.:ИЛ, 1963.-237 с.

Сухов К.С. Общая вирусология. - М.: Высшая школа, 1965. -299 с.

Тихоненко А.С. Ультраструктура вирусов бактерий. - М.: Наука, 1968. - 168 с.

Тихоненко Т.Н. Химический состав и физические свойства вирусных частиц. Общая и частная вирусология. - М. 1982. - Т. 1, С. 144-159.

Уманский К.Г. Роль вирусов в природе. - М.: Знание, 1981. -64 с.

Френкель - Конрат Х. Химия и биология вирусов. -М.:Мир. 1972.- 336 с.

Шелудько Ю.М., Рейфман В.Т. Вироиды - новый класс патогенов. - М.: Наука, 1978. - 87 с.

Шлегель Г. Общая микробиология. - М.: Мир, 1972. С. 134-154.

Эльберт Б.Я. Основы вирусологии. - Минск: Высшая школа, 1965. - 284 с.

ВОПРОСЫ ПО ВИРУСОЛОГИИ

1. Понятие "вирус" и терминология, применяемая в вирусологии.
2. Отличительные признаки вирусов и бактерий.
3. Связь вирусологии и микробиологии.
4. Открытие вирусов, работы Д.И.Ивановского.
5. Главные направления развития современной вирусологии.
6. Две формы существования вирусов.
7. Общие признаки и разнообразие вирусов.
8. Методы фильтрации вирусов.
9. Культивирование вирусов на куриных эмбрионах.
10. Культивирование вирусов в культурах тканей.
11. Изучение вирусов на лабораторных животных.
12. Серологические методы изучения вирусов.
13. Микроскопические методы изучения вирусов.
14. Дополнительные методы исследования вирусов.
15. Сохранение вирусов в природе и лабораторных условиях.
16. Размеры и молекулярный вес вирусов.
17. Морфология и структура вирусов.
18. Мембраны и мембранные структуры.
19. Химический состав вирусов: элементарный и белковый состав.
20. Химический состав: типы нуклеиновых кислот и их характеристика.
21. Кристаллизация и внутриклеточные включения вирусов.
22. Наличие ферментов и ферментативная активность.
23. Схема строения вируса табачной мозаики.
24. Схема строения вируса гриппа.
25. Схема строения вируса СПИДа.
26. Влияние низких температур на вирусы.
27. Действие высоких температур на вирусы.
28. Действие ионизирующей радиации на вирусы.
29. Влияние ультразвука на вирусы и микробы.
30. Влияние рН среды на вирусы и микробы.

31. Влияние ОВП на вирусы и микробы.
32. Действие химических веществ. Явление хемотаксиса.
33. Значение влажности и влияние сухости на вирусы.
34. Концентрация растворенных веществ. Понятия осмо- и галофилы.
35. Действие ультрафиолетового света на микробы и вирусы.
36. Фитонциды и их активность, защитная функция растений.
37. Лизоцимы - защитная функция животных организмов.
38. Антагонизм среди живых организмов и действие на них антибиотиков.
39. Определение активности антибиотиков.
40. Очаги вирусной инфекции.
41. Сезонность циркуляции вирусов.
42. Типы инфекции (локальная, пространственная).
43. Насекомые - переносчики вирусов.
44. Передача вирусов нематодами и микроорганизмами.
45. Прямая передача вирусов при вегетативном размножении. *
46. Передача вирусов человека и животных.
47. Роль почвы в передаче вирусов.
48. Формы изменчивости вирусов.
49. Адаптивная изменчивость и ее значение.
50. Мутационная изменчивость и ее значение.
51. Наследственная изменчивость (трансдукция, трансформация, рекомбинация).
52. Изменчивость вирусов при пассажах и ее значение.
53. Изменчивость вирусов при температурных воздействиях.
54. Изменчивость вирусов под воздействием радиации.
55. Изменчивость вирусов при смешанных инфекциях.
56. Изменчивость вирусов под воздействием химических веществ.
57. Формы иммунитета живых организмов.

58. Противовирусный иммунитет.
59. Вирусные антигены и антитела.
60. Иммунологические реакции.
61. Этапы размножения вирусов.
62. Проникновение вирусов в клетку.
63. Скрытый подготовительный период размножения вирусов.
64. Образование зрелых вирусных частиц.
65. Инфекционность нуклеиновых кислот.
66. Формы взаимодействия вирусов с клеткой хозяина.
67. Биохимические и функциональные взаимодействия в пораженной клетке.
68. Открытие бактериофага и бактериофагии.
69. Природа бактериофага и его-происхождение.
70. Структура бактериофага на примере T2.
71. Схема размножения фагов.
72. Классификация фагов.
73. Методы выделения и культивирования фагов.
74. Систематическое положение риккетсии.
75. Морфологическая характеристика риккетсии.
76. Характеристика патогенных риккетсии.
77. Морфологическая характеристика микоплазм.
78. Болезни, вызываемые микоплазмами.
79. Общая характеристика растительных вирусов.
80. Типы проявления вирусных болезней растений.
81. Влияние вирусных болезней на физиологические процессы растений.
82. Наиболее распространенные вирусные болезни растений.
83. Критерии, применяемые для классификации вирусов.
84. Происхождение вирусов, разные точки зрения.
85. Деление вирусов на группы, в зависимости от круга хозяев.
86. Вирусы позвоночных и беспозвоночных.
87. Вирусы, встречающиеся только у позвоночных.
88. Систематика вирусов растений, встречающихся только у растений.

89. Онкогенные вирусы.
90. Современная классификация вирусов по составу нуклеиновых кислот.
91. Группа пикорнавирусов. Синтез РНК пикорнавирусов.
92. Группы реовирусов, калицивирусов, коронавирусов - РНК геномные.
93. Ретровирусы, синтез субгеномных РНК.
94. Группа парвовирусов, папова и аденовирусы, оспы, осповакцины и герпеса.
95. Фитовирусы - ДНК-геномные (мозаика цветной капусты).
96. Фитовирусы - РНК-геномные.
97. Принципы составления криптограмм вирусов.
98. Составить криптограмму вируса гриппа.
99. Составить криптограмму вируса табачной мозаики.
100. Интерференция и интерферон.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА по вирусологии для студентов

- 1. Открытие вирусов и место их в природе.**
Открытие вирусов. Понятие "вирус" и терминология, принятая в вирусологии. Связь вирусологии и микробиологии.
- 2-3. Методы исследования вирусов.**
Фильтрация вирусов. Культивирование на куриных эмбрионах. Культивирование в культуре тканей. Методы исследования вирусов на лабораторных животных. Серологические методы. Микроскопические методы.
- 4-5. Строение и химический состав вирусов.**
Размеры и молекулярный вес. Морфология и структура. Мембраны. Химический состав. Кристаллизация и внутриклеточные включения. Ферментативная активность вирусов.
- 6-7. Действие внешних факторов на вирусы и микробы.**
Четыре группы факторов. Физические: температура, лучистая энергия, ультразвук, гидростатическое давление. Химические: рН, ОВН, химические вещества. Физико-химические: влажность-высушивание, концентрация растворенных веществ. Биологические: фитонциды, лизоцимы, антибиотики.
- 8. Распространение и циркуляция вирусов в природе.**
Пути и способы распространения вирусов. Насекомые, нематоды, микроорганизмы-распространители вирусов. Передача вирусов через семена и при вегетативном размножении. Циркуляция вирусов.
- 9. Изменчивость и иммунология вирусов.**
Основные формы изменчивости вирусов. Эволюция вирусов. Вирусные антигены и антитела. Противовирусный иммунитет.

10. Вирусы и клетка.

Проникновение вирусов в клетку. Скрытый период. Механизм размножения клеточных органоидов под влиянием вирусов.

11. Характеристика риккетсии и микоплазм.

Природа и эволюция риккетсий и микоплазм. Классификация. Характеристика патогенных форм и вызываемых ими заболеваний.

12. Вирусы бактерий.

Природа бактериофага и его свойства. Лизогения и токсинообразование. Методы изучения фагов. Ингибиторы и стимуляторы репродукции бактериофагов.

13. Вирусы растений.

Характеристика фитовирусов. Вирусная инфекция у растений. Классификация вирусных болезней растений. Устойчивость растений к вирусам.

14. Вирусы человека и животных.

Характеристика отдельных групп зоовирусов: респираторных, дерматотропных, нейротропных. Онкогенные вирусы.

15. Криптограммы вирусов.

Принципы составления криптограмм.

О Г Л А В Л Е Н И Е

Введение	3
1. История открытия вирусов и их значение	5
1.1. Термины и понятия.....	5
1.2. Открытие вирусов.....	7
1.3. Практическое значение вирусов.....	11
2. Методы исследования вирусов	15
2.1. Фильтрация.....	16
2.2. Культивирование вирусов в куриных эмбрионах.....	17
2.3. Культивирование вирусов методом культуры тканей.....	19
2.4. Методы изучения вирусов на животных ...	22
2.5. Серологические исследования.....	23
2.6. Микроскопические методы.....	26
2.7. Методы выделения и очистки вирусов ...	29
3. Морфология и ультраструктура вирусов	33
3.1. Размеры и молекулярный вес.....	33
3.2. Формы вирионов.....	35
3.3. Ультраструктура вирионов.....	35
3.4. Мембраны вирионов.....	40
3.5. Кристаллизация вирусов и внутри- клеточные вирусные включения.....	41
4. Химический состав вирусов	46
4.1. Элементарный состав вирусов.....	46
4.2. Белки вирусов.....	47
4.3. Нуклеиновые кислоты.....	48
4.4. Другие химические компоненты.....	52
4.5. Вироиды.....	54
5. Вирусы и окружающая среда	55
5.1. Температура.....	55
5.2. Высушивание.....	59
5.3. Свет.....	60
5.4. Ионизирующая радиация.....	62
5.5. Гидростатическое давление.....	63
5.6. Ультразвук.....	63
5.7. Концентрация водородных ионов.....	64

5.8. Разведение вируса.....	64
5.9. Химические вещества.....	65
5.9.1. Неорганические вещества.....	65
5.9.2. Органические соединения.....	66
5.9.3. Метаболиты и антиметаболиты.....	68
5.9.4. Вещества биологического происхождения.....	70
6. Изменчивость вирусов.....	74
6.1. Основные формы изменчивости.....	75
6.2. Агенты, вызывающие изменчивость вирусов.....	77
6.3. Изменчивость вирусов, патогенных для человека и животных.....	82
7. Размножение вирусов.....	86
7.1. Отношения вируса с клеткой.....	86
7.2. Стадии размножения.....	87
7.3. Репликация вирусных нуклеиновых кислот.....	92
7.4. Сборка вирионов и выход их из клетки.....	95
7.5. Изменение в клетке, пораженной вирусами.....	96
7.6. Противовирусный иммунитет.....	98
8. Экология вирусов.....	101
8.1. Природные очаги инфекции и циркуляция вирусов.....	101
8.2. Пути распространения вирусов.....	104
8.2.1. Распространение вирусов растений.....	105
8.2.2. Распространение вирусов животных и человека.....	ПО
8.3. Распространение вирусов по тканям и органам.....	113
8.4. Инфекционный процесс и его типы.....	115
9. Специальная часть. Вирусы бактерий (бактериофаги).....	119
9.1. Морфология и химический состав фагов.....	119
9.2. Взаимодействие фагов с бактериями.....	123
9.2.1. Литический цикл.....	123
9.2.2. Развитие умеренных фагов: лизогения..	127

9.3. Практическое использование бактериофагов.....	129
10. Вирусы растений.....	131
10.1. Основные биологические свойства фитопатогенных вирусов.....	131
10.2. Симптомы вирусных болезней.....	133
10.3. Диагностика вирусных болезней.....	135
10.4. Наиболее распространенные вирусные болезни растений.....	137
10.5. Физиология, пораженных вирусами растений.....	147
10.6. Методы оздоровления и борьбы с вирусными инфекциями.....	148
11. Вирусы человека и животных.....	150
11.1. Висцеральные вирусы.....	153
11.2. Респираторные вирусы.....	160
11.3. Дерматозные вирусы.....	163
11.4. Нейротропные вирусы.....	166
12. Ретровирусы.....	169
12.1. Онкогенные вирусы.....	169
12.1.1. Онкогенные ДНК-содержащие вирусы.....	170
12.1.2. Онкогенные РНК-содержащие вирусы.....	171
12.2. Вирусный канцерогенез.....	173
12.3. Образование опухолей у растений.....	177
12.4. СПИД.....	179
13. Риккетсии и микоплазмы.....	183
13.1. Риккетсии.....	184
13.2. Микоплазмы.....	189
14. Происхождение и классификация вирусов.....	194
14.1. Природа и происхождение вирусов.....	194
14.2. Классификация и номенклатура вирусов.....	195
14.2.1. Классификация вирусов человека и животных.....	196
14.2.2. Классификация вирусов растений.....	199
14.3. Криптограммы.....	201

Заключение.....	203
По страницам газет.....	206
Литература.....	210
Вопросы по вирусологии.....	212
Рабочая программа.....	216
Оглавление.....	218