

onfray P. Challenges of modeling ocean basin ecosystems // Science. – 2004. – Vol. 304, № 5676. – P. 1463–1466. 3. Ritchie P.A., Lambert D.M. A repeat complex in the mitochondrial control region of Adelie penguins from Antarctica // Genome. – 2000. – Vol. 43, № 4. – P. 613–618. 4. Zentindjev P., Metcheva R., Savov A., Yankov Y., Ludvig A., Lieckfeldt D. Polymorphism of the population in Gentoo penguins (*Pygoscelis papua* Aves: Sphenisciformes) from Livingston Island, South Shetlands // Bulgarian Antarctic Research. Life Science. – 2006. – Vol. 5, № 4. – P. 1–8. 5. Trakiiska E., Bichev S., Telegeev G., Dybkov M., Bezrukov V., Jankov J., Savov A. Study of three DNA microsatellite markers in *Pygoscelis papua* Penguins (Aves: Sphenisciformes) from the Livingston Island // Acta zoologica bulgarica. – 2005. – Vol. 57, № 3. – P. 333–340. 6. Neef B.D., Gross M.R. Microsatellite evolution in vertebrates: influence from AC dinucleotide repeats // Int. J. of Org. Evolution. – 2001. – Vol. 55, № 9. – P. 1717–1733. 7. Roeder A.D., Marshall R.K., Mitchelson A.J., Visagathilagar T., Ritchie P.A., Love D.R., Pakai T.J., McPartlan H.C., Murray N.D., Robinson N.A., Kerry K.R., Lambert D.M. Gene flow on the ice: genetic differentiation among Adelie penguin colonies around Antarctica // Mol. Ecol. – 2001. – Vol. 10, № 7. – P. 1645–1656. 8. Bahulika R.A.,

Stanculescu D., Preston C.A., Baldwin I.T. ISSR and AFLP analysis of the temporal and spatial population structure of the post-fire annual, *Nicotiana attenuata*, in SW Utah // BMC Ecol. – 2004. – Vol. 4, – P. 12. 9. Williams T.D. The Penguins. – Oxford: Oxford University Press, 1995. – P. 56–122. 10. Roeder A.D., Ritchie P.A., Lambert D. New DNA markers for penguins // Conserv. Genetics. – 2002. – Vol. 3, № 3. – P. 341–344. 11. Shepherd L.D., Lambert D.M. Mutational bias in penguin microsatellite DNA // J. Hered. – 2005. – Vol. 96, № 5. – P. 566–571. 12. Shepherd L.D., Millar C.D., Ballard G., Ainley D.G., Wilson P.R. Microevolution and mega-icebergs in the Antarctic // Proc. Nat. Acad. Sci. – 2005. – Vol. 102, № 46. – P. 16717–16722. 13. Savov A.S., Telegeev G.D., Bichev S.N., Trakiiska E.S., Dybkov M.V., Metcheva R., Vachev B., Legeyda A.S., Bezrukov V.F. Sex identification of Gentoo penguins using PCR with specific primers // Second Ukrainian Antarctic Meeting: Antarctic Peninsula: key region for environment change study – Kyiv (Ukraine), 2004. – P. 166. 14. Amaral J.M., Simoes A.L., De Jong D. Allele frequencies and genetic diversity in two groups of wild tufted capuchin monkeys (*Cebus apella nigratus*) living in an urban forest fragment // Genet. Mol. Res. – 2005. – Vol. 4, № 4. – P. 832–838.

Надійшла до редколегії 20.01.08

УДК 576.858

Ю. Рудь, асп.,
Л. Бучацький, д-р біол. наук, проф.

ІРИДОВІРУСИ РИБ

Іридовіруси – великі, ДНК-вмісні віруси, які ізолювані від комах, риб, амфібії та рептилій. Всі відомі іридовіруси риб належать до трьох родів: *Lymphocystivirus*, *Ranavirus* і *Megalocytivirus* і родини *Iridoviridae*. Велика кількість іридовірусів риб, про які повідомлялось в літературі, є маловивченими, тому поки що вони не класифіковані. В цій статті розглянуті найпоширеніші іридовіруси, які спричиняють інфекції різноманітних видів риб.

Iridoviruses are large double-stranded DNA viruses which are isolated from insects, fish, amphibians and reptiles. Fish iridoviruses belong to the following three genera: *Lymphocystivirus*, *Ranavirus* and *Megalocytivirus* family *Iridoviridae*. A large number of fish iridoviruses, that have been reported in literature, are insufficiently studied and consequently they are not classified. In this paper the most widespread iridoviruses which cause infections in various fish species are dealt with.

Вступ. За останні 10–15 років в умовах аквакультури та в природних водоймах було ідентифіковано велику кількість іридовірусів риб. Ізоляція цих вірусів тісно пов'язана із збільшенням обсягів ведення світової аквакультури. В умовах аквакультури іридовіруси спричиняють масову загибель риб і наносять великі збитки промислового рибництва.

Значна кількість іридовірусів риб, про які є повідомлення в літературі, поки що не класифіковані. Для їх класифікації необхідно дослідити біологічні властивості нових ізолятів, їх відмінності від іридовірусів інших пойкилотермних тварин, які мешкають у воді.

Класифікація іридовірусів риб. Іридовіруси – це крупні, ікосаедричні, цитоплазматичні ДНК-вмісні віруси тварин [1].

За даними Міжнародного комітету по таксономії вірусів (ICTV) до складу родини *Iridoviridae* входить 5 родів: *Iridovirus*, *Chloridovirus*, *Lymphocystivirus*, *Ranavirus* і *Megalocytivirus* [2].

Віруси риб належать до трьох родів: *Lymphocystivirus*, *Ranavirus* і *Megalocytivirus* (Табл. 1). До цього часу багато нових іридовірусів ще недостатньо вивчені, не класифіковані і вважаються емерджентними (віруси, які з'явилися нещодавно, від англ. emerging). В даний час в багатьох вірусологічних лабораторіях світу проводиться ідентифікація цих вірусів, яка включає вивчення фізико-хімічних властивостей віріонів, аналіз послідовностей їх ДНК та розробку діагностикумів.

Таблиця 1. Іридовіруси риб

Організм		Вірус	Походження	Посилання
Рід <i>Lymphocystivirus</i>				
Білий морський окунь	<i>Lates calcarifer</i>	Lymphocystivirus disease virus (LCDV)	Австралія	Pearce et al., 1990
Рід <i>Ranavirus</i>				
Окунь	<i>Perca fluviatilis</i>	Epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) (Red-fin perch virus)	Австралія	Langdon et al., 1986
Форель	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) (Rainbow trout virus)	Австралія	Langdon et al., 1986
Судак	<i>Stizostedion lucioperca</i>	Epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV)	Фінляндія	Tapiovaara et al., 1998
Сом	<i>Ictalurus melas</i>	European Catfish Virus (ECV)	Франція	Pozet et al., 1992
Сом європейський	<i>Silurus glanis</i>	European Sheatfish Virus (ESV)	Німеччина	Ahne et al., 1989
Великоротий окунь	<i>Micropterus salmonides</i>	Largemouth bass virus (LMBV)	США	Plumb et al., 1996
Гуппі	<i>Poecilia reticulata</i>	Guppy virus (GV)	США	Hedrick & McDowell, 1995
Риба-доктор	<i>Labroides dimidiatus</i>	Doctorfish virus (DFV)	США	Hedrick & McDowell, 1995
Групер	<i>Epinephelus tauvina</i>	Singapore grouper iridovirus (SGIV)	Сінгапур	Chua et al., 1994
Рід <i>Megalocytivirus</i>				
Морський лясц	<i>Pagrus major</i>	Red Sea bream iridovirus (RSIV)	Японія	Inouye et al., 1992
Морський окунь	<i>Lateolabrax sp.</i>	Sea bass iridovirus (SBIV)	Японія	Nakajima and Sorimachi, 1995
Гурами	<i>Colisa lalia</i>	Dwarf gourami iridovirus (DGIV)	Австралія	Anderson et al., 1993
Китайський окунь	<i>Sinipercha chutisi</i>	Infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV)	Китай	He et al., 2000
Групер	<i>Epinephelus sp.</i>	Taiwan grouper iridovirus (TGIV)	Тайвань	Chao et al., 1997

Продовження табл. 1

Організм		Вірус	Походження	Посилання
Не класифіковані іридовіруси				
Тріска	<i>Maccullochella peelii</i>	Murray cod iridovirus (MCIV)	Австралія	Lancaster <i>et al.</i> , 2003
Короп	<i>Cyprinus carpio</i>	Common carp iridovirus, (CCIV)	Росія	Попкова, Щелкунов (1978)
Карась	<i>Carassius auratus</i>	Goldfish virus (GFV-1) (GFV-2)	США	Murphy <i>et al.</i> , 1995; Berry <i>et al.</i> , 1983.
Осетр	<i>Acipenser transmontanus</i>	White sturgeon iridovirus (WSIV)	США	Hedrick <i>et al.</i> , 1992
Колюшка	<i>Gasterostelus aculeatus</i>	Stickleback virus (SBV)	США	Mao <i>et al.</i> , 1999.
Камбала	<i>Pleuronectes platessa</i>	Erythrocytic necrosis virus (ENV)	Австралія	(Hyatt unpub.)

Рід *Lymphocystivirus*. До складу роду *Lymphocystivirus* входять такі віруси: *Lymphocystivirus disease virus 1* (LCDV-1) (Flounder lymphocystivirus disease virus) та *Lymphocystivirus disease virus 2* (LCDV-2) (*Dab lymphocystivirus disease virus*).

LCDV-1. Віріони сферичної форми, 200–230 нм в діаметрі, з ікосаедричним капсидом. Віріони лімфоцистіс-вірусів мають зовнішню ліпідну оболонку та внутрішню ліпідну мембрану. Внутрішня ліпідна мембрана локалізована між двома білковими оболонками. Геном представлений лінійною, двохланцюговою молекулою ДНК, яка вміщує 102 600 пар нуклеотидів. Геном несеґментований, містить 22% метильованого цитозину. Вміст Г+Ц пар становить 29,1%. Молекулярна маса головного капсидного білку (Major capsid protein, MCP) становить 51,4 kDa. До складу MCP входить 459 амінокислот. Вірус чутливий до ефіру і гліцерину, інфекційний титр вірусу знижується при pH = 3,0, але його інфекційність не знижується при заморожуванні-відтаненні та ультразвуковій обробці протягом 30–90 сек. Інфекційність вірусу може довго зберігатися при t = 4 °C або t = – 70 °C. При t = 56 °C вірус інактивується частково через 30 хв, і повністю через 60 хв. Особливо довго вірус зберігається у ліофілізованому стані. Навіть через 13 років зберігання при температурі 20 ± 2 °C ліофілізований вірус зберігає свою інфекційність на 32%. Вірус культивується при температурі 21 °C в культурі клітин BF-2 [3].

На даний момент лімфоцистоз описаний у більш ніж 100 видів морських і прісноводних риб. Інфекція супроводжується утворенням незначних пошкоджень у вигляді гіпертрофії клітин шкіри та плавників. У результаті цього на поверхні тіла риб, особливо на плавниках, з'являються дрібні пухлини у вигляді вузликів. Ці пухлини мають вигляд бородавок. Із розвитком захворювання при сильному ураженні ці бородавки вкривають всю поверхню тіла риб. Кожен вузлик представляє собою окрему епітеліальну клітину, розміри якої інколи сягають 2 мм. Гігантські пухлинні клітини можна спостерігати у риб через 7–9 місяців після зараження. Такі гіпертрофовані клітини не діляться, з часом вони лопаються, пошкоджена шкіра зарубцюється, а уражена риба продовжує жити, перетворюючись при цьому в джерело вірусної інфекції.

Рід *Ranavirus*. До іридовірусів роду *Ranavirus* належать такі віруси: Epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) (ізоляти RTV і RFPV), European sheatfish virus (ESV), European catfish virus (ECV), Santee-Cooper ranavirus (Largemouth bass virus, LMBV), doctor fish virus (DFV), guppy virus 6, (GV-6), Singapore grouper iridovirus (SGIV).

EHNV вперше був виділений в Австралії під час епізоотії у окуня *Perca fluviatilis* [4]. Існує два ізоляти цього вірусу – RTV (rainbow trout virus), що був виділений від форелі та RFPV (redfin perch virus), що був виділений від окуня. EHNV – ікосаедричний, цитоплазматичний, ДНК-вмісний вірус. Віріони сферичної форми, діамет-

ром 147–187 нм. Віріон складається з зовнішньої ліпідної оболонки, капсиду, внутрішньої ліпідної мембрани та ДНК. Внутрішня ліпідна мембрана локалізована між білковими оболонками. Геном несеґментований, представлений двохланцюговою ДНК до складу якої входить 170 000 пар нуклеотидів. Геном складає 11–18% маси віріона. Вміст Г+Ц пар становить 53%. ДНК сильно метильована (25%) по сайту CpG. Вірус чутливий до ефіру, хлороформу, дезоксіхлорату натрію та фосфоліпази А. Вірус втрачає інфекційність при pH 2-3 та при t = 50 °C, але стійкий до заморожування. Вірус культивується в перевивних культурах клітин BF-2 та CHSE-214 при температурі 24 °C. Ультраструктура EHNV схожа з іридовірусом амфібій (Bohle iridovirus, BIV).

На даний момент EHNV описаний у 13 видів риб. Хвороба, яку спричиняє EHNV, характеризується некрозом печінки, селезінки, нирок та шлунково-кишкового тракту. Показано [5], що інкубаційний період становить 11 днів при температурі 19–21 °C. При нижчих температурах інкубаційний період набагато довший, а при температурі нижче 12 °C ознаки хвороби не проявляються. EHNV вірулентний для риб вагою до 20 г, але не викликає смертність у риби вагою 50 г. Персистуючий EHNV виділяється з клінічно здорової форелі та окуня.

ESV – ікосаедричний, цитоплазматичний ДНК-вмісний вірус, ізолюваний в Німеччині під час епізоотії у мальків сома в умовах аквакультури [6]. Вірус сферичної форми діаметром 125–135 нм. Вірус чутливий до хлороформу. ESV культивується в перевивних культурах клітин BF-2, RTG-2 і FHM при температурі 20–30 °C. ЦПД характеризується округленням клітин та наявністю цитоплазматичних включень.

ESV призводить до 100% смертності мальків сома. Інкубаційний період вірусу складає 8 діб. У всіх випадках спостерігаються кровотечі на шкірі та некроз в печінці, підшлунковій залозі, шлунково-кишковому тракту, нирках. Вірус передається горизонтально через воду. Патологічна картина у мальків сома нагадує ознаки, що відмічаються при хворобах, пов'язаних з іридовірусом окуня (EHNV) [4].

ECV – це цитоплазматичний з ікосаедричною симетрією ДНК-вмісний вірус. Діаметр віріонів становить 150–160 нм. Вірус чутливий до хлороформу. ECV культивується в культурах клітин EPC. ECV за морфологічними та фізико-хімічними властивостями подібний до ESV та EHNV [7].

Хвороба характеризується високою смертністю (до 100%). На поверхні шкіри і плавниках спостерігаються крововиливи, а в печінці, селезінці та нирках – набряк і некроз.

LMBV – вірус, що уражує великоротого окуня *Micropterus salmoides*. Це цитоплазматичний з ікосаедричною симетрією вірус розміром 132–145 нм. Вірус культивується в культурі клітин FHM при температурі 30 °C і призводить до появи ЦПД через 48 год після інюкації [8].

Під час хвороби, викликаной цим вірусом, риба втрачає рівновагу, має збільшений плавальний міхур яскраво червоного кольору і тримається біля поверхні води. Вірус виділяється з усіх органів експериментально інфікованого окуня на 8 день. В місцях пошкодження та ін'єкції розвиваються некротичні запалення.

Молекулярна характеристика LMBV показала, що цей вірус має багато спільних ознак з двома іншими іридовірусами, що інфікують акваріумні види риб: guppy virus (GV) і doctordfish virus (DFV), але чітко відрізняється від вірусу жаби FV3 [9].

GV та **DFV** – віруси, що були виділені від гуппі *Poecilia reticulata* та риби-доктора *Labroides dimidiatus* [10]. Це цитоплазматичні, ікосаедричні ДНК-віруси з ліпідною оболонкою. Діаметр віріонів складає 160–170 нм. Віруси культивуються в перевивних культурах клітин BF-2, CCO і EPC. В кожній лінії клітин вірусні інфекційні титри становлять 10^8 TCID₅₀/мл. Віріони мають подібну морфологію з вірусами ESV і EHNВ. Захворювання характеризується некрозом в печінці і нирках.

SGIV вперше був виділений в Сінгапурі під час епізоотії у групера *Epinephelus tauvina* в умовах аквакультури [11]. SGIV – це ікосаедричний, цитоплазматичний, ДНК-вмісний вірус. Вірусна частинка складається з зовнішньої ліпідної оболонки, внутрішнього білкового капсиду, внутрішньої ліпідної оболонки та ДНК. Діаметр віріонів становить 155–175 нм, діаметр нуклеокапсиду – 95 нм. Геном представлений лінійною, двохланцюговою ДНК, яка містить 140 131 пару нуклеотидів. До складу віріонів входить 26 білків. Молекулярна маса головного капсидного білку становить 49 kDa. Вірус чутливий до ефіру, втрачає свою інфекційність при pH = 3 та при t = 55 °C. Вірус культивується в культурі клітин GP при температурі 25 °C. ЦПД спостерігається через 24 год після інфікування і характеризується округленням клітин з наявністю базофільних включень. Повна дегенерація моношару настає через 96 год.

SGIV викликає системні інфекції у мальків групера та спричиняє смертність, що сягає 90%. Захворювання характеризується некрозом селезінки, нирок та зябер.

Рід Megalocytivirus. До роду *Megalocytivirus* належать такі віруси: Red Sea bream iridovirus (RSIV), Sea bass iridovirus (SBIV), Dwarf gourami iridovirus (DGIV), Infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) та Taiwan grouper iridovirus (TGIV).

Це цитоплазматичні, ікосаедричні віруси діаметром 140–200 нм. Віріони мають зовнішню ліпідну оболонку та внутрішню ліпідну мембрану. Геном представлений лінійною, двохланцюговою молекулою ДНК, яка вміщує 135 000 – 303 000 пар нуклеотидів. ДНК сильно метильована. Віріони довгий час зберігаються у воді при температурі 4 °C. Віруси чутливі до ефіру, хлороформу, дезоксіхлорату натрію та ультрафіолету. Всі віруси інактивуються при температурі 55 °C протягом 15–30 хвилин та при pH = 3.

RSIV – викликає епізоотії у морського ляща в умовах аквакультури [12]. Це ікосаедричний, цитоплазматичний ДНК-вмісний вірус діаметром 120–150 нм. Нуклеокапсид розміром 75–80 нм. Геном представлений лінійною, двохланцюговою ДНК, до складу якої входить 112 415 пар нуклеотидів. ДНК складає 12–16% від маси віріона. Вірус культивується в перевивних культурах клітин BF-2 при температурі 25 °C. Поліклональні АТ до RSIV реагують з ESV- та EHNВ-інфікованими клітинами, натомість моноклональні АТ до RSIV реагують лише з RSIV-інфікованими клітинами.

При захворюванні ляща спостерігаються некротичні осередки в зябрах, нирках, серці, печінці і селезінці. Клітини характеризуються збільшенням або фрагментованим

ядром та включеннями в цитоплазмі. RSIV спричиняє смертність, що становить 50–90% протягом 2-ох місяців.

DGIV вперше виділений від акваріумної рибки гурами *Colisa lalia* [13]. Це сферичні, цитоплазматичні ДНК-вмісні віруси з зовнішньою ліпідною оболонкою. Розмір нуклеїда становить 81 ± 10 нм, розмір віріона – 130–156 нм. DGIV не культивується в перевивних культурах клітин.

У інфікованій риби спостерігається некроз в нирках, селезінці та підшлунковій залозі.

ISKNV – вперше був виділений під час епізоотії у китайського окуня *Sinipercha chuatsi* [14]. Це цитоплазматичний з ікосаедричною симетрією ДНК-вмісний вірус, діаметром 165–180 нм. Геном представлений лінійною, двохланцюговою молекулою ДНК, яка вміщує 111 362 пари нуклеотидів. Вміст Г+Ц пар становить 54,8%. Головний капсидний білок та АТФаза складаються з 454 та 239 амінокислотних залишків відповідно. Вірус культивується в перевивних культурах клітин BF-2 та GE при температурі 25 °C.

ISKNV спричиняє масову загибель риби як в природних водоймах, так і в умовах аквакультури при температурі вище, ніж 20 °C. Під час захворювання спостерігаються некротичні запалення в селезінці, нирках, зябрах та кишково-шлунковому тракті. Інфіковані клітини характеризуються збільшенням розміром з наявністю цитоплазматичних включень.

TGIV – це цитоплазматичний, ікосаедричний, ДНК-вмісний вірус діаметром 160–180 нм [15]. Вірус уражує групера *Epinephelus* sp. та спричиняє смертність, що сягає 60–80% у молоді і 30% у старшої вікової групи. Вірус не культивується на перевивних культурах клітин. Ультраструктура TGIV схожа з ISKNV. Специфічна послідовність генів MCP та АТФази TGIV і ISKNV ідентичні.

TGIV виділяється з нирок, селезінки, зябер, печінки та кишківника. Уражені тканини характеризуються великими клітинами з наявністю в них базофільних та еозинофільних включень. В ядрах спостерігається скупчення гетерохроматину, що локалізується біля ядерної мембрани. В цитоплазмі спостерігається велика кількість ендосом, а мітохондрії набувають кулястої форми.

Утворення кілець і дисків електронно-щільного матеріалу під час формування віріонів TGIV в цитоплазмі, також є характерним для *Nereis iridescent virus* (NIV) або *Iridovirus Type-27, IV27*), що уражує морського черва *Nereis diversicolor*. TGIV та NIV мають подібну морфологію і розмір (160–180 нм). Можливо, вірус, що подібний до TGIV, може існувати в різних видах морських тварин, а морський черв є природним резервуаром для вірусу.

Не класифіковані іридовіруси риб. **Murray cod iridovirus (MCIV)** – викликає епізоотії у тріски в умовах аквакультури [16]. Це ікосаедричний ДНК-вмісний вірус. Віріони локалізуються в цитоплазмі. Діаметр віріонів варіює з 132 до 165 нм. Вірус не культивується в перевивних культурах клітин. Патологічні зміни характеризуються осередками некрозу в печінці, нирках, селезінці та зябрах. Вірусна морфологія і гістопатологічні зміни тканин характерні для групи іридовірусів риб.

Показано високу гомологію (99.95%) генів головного білка капсиду та АТФази (понад 4527 п.н.) між MCIV, DGIV та ISKNV. Вважається [17], що іридовірус, який викликає епізоотії у тріски, походить з тропічної Азії і розповсюдився завдяки торгівлі промисловими або акваріумними видами риб.

White sturgeon iridovirus (WSIV) вперше був виділений у осетра *Acipenser transmontanus* в США [18]. Це цитоплазматичний ДНК-вмісний вірус з зовнішньою ліпідною оболонкою. Віріони ікосаедричної форми розміром 260–270 нм. Вірус культивується в перевивних культурах клітин WSS-2 при температурі 15–20 °C.

При захворюванні у осетрів спостерігається обширне почервоніння і крововиливи на шкірі і плавниках. В кишковому тракті присутні ознаки гострого запалення. Клітини зябер характеризуються значною кількістю базofilних, дрібних гранул в цитоплазмі. Прилеглі епітеліальні клітини стиснуті, з ознаками вибіркової гіперплазії, дисплазії. У деяких інфікованих клітинах спостерігаються зруйновані ядра. Вірус може персистувати в організмі осетра без явних ознак хвороби.

Common carp iridovirus (CCIV) спричиняє широко розповсюджену хворобу – жаберний некроз коропа. Вірус ікосаедричної форми діаметром 200–210 нм. Вірус культивується в перевивних культурах клітин EPC та FHM при температурі 28 °C. ЦПД характеризується округлими, базofilними, збільшеного розміру (в 2–3 рази) клітинами з вклученнями в ядрі. Вірусний матеріал виділяється з зябер та нирок.

Було показано [19], що зниження вірулентності вірусу залежить від кількості пасажів. ЦПД не спостерігали на 5–7 пассажах у випадку вірусного матеріалу виділеного з нирок і на 10–11 пассажах у випадку вірусного матеріалу із зябер. При перших пассажах дегенерація моношару наступала через 24–48 год, тоді як в останніх пассажах – через 7–9 дб.

Erythrocytic necrosis virus (ENV) – викликає вірусний еритроцитарний некроз (VEN). Віріони мають ікосаедричну форму, їх розмір 140–360 нм. Вірус не розмножується в культурах клітин. Вірус інфікує багато видів риб, зокрема камбалу, тріску, кету, горбушу, форель та інші. У інфікованої риби спостерігаються ознаки анемії, що супроводжується поблідінням зябер і внутрішніх органів. Відомості про масову смертність інфікованих риб відсутні. Можливо, існує декілька типів цього виду вірусу, який спричиняє хворобу, оскільки було ідентифіковано декілька різних за розміром віріонів. Потенційна важливість для аквакультури полягає в тому, що цей іридовірус збільшує чутливість риби до інших патогенів.

Goldfish virus (GFV-1, GFV-2) – цитоплазматичний вірус з ікосаедричною симетрією. Вірус не має зовнішньої ліпідної оболонки. Геном представлений кільцевою молекулою ДНК довжиною 200 000 п.н. ДНК містить метильований цитозин. GFV – не культивується в перевивних культурах клітин. Вірус спричиняє системні захворювання в умовах аквакультури. В природних водоймах епізоотії не спостерігались. Паталогічна картина характеризується некротичними запаленнями зябер, нирок, селезінки, кишково-шлункового тракту. На поверхні шкіри присутні крововиливи. Смертність сягає 80% [20].

Порівняння іридовірусів риб і амфібій. Іридовіруси риб – EHNВ, ECV, ESV, амфібій – Bohle iridovirus (BIV), вірусу жаби 3 (FV3) та рептилій – вірус Wamena (WV) морфологічно і антигенно дуже подібні між собою.

В результаті вивчення послідовності гену головного білка капсиду (MCP) RFPV, RTV, BIV та WV, було показано [21], що специфічні ділянки ДНК RFPV і RTV ідентичні між собою та чітко відрізняються від специфічних послідовностей ДНК BIV і WV. Відмінності в зразках ампліфікованих ділянок між EHNВ, BIV і WV є основою швидкого диференціювання цих вірусів від ESV/ECV і FV3/GV.

Досліджуючи інфекційність EHNВ, ESV, ECV та FV3, було показано [22], що жоден з досліджуваних вірусів не виявився патогенним для окуня *Perca fluviatilis*. У судака *Stizostedion lucioperca* спостерігали високу смертність, спричинену EHNВ (83% при $t = 12^{\circ}\text{C}$ і 98% при $t = 22^{\circ}\text{C}$) та ESV (53% при $t = 12^{\circ}\text{C}$ і 64% при $t = 22^{\circ}\text{C}$). Звертається увага на те, що FV3 не патогенний для досліджуваних видів риб.

Досліджуючи дев'ять іридовірусів, виділених від риб, рептилій та амфібій, було встановлено [23], що ідентичність іридовірусів залежить від їх географічного походження (ізолювані з однієї географічної області віруси подібні між собою, тоді як віруси з різних географічних регіонів виявилися не ідентичними). Використовуючи праймери, комплементарні до консервативного MCP, було успішно ампліфіковано специфічну послідовність ДНК усіх дев'яти ізолятів. Було доведено, що віруси групуються згідно їх географічному і таксономічному (тобто амфібія або риба) походженню. Відмінності між специфічними ділянками геному були незначними. Загалом, було показано, що область MCP консервативна для різних ізолятів іридовірусів риб і амфібій [24].

Мао et al. (1999) повідомляють про ізоляцію ідентичних іридовірусів з колюшки (SBV) і жаби *Rana aurora* (TV2). Використовуючи ендонуклеази HindIII і XbaI, було з'ясовано, що ділянки ДНК SBV і TV2 були ідентичні між собою і чітко відрізнялися від FV3. Натомість, специфічні фрагменти ДНК (близько 500 нуклеотидів) консервативної області MCP ізолюваних вірусів SBV та TV2 були ідентичні між собою і з FV3. Підсумовуючи ці результати є підстави стверджувати що іридовіруси природно інфікують тварин, що належать до різних таксономічних класів, а також, що риба може бути резервуаром для вірусів амфібій, а амфібії резервуаром для вірусів риб [25].

Ahne et al. (1998) проводили порівняльні дослідження європейських ізолятів іридовірусів риб ESV і ECV, та іридовірусу жаби REIR (*Rana esculenta* iridovirus), з іридовірусом окуня EHNВ, ізолюваного в Австралії та з FV-3, ізолюваного в США. Всі вірусні ізоляти, як було доведено, є подібні за морфологією і розмірами. В той час, як специфічні ділянки ДНК європейських іридовірусів риб були подібні (рестрикція BamHI), вони чітко відрізнялися від EHNВ, REIR і FV-3 з Австралії і США [26].

Останнім часом було ідентифіковано велику кількість іридовірусів, що викликають епізоотії у риб в природних водоймах та в умовах аквакультури. На даний момент багато нових іридовірусів ще недостатньо вивчені і тому поки що не класифіковані. Тоді як іридовіруси, що належить до роду *Lymphocystisvirus*, викликають розвиток гіпертрофованих клітин, інші, що належить до родів *Ranavirus* і *Megalocytivirus*, викликають системні інфекції у риб, пов'язані з високою захворюваністю і смертністю. Передбачається, що амфібії, можливо, діють як переносники і поширюють іридовіруси між окремими видами риб. Необхідно більше інформації щодо біологічних властивостей та фізико-хімічних характеристик нових ізолятів, їх відмінності від іридовірусів інших пойкилотермних тварин, які мешкають у воді. Вивчення властивостей віріонів, їх інфекційності і патогенності дасть змогу оцінити потенціал розповсюдження іридовірусів між різними видами і типами хазяїв.

1. Бучацкий Л.П. Иридовирусы. – Киев: Вища школа. Изд-во при Киев. ун-те, 1981. – 120 с. 2. Chinchar, V. G., Essbauer, S., He, J.G., Hyatt, A., Miyazaki, T., Seligy, V. & Williams, T. (2005). Family Iridoviridae. In Virus Taxonomy: Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. – pp. 150–162. Edited by C. M. Fauquet, M. A. Mayo, J. Maniloff, U. Desselberger & L. A. Ball. San Diego: Elsevier/Academic Press. 3. Pearce M., Humphrey J.D., Hyatt A.D., Williams L.M. Lymphocystis disease in captive barramundi *Lates calcarifer*. Australian Veterinary Journal. – 1990. – 67. – P. 144–145. 4. Langdon J., Humphrey J., Williams L., et al. First virus isolation from Australian fish: An iridovirus-like pathogen from redbfin perch, *Perca fluviatilis*. Journal of Fish Diseases. – 1986. – 9. – P. 263–268. 5. Langdon J., Humphrey J., Williams L. Outbreaks of an EHNВ-like iridovirus in cultured rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, in Australia. Journal of Fish Diseases. – 1998. – 11. – P. 93–96. 6. Ahne W., Ogawa M., Fischer-Scherl T., et al. Pathomorphological alterations in sheatfish fry *Silurus glanis* experimentally infected with an iridovirus-like agent. Dis. aquat. Org. – 1990. – Vol. 9. – P. 187–191. 7. Pozet F., Morand M., Moussa A., et al. Isolation and preliminary characterisation of a pathogenic

icosahedral deoxyribovirus from the catfish *Ictalurus melas*. Diseases of Aquatic Organisms. – 1992. – 14. – P. 35–42. 8. Plumb J., Zilberg D. The lethal dose of largemouth bass virus in juvenile largemouth bass and the comparative susceptibility of striped bass. J. Aquat Anim Health. – 1999. – 11. – P. 246–252. 9. Mao J., Wang J., Chinchar G., et al. Molecular characterization of a ranavirus isolated from largemouth bass *Micropterus salmoides*. Dis. Aquat. Org. – 1999. – 37. – P. 107–114. 10. Hedrick R., McDowell T. Properties of Iridoviruses from ornamental fish. Veterinary research, 1995. – 26. – P. 423–427. 11. Chao C., Pang V. An outbreak of an iridovirus-like infection in cultured grouper (*Epinephelus* spp.) in Taiwan. J. Chin Soc Vet Sci. – 1997. – 23. – P. 411–422. 12. Inouye K., Yamano K., Maeno Y., et al. Iridovirus infection of cultured red sea bream, *Pagrus major*. Fish Pathology. – 1992. – 27. – P. 19–27. 13. Anderson I.G., Prior H.C., Rodwell B.J., et al. Iridovirus-like virions in imported dwarf gourami (*Colisa lalia*) with systemic amoebiasis. Australian Veterinary Journal. – 1993. – 70. – P. 66–67. 14. He J.G., Wang S.P., Zeng K., et al. Systemic disease caused by an iridovirus-like agent in cultured mandarin fish, *Siniperca chuatsi* (Basilewsky), in China. Journal of Fish Diseases. – 2000. – 23. – P. 219–222. 15. Chua F., Ng M., Ng K., et al. Investigation of outbreaks of a novel disease, 'Sleepy Grouper Disease', affecting the brown-spotted grouper, *Epinephelus tauvina* Forskal. J. Fish Dis. – 1994. – 17. – P. 417–427. 16. Lancaster M., Williamson M., Schroen C. Iridovirus-associated mortality in farmed Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*). Aust Vet J. – 2003. Vol 81, No 10 October. 17. Go J., Lancaster M., Deece K. et al. The molecular epidemiology of iridovirus in Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*) and dwarf gourami (*Colisa lalia*) from distant biogeographical regions suggests a link between trade in ornamental fish and emerging iridoviral

diseases. Mol Cell Probes. – 2006. – Jun-Aug, 20(3-4). – P. 212–22. 18. Hedrick, R.P., McDowell, T.S., Ahne, W., et al. Properties of three iridovirus-like agents associated with systemic infections of fish. Diseases of Aquatic Organisms. – 1992. – 13. – P. 203–209. 19. Попкова Т.И., Щелкунов И.С. Выделение вируса от карпов, больных жаберным некрозом. ВНИИПРХ Рыб. хоз. – 1978. – № 4. – С. 34–38. 20. Berry E.S., Shea T.B., Galiks J. Two iridoviruses isolates from *Carassius auratus*. Journal of Fish Diseases. – 1983. – 6. – P. 501–510. 21. Hyatt A., Gould A., Zupanovic Z., et al. Comparative studies of piscine and amphibian iridoviruses. Archives of Virology. – 2000. – 145. – P. 301–31. 22. Jensen B., Ariel E. Experimental studies of *Rana*-virus infection in redfin perch (*Perca fluviatilis*) and pikeperch (*Stizostedion lucioperca*). 13th International Conference of fish and shellfish diseases, 17–21 September 2007 Grado, Italy. Book of abstracts. – P. 94. 23. Mao J., Hedrick R., Chinchar V. Molecular characterization, sequence analysis, and taxonomic position of newly isolated fish iridoviruses. Virology. – 1997. – Mar, 3, 229(1). – P. 212–20. 24. Marsh I., Whittington R., O'Rourke B. et al. Rapid differentiation of Australian, European and American ranaviruses based on variation in major capsid protein gene sequence. Mol Cell Probes. – 2002. Apr, 16(2). – P. 137–51. 25. Mao J., Green D., Fellers G. Molecular characterization of iridoviruses isolated from sympatric amphibians and fish. Virus Res. – 1999, Sep, 63(1-2). – P. 45–52. 26. Ahne W., Bearzotti M., Bremont M. Comparison of European systemic piscine and amphibian iridoviruses with epizootic haematopoietic necrosis virus and frog virus 3. Zentralbl Veterinarmed B. – 1998. – Aug, 45(6). – P. 373–83.

Надійшла до редколегії 31.01.08

УДК 595.773.4

I. Козерецька, канд. біол. наук,
В. Костогриз, асп.

ПОШУК ГЕНІВ-КАНДИДАТІВ НОВОЇ МУТАЦІЇ *CURLED-LIKE* У *DROSOPHILA VIRILIS*

Проведено пошук генів-кандидатів, які відповідають за планарність крила у *Drosophila virilis* з використанням геномних послідовностей *Drosophila melanogaster*. Встановлено нуклеотидну послідовність у геномі *Drosophila melanogaster*, яка містить нової ген-ортолог, порушення якого у *Drosophila virilis* призводить до мутантного фенотипу "загорнуті догори крила".

Using the genome sequence of *Drosophila melanogaster* we performed the screening of genes which can be responsible for wing planarity of *Drosophila virilis*. The nucleotide sequence of *Drosophila melanogaster* genome which contains gene-ortholog of *Drosophila virilis* was determined.

Вступ. Інтерес до вивчення мутацій, гени яких відповідають за розвиток крила дрозофіл, пов'язаний з тим, що механізми морфогенезу є еволюційно консервативними, а отже сигнальні системи клітинної диференціації й специфікації, які беруть участь у цих процесах, є спільними для багатьох систематичних груп тварин [1]. На сьогоднішній день крило дрозофіл є класичною експериментальною моделлю для вивчення механізмів закладки й росту органів багатоклітинних організмів [2].

Загалом сьогодні відомо 373 окремих гена, які беруть участь у формуванні жилок крила *Drosophila melanogaster*. Більшість цих генів (більше 60%) є компонентами відомого сигнальних шляхів [3]. Однак, дуже мало відомо про них й сигнальних шляхи, які впливають на планарність крила дрозофіл.

Метою цієї роботи був пошук відповідної нуклеотидної послідовності нової мутації *curl-like* (*curl*: 2-6.0) у *Drosophila virilis*.

Матеріали та методи досліджень. Робота з пошуку генів кандидатів у *D. melanogaster*, порушення яких могли б призводити до появи мутації подібних *curl D. virilis* проводилися з використанням геномних послідовностей *D. melanogaster*, оскільки процес розшифровки геному *D. virilis* ще не закінчений, і відповідних геномних послідовностей цього модельного об'єкту ще немає у вільному доступі [4].

Результати та їх обговорення. Ген *curl D. virilis* розташований у проксимальній частині 2-ї хромосоми на відстані 39 сМ від гена *Delta*. Мутація характеризується нормальною життєздатністю, є рецесивною. Мутантний фенотип характеризується закрученими догори та розставленими під кутом 30° крилами. Ступінь закрученості

крил імаго мутантної лінії варіює від майже рівного крила з невеликим підняттям його дистальної частини догори до дуже сильного, при якому дистальний край крила торкається крилової пластинки ближче до місця її прикріплення до тораксу [5, 6].

Ще однією фенотиповою особливістю мутантного крилового фенотипу є наявність складок, які можна спостерігати в мутантних особин, як під стереоскопічним мікроскопом, так і на постійних препаратах крил. Мутантні особини характеризуються порушенням орієнтації постскутелярних щетинок, які на відміну від дикого типу часто перехрещені, або ж спрямовані в різні сторони. Для тораксу мутантних особин характерною є певна пігментційна варіація, яка проявляється у вигляді чергування світло-коричневих поздовжніх смуг [7].

На основі порівнянь мутантних фенотипів вдалося встановити щонайменше дев'ять генів *D. melanogaster*, порушення яких призводить до прояву фенотипу "закручені догори крила", а саме *curled* (*cu*: 3-50), *Curled blistered* (*Cb*:1-13), *Curled 3* (*Cu*: 3-66.0), *curvi* (*cui*: 2-23.4), *curl* (*curl*: 2-60), *Curly* (*Cur*: 2-54.6), *curled on X* (*cu*: X-1-?), *Curly* (*Cy*: 2-6.1), та *Upturned* (*U*: 2-70).

Наведемо детальну характеристику вищезгаданих генів:

Ген *cu* є домінуючим, для нього описано 7 рецесивних алелів (*cu*¹, *cu*^{100.69}, *cu*^{100.384}, *cu*^{300.215}, *cu*^{5J}, *cu*^{FW}, *cu*²). Мутантні особини характеризуються закрученими у проксимально-дистальному напрямку крилами. Мутантним фенотипу притаманні перехрещені постскутелярні щетинки, а також наявність темного пігменту тораксу. Молекулярна функція гену – невідома, геномна послідовність – не встановлена.