УДК 578.52

ВПЛИВ ОДНОЛАНЦЮГОВИХ ДНК-ФРАГМЕНТІВ ВІРУСУ ЯДЕРНОГО ПОЛІЕДРОЗУ (*LYMANTRIA DISPAR* NUCLEOPOLYHEDROVIRUS) НА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ ГУСЕНИЦЬ ЙОГО ХАЗЯЇНА НЕПАРНОГО ШОВКОПРЯДА (*LYMANTRIA DISPAR*)

*В. В. Оберемок**

Таврійський національний університет ім. В. І. Вернадського

Показано, що зовнішнє та внутрішнє використання коротких одноланцюгових фрагментів ДНК вірусу ядерного поліедрозу обумовлюють підвищення смертності гусениць його хазяїна непарного шовкопряда. Схожа динаміка загибелі гусениць непарного шовкопряда в дослідних групах з різних яйцекладок вказує на існування єдиного механізму реакції на ДНК-фрагменти вірусу в особинах комахи. ДНК-фрагменти вірусу зміщують біохімічні реакції клітини убік апоптозу і основну роль в цьому, на нашу думку, відіграє явище ДНК-інтерференції або процес схожий на неї. ДНК-інтерференція за участю ДНК-фрагментів вірусу блокує синтез антиапоптозних білків у клітинах хазяїна, що призводить до апоптозу окремих клітин, а в окремих випадках — до загибелі організму. Короткі одноланцюгові фрагменти антиапоптозного гену є ДНК-маркерами можливості існування ДНК-інтерференції в системі взаємовідносин вірус–хазяїн. Така дія ДНК-фрагментів вірусу може бути використана для створення швидкодіючих інсектицидів на основі ДНК.

Підвищення ефективності захисту лісів від такого серйозного шкідника, як непарний шовкопряд, має велике значення. Бакуловіруси характеризуються величезним потенціалом у мікробіологічному контролі чисельності листогризучих комах [1], у тому числі непарного шовкопряда. Біоінсектициди на основі бакуловірусів безпечні для хребетних на відміну від пестицидів і специфічні у дії, що робить їх зручними для використання в сільському господарстві [2]. Основна проблема використання біоінсектицидів на основі бакуловірусів полягає у тому, щоб підвищити швидкість інфекційного процесу та загибель хазяїна [3, 4]. Альтернативним засобом боротьби з листогризучими комахами, у тому числі з непарним шовкопрядом, може стати використання біопрепаратів на основі ДНК-фрагментів вірусу, які діятимуть за механізмом ДНК-інтерференції або схожим на нього. З роботи щодо ДНК-інтерференції [5], де автори вперше застосували цей термін, відомо, що використання дволанцюгових ДНК-фрагментів організму викликають строго специфічне інгибування тих генів, з якими співпадає їх нуклеотидна послідовність. У результаті синтез відповідного білка блокується.

Ця піонерська у цьому напрямі робота була зроблена на рослині *Adiantum capillus-veneris* (Адіантум венерине листя). Подібних робот для системи взаємовідносин вірус–хазяїн ми не знайшли в літературі. Розробка ефективних біопрепаратів на основі фрагментів ДНК вірусу є достатньо перспективною. Цьому сприяє та важлива роль, яку вона відіграє в клітинах хазяїна, і велика варіабельність навіть невеликих за розмірами фрагментів молекули, що забезпечить вибірковість та ефективність дії ДНК-препаратів [6].

ДНК-фрагменти можна застосовувати не лише перорально, але й зовнішньо.

---

*Науковий керівник: доцент кафедри екології та раціонального природокористування Таврійського національного університету ім. В. І. Вернадського, к.б.н. А. П. Сімчук

Відомо, що наявність розвиненої епікутикули обмежує проникність покривів для більшості інсектицидів, але хлорорганічні та інші контактні інсектициди можуть розчинятися у кутикулярному воску. Розчинений у воску інсектицид легко потрапляє в організм комахи через найпроникніші ділянки покривів [7].

Вплив коротких фрагментів вірусної ДНК на організм хазяїна може бути обумовлений наступними причинами: а) вірусна ДНК несе в своїй будові закодовану інформацію про управління клітиною хазяїна; б) ДНК володіє спорідненістю до великої кількості білків і впливає на їх функціональну активність.

Була сформульована робоча гіпотеза про можливість впливу коротких одноланцюгових ділянок антиапоптозного гену вірусу ядерного поліедрозу на його хазяїна непарного шовкопряда. Бакуловіруси мають два класи антиапаптозних генів, p35 і iap-гени, які можуть блокувати апоптоз розвитком вірусної інфекції або різними сигналами індукції у філогенетично широкого кругу організмів [2, 8, 9]. Філогенетичний аналіз iap-генів дозволив висунути гіпотезу, що ці гени були отримані вірусами від їх хазяїв [10]. Якщо антиапоптозні гени вірусу гомологічні антиапоптозним генам клітин хазяїна, то введення таких ДНК-фрагментів вірусу до організму хазяїна повинно викликати апоптоз його клітин через блокування синтезу антиапоптозних білків. Саме так відбувається при ДНК-інтерференції.

Матеріали і методи. Екстракцію тотальної ДНК із матеріалу проводили згідно з стандартною методикою [11] з використанням за інструкцією комплекту «ДНК–сорб–А» варіант 100 (АмплиСенс, Москва). Ампліфікацію ДНК із специфічними праймерами проводили в реакційній суміші об'ємом 30 мкл на термоциклері «Терцик» (ДНК-Технология, Росія) з використанням реактивів для полімеразної ланцюгової реакції «АмплиСенс–200–1» (АмплиСенс, Москва). Реакційна суміш об'ємом 30 мкл містила: 5-х PCR-буфер — 5 мкл; $MgSO_4$, 50 Mm — 1,5 мкл; H_2O MilliQ — 3 мкл; dNTP-mix — 2,5 мкл, 2 Mm; Taq-полімераза, 5 од/мкл — 0,5 мкл; мінеральне масло — 10,5 мкл; праймери, A_{260} 10 ОЕ/мл — по 1 мкл; ТЕ-буфер з дослідною ДНК — 5 мкл. PCR проводили в режимі: денатурація 94 °С — 1 хв, відпал 61 °С — 1 хв, синтез 72 °С — 1 хв — 5 циклів; денатурація 94 °С — 0,75 хв, відпал 61 °С — 0,75 хв, синтез 72 °С — 0,75 хв — 30 циклів. Термінальну стадію синтезу проводили при 72 °С — 5 хв.

Пошук генів непарного шовкопряда гомологічних гену-інгібітору апоптоза LdnVgp140 його вірусу ядерного поліедрозу здійснювався за допомогою PCR із специфічними праймерами. Специфічні праймери були підібрані і сконструйовані на основі розташованої в ICTVdB геномної послідовності вірусу ядерного поліедрозу непарного шовкопряда (AF081810) [12]. Праймерами були короткі одноланцюгові фрагменти ДНК вірусу ядерного поліедрозу непарного шовкопряда. Вони є ділянкою гена-інгібітора апоптоза клітин хазяїна (LdnVgp140, GeneID:1488470) і при ампліфікації вірусної ДНК дають фрагмент довжиною 317 п.н. Послідовності двох специфічних праймерів були наступні (metabion international AG, Німеччина):

а) 5' — GCC GGC GGA ACT GGC CCA –3' (134843–134860);

б) 5' — CGA CGT GGT GGC ACG GCG –3' (135159–135142).

Продукти ампліфікації розділяли методом електрофорезу в 1,8 % агарозному гелі [11] і після обробки бромістим етидієм аналізували під ультрафіолетом. Як маркер використовували DNA ladder M 26 (SibEnzyme, Росія) з довжиною фрагментів 100 bp + 2 Kb + 3 Kb.

Для вивчення впливу одноланцюгових ДНК-фрагментів вірусу на життєздатність гусениць непарного шовкопряда застосували такі ж ділянки гена-інгібітора апоптоза (GeneID:1488470), які використовували у якості специфічних праймерів. Водний розчин фрагментів ДНК вірусу застосували зовнішньо та внутрішньо.

Для зовнішнього використання ДНК-фрагментів вірусу використали гусениць з іранських яйцекладок та з природної популяції (пробна ділянка «Дубки» поблизу Сімферополя). На поверхню тіла гусениць I–III личиночних віків (30–40 особин) однією краплею (0,1 мкл) нанесли водний розчин одноланцюгових ДНК-фрагментів вірусу в концентрації 10 ОЕ/мл. Стежили, щоб гусениця не струсила краплю до повного її зникнення. Гусениць з іранських яйцекладок вирощували на штучному живильному середовищі [13], а з природної популяції — на свіжому листі *Quercus pubescens* (дуба пухнастого). На кожну окрему особину з контролю нанесли однією краплею 0,1 мкл дистиляту (рис. 1).

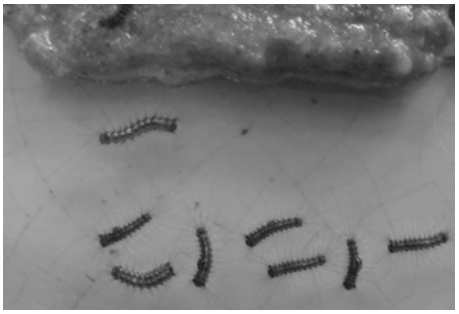

Рис. 1. Гусениці непарного шовкопряда з нанесеними на поверхню тіла розчину з одноланцюговими ДНК-фрагментами вірусу

Також провели пероральне зараження гусениць І-го личинкового віку одноланцюговими фрагментами ДНК вірусу. 40 мкл розчину з ДНК-фрагментами вірусу в концентрації 10 ОЕ/мл нанесли на один лист дубу пухнастого, який 43 гусениці з'їли протягом доби. Зараження повторили через сім днів. Для внутрішнього застосування ДНК-фрагментів вірусу використали гусениць з природної популяції (пробна ділянка «Лаврове» поблизу Ялти). Гусениць з контрольної і експериментальної груп вирощували на свіжому листі *Quercus pubescens* (дуба пухнастого).

Статистична обробка експериментальних даних проводилася за Рокицким [14] із використанням комп'ютерної програми Microsoft Excel 2003.

Результати та обговорення. Пошук генів непарного шовкопряда гомологічних гену-інгібітору апоптоза LdnVgp140 його вірусу ядерного поліедрозу. Для пошуку генів непарного шовкопряда гомологічних антиапоптозному гену LdnVgp140 його вірусу ядерного поліедрозу використали яйця непарного шовкопряда з Ірану.

У результаті проведення PCR-реакції із специфічними праймерами були отримані продукти ампліфікації ДНК непарного шовкопряда. В продуктах ампліфікації ДНК, виділеної з яєць непарного шовкопряда (рис. 2) було знайдено від 7 до 8 фрагментів геному комахи для кожного індивідуального спектру. Одержані результати свідчать про наявність генів у непарного шовкопряда, які є гомологічними гену-інгібітору апоптоза вірусу LdnVgp140.

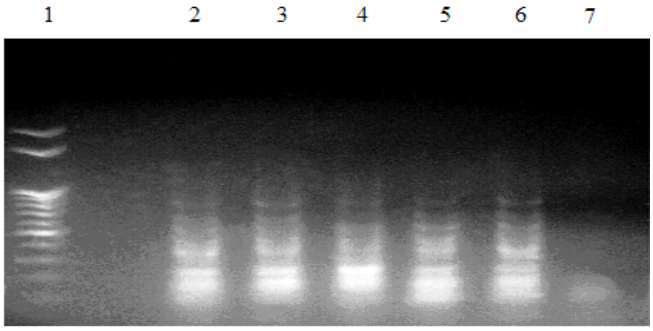

Рис. 2. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК непарного шовкопряда із специфічними праймерами: маркер молекулярних мас ДНК довжиною від 100 до 1000 п.н. з кроком в 100 п.н. і від 1000 до 3000 п.н. з кроком в 1000 п.н. (від низу до верху); 2–6 — індивідуальні електрофоретичні спектри ДНК особин непарного шовкопряда з яєць; 7 — контроль

Можливо, що деякі ДНК-фрагменти не є ділянками антиапоптозних генів непарного шовкопряда (насьогодні немає секвенованої послідовності геному непарного шовкопряда). Наявність великої кількості ділянок геному непарного шовкопряда, гомологічних гену-інгібітору апоптоза LdnVgp140, підвищує вірогідність впливу одноланцюгових ДНК-фрагментів вірусу на організм хазяїна.

Таким чином, були отримані дані, які підсилюють можливість впливу механізму ДНК-інтерференції ДНК-фрагментів антиапоптозного гена LdnVgp140 вірусу на клітини непарного шовкопряда.

Зовнішнє застосування коротких одноланцюгових фрагментів ДНК вірусу

Для вивчення впливу одноланцюгових фрагментів вірусної ДНК використали гусениць І–ІІ личинкових віків з трьох іранських яйцекладок. Зовнішньо застосовували водний розчин двох одноланцюгових фрагментів гену-інгібітору апоптоза клітин хазяїна

LdnVgp140. У середньому за 11-добовий період в експериментальних групах загинуло 53 % особин, що на 30 % в середньому більше, ніж в контрольних групах ($\chi 2 = 23{,}72$; df = 1; $P < 0{,}01$). Чутливість до одноланцюгових фрагментів ДНК вірусу істотно варіювала для різних яйцекладок (табл. 1).

Таблиця 1

Смертність гусениць I-II личинкового віку з експериментальних та контрольних груп трьох яйцекладок за 11-добовий період

	Контрольна група	Експериментальна группа	Критерій $\chi 2$
Яйцекладка 1	10 %	50 %	11,43*
Яйцекладка 2	10 %	33 %	5,03**
Яйцекладка 3	50 %	72 %	3,55***

Примітка: — *P<0,01; df = 1; — **P<0,025; df = 1; — ***P<0,1; df = 1; $\chi 2$-тест оцінює вірогідність відхилення частот смертності особин комахи у експериментальних групах від очікуваних

На наш погляд, це пояснюється поліморфізмом алелей антиапоптозних генів серед особин комахи. Іншими словами, інтенсивність дії фрагментів ДНК вірусу залежить від їх ступеню схожості з фрагментами ДНК хазяїна. В більшості випадків у межах однієї яйцекладки чутливість до ДНК-фрагментів вірусу не повинна коливатися сильніше, ніж для різних яйцекладок. Критерієм оцінки дії фрагментів антиапоптозних генів на комаху з різних яйцекладок може бути не тільки смертність особин непарного шовкопряда, але й динаміка смертності.

Динаміка смертності в експериментальних групах була в значній мірі схожою (рис. 3).

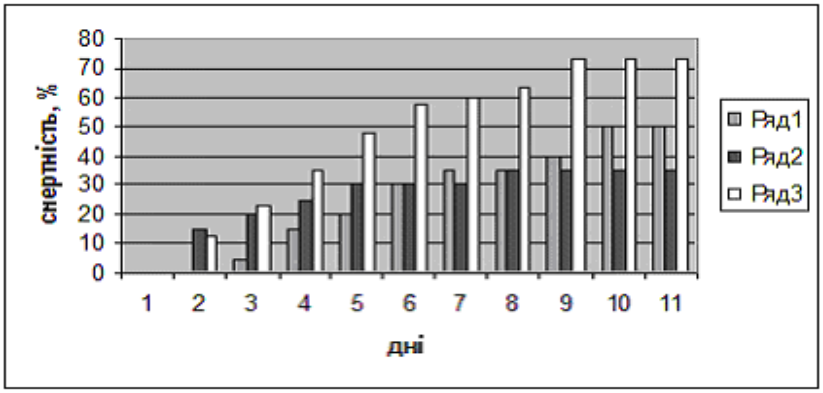

Рис. 3. Динаміка смертності гусениць непарного шовкопряда I-II личинкових віків після зовнішнього застосування одноланцюгових фрагментів ДНК вірусу: ряд 1 — гусениці з яйцекладки 1, ряд 2 — гусениці з яйцекладки 2, ряд 3 — гусениці з яйцекладки 3.

Було знайдено кореляційний зв'язок між динаміками смертності гусениць в експериментальних групах (табл. 2). У контрольних групах динаміка смертності гусениць не корелювала, за винятком пари яйцекладок 1,3. Отже, у контрольних групах не було фактору, який приводив би до синхронізації загибелі гусениць, а у дослідних групах був — ДНК-фрагменти вірусу.

Таблиця 2

Значення коефіцієнтів кореляції між динаміками смертності гусениць I–II личинкового віку з трьох яйцекладок за 11-добовий період

Яйцекладки	Значення коефіцієнта кореляції в групах експерименту	Значення коефіцієнта кореляції в контрольних групах
Яйцекладки 2,3	0,97*	0,42
Яйцекладки 1,3	0,95*	0,94*
Яйцекладки 1,2	0,92*	0,45

Примітка: — *(P<0.01)

Часова схожість в загибелі гусениць непарного шовкопряда в дослідних групах з різних яйцекладок вказує на існування єдиного механізму реакції на ДНК-фрагменти вірусу в особинах комахи. Загибелі організму передує загибель окремих його клітин. На наш погляд, ДНК-фрагменти вірусу програмують смерть клітини (апоптоз), використовуючи механізм ДНК-інтреференції. Цей механізм виключає антиапоптозні гени, які гомологічні одноланцюговим ДНК-фрагментам вірусу, що призводить до відключення синтезу антиапоптозних білків клітин хазяїна. Явище ДНК-інтерференції може спостерігатися при звичайному зараженні вірусом клітин хазяїна. Короткі одноланцюгові фрагменти антиапоптозного гену LdnVgp140 є ДНК-маркерами можливості існування цього процесу.

Потрібно відзначити, що смертність гусениць спостерігалася через короткий проміжок часу (2–3 дні), тоді як при експериментальному зараженні личинок комах вірусами-збудниками ядерних поліедрозів інкубаційний період хвороби триває від 5 до 10–12 діб і більше [15]. Це вказує на більш швидку дію ДНК-фрагментів вірусу на клітини хазяїна порівняно з вірусними біопрепаратами.

Дію ДНК-фрагментів вірусу було також перевірено на гусеницях II–III личинкового віку з природної популяції. За 11-добовий період у експериментальній групі загинуло 15 % особин, тоді як у контролі загибелі не було (рис. 4).

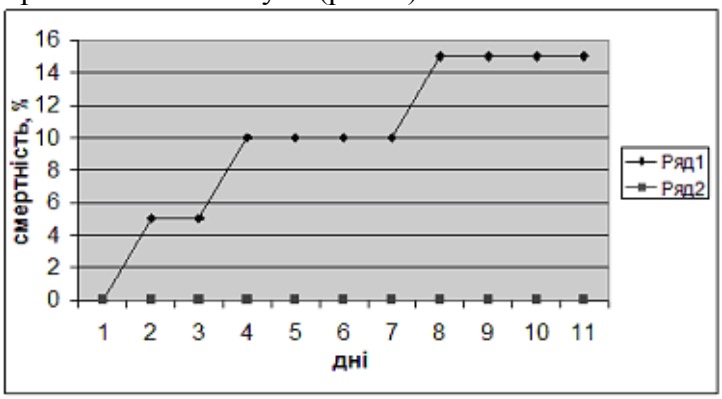

Рис. 4. Динаміка смертності гусениць непарного шовкопряда II-III личинкових віків після зовнішнього застосування одноланцюгових фрагментів ДНК вірусу: ряд 1 — гусениці з дослідної групи, ряд 2 — гусениці з контрольної групи

Було знайдено достовірний кореляційний зв’язок між динаміками смертності гусениць з природної (зібрані у природі, але заражені у лабораторії) та лабораторних популяцій (табл. 3). Схожа динаміка смертності гусениць непарного шовкопряда з природної та лабораторних популяцій ($P < 0,01$) вказує на однакові механізми впливу ДНК-фрагментів вірусу на організм комахи. Можливо, що менша смертність у цьому експерименті є наслідком того, що для експерименту було використано більш старших, і тому більш стійких личинок комахи.

Таблиця 3

Значення коефіцієнтів кореляції між динаміками смертності гусениць I–III личинкового віку за 11-добовий період

Яйцекладки, природна популяція (пп)	Значення коефіцієнта кореляції в групах експерименту
Яйцекладка 1, пп	0,91*
Яйцекладка 2, пп	0,96*
Яйцекладка 3, пп	0,95*

Примітка: — *($P<0,01$)

Внутрішнє застосування коротких одноланцюгових фрагментів ДНК вірусу. Для перорального зараження гусениць непарного шовкопряда I-го личинкового віку з природної популяції застосовували водний розчин одноланцюгових фрагментів ДНК вірусу.

За 14-добовий період в експериментальній групі загинуло 9,3 % особин, а у контрольній групі — 2,3 %. Коефіцієнт кореляції між контрольною та експериментальною групами за 7 діб склав 0,64 ($P > 0,05$), а за 14 діб — 0,57 ($P > 0,05$). Це свідчить про те, що ДНК-фрагменти вірусу подіяли у експериментальній групі.

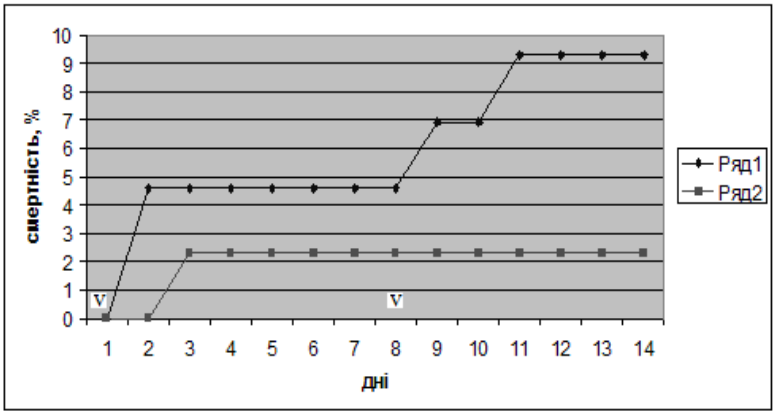

Рис. 5. Динаміка смертності гусениць непарного шовкопряда I личинкового віку після перорального застосування одноланцюгових фрагментів ДНК вірусу: ряд 1 — гусениці з експериментальної групи; ряд 2 — гусениці з контрольної групи; V — дні зараження

Привертає увагу смертність особин в експериментальній групі, яка двічі починалась на 2 добу після зараження і приводила до зниження чисельності на 4–5 %. Коефіцієнт кореляції між динаміками смертності у дослідній групі за два 7-добові періоди (1–7 та 8–14) склав 0,79 ($P < 0,05$) (рис. 5). Вважаємо, що і у разі перорального використання одноланцюгові ДНК-фрагменти вірусу подіяли на гусениць. Враховуючи наявність нуклеаз у травному тракті гусениць, поки важко пояснити подібне явище. Не виключено потрапляння одноланцюгових фрагментів ДНК вірусу на покриви гусениць під час харчування, що могло привести до смерті гусениць (зовнішня дія).

Таким чином, використані зовнішньо та внутрішньо короткі одноланцюгові фрагменти ДНК (фрагмент гену-інгібітору апоптоза клітин хазяїна) вірусу обумовлюють підвищення смертності гусениць непарного шовкопряда I–III личинкових віків з природних та лабораторних популяцій. Дію фрагментів антиапоптозних генів вірусу на клітини хазяїна, було презентовано у вигляді схеми (рис. 6).

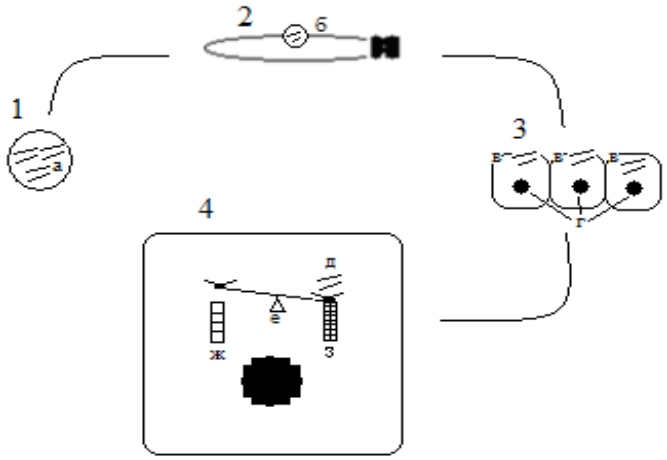

Рис. 6. Схема дії фрагментів ДНК вірусу на його хазяїна:
1 — водний розчин одноланцюгових ДНК-фрагментів вірусу; 2 — гусениця непарного шовкопряда; 3–4 — клітини непарного шовкопряда; а — одноланцюгові ДНК-фрагменти вірусу; б — кутикула комахи; в — цитоплазматична мембрана; г — ядро клітини; д — ДНК-інтерференція; е — «терези» апоптозу-антиапоптозу; ж — сигнал до антиапоптозу; з — сигнал до апоптозу

Виявлений кореляційний зв’язок між динаміками смертності гусениць дослідних груп лабораторних та природних популяцій говорить про схожість процесів, які протікають в гусеницях після використання одноланцюгових ДНК-фрагментів вірусу.

Відомо, що існують білки, які сприяють і білки, які перешкоджають розвитку апоптозу. Результат їх впливу дуже часто залежить від відносної концентрації певних білків-регуляторів [16]. Цей процес може бути представлений у вигляді «терезів» апоптозу-антиапоптозу (рис. 6). Різні чинники впливають на цей бінарний процес, внаслідок чого «терези» апоптозу-антиапоптозу схиляються то в один, то в інший бік. Це триває до певної

критичної відмітки, після якої сигнал до апоптозу або антиапотозу стає незмінним (для антиапопитозу — на деякий час). ДНК-фрагменти вірусу зміщують біохімічні реакції клітини у бік апоптозу і основну роль в цьому, на нашу думку, відіграє явище ДНК-інтерференції або процес, схожий на неї. ДНК-інтерференція блокує синтез антиапоптозних білків, що призводить до апоптозу окремих клітин, а в окремих випадках — до загибелі організму. Короткі одноланцюгові фрагменти антиапоптозного гену LdnVgp140 є ДНК-маркерами цього процесу.

В И С Н О В К И

1. Зовнішнє та внутрішнє використання розчину коротких одноланцюгових фрагментів ДНК (фрагмент гена-інгібітора апоптоза клітин хазяїна, GeneID:1488470) вірусу ядерного поліедрозу підвищує смертність гусениць непарного шовкопряда. Встановлено кореляційні зв'язки між динаміками смертності гусениць дослідних груп, що вказує на схожість процесів, які протікають у клітинах гусениць після обробки розчином ДНК-фрагментів вірусу.
2. Підвищення смертності гусениць непарного шовкопряда ДНК-фрагментами вірусу свідчить про можливість існування механізму ДНК-інтерференції у системі взаємовідносин вірус ядерного поліедрозу–непарний шовкопряд.

Перспективи подальших досліджень. Досліджена дія ДНК-фрагментів вірусу може бути використана для створення швидкодіючих інсектицидів на основі ДНК для захисту рослин від непарного шовкопряда [17].

ВЛИЯНИЕ ОДНОЦЕПОЧЕЧНЫХ ДНК-ФРАГМЕНТОВ ВИРУСА ЯДЕРНОГО ПОЛИЭДРОЗА НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА (*LYMANTRIA DISPAR* NUCLEOPOLYHEDROVIRUS) НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ГУСЕНИЦ НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА (*LYMANTRIA DISPAR)*

В. В. Оберемок

А Н Н О Т А Ц И Я

Показано, что внешнее и внутреннее использование коротких одноцепочечных ДНК-фрагментов вируса ядерного полиэдроза приводят к повышению смертности гусениц его хозяина непарного шелкопряда. Похожая динамика гибели гусениц непарного шелкопряда в опытных группах из разных яйцекладок указывает на существование единого механизма реакции на ДНК-фрагменты вируса в особях насекомого. ДНК-фрагменты вируса смещают биохимические реакции клетки в сторону апоптоза и основную роль в этом, по нашему мнению, играет явление ДНК-интерференции или процесс похожий на нее. ДНК-интерференция при участии ДНК-фрагментов вируса блокирует синтез антиапоптозных белков, который приводит к апоптозу отдельных клеток, а в ряде случаев к гибели организма. Короткие одноцепочечные фрагменты антиапоптозного гена вируса являются ДНК-маркерами возможности существования ДНК-интерференции в системе взаимоотношений вирус-хазяин. Такое действие ДНК-фрагментов вируса может быть использовано для создания быстродействующих инсектицидов на основе ДНК.

INFLUENCE OF SINGLE CHAIN DNA FRAGMENTS OF *LYMANTRIA DISPAR* NUCLEOPOLYHEDROVIRUS ON VIABILITY OF GYPSY MOTH CATERPILLARS

V. V. Oberemok

S U M M A R Y

It is shown that the external and internal use of short single chain DNA fragments of Lymantria dispar Nucleopolyhedrovirus is correlated with the increase of death rate of gypsy moth caterpillars. The similar dynamics of death rate of gypsy moth caterpillars in experimental groups from different egg masses specifies on existence of the unique mechanism of reaction on DNA fragments of virus in the individuals of insect. DNA-fragments of virus displace the biochemical reactions of host's cell toward apoptosis and in our opinion basic role in this phenomenon plays DNA-interference or process similar to it. DNA-interference with participation of DNA fragments of virus blocks the synthesis of antiapoptosis proteins, which results in apoptosis of separate cells, and in a number of cases in death of organism. Short single chain fragments of virus antiapoptosis gene are the DNA-markers of existence possibility of DNA-interference in the system of mutual relations between virus and host. Such action of DNA fragments of virus can be used for creation of fast-acting insecticides on a base of DNA.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Evans H. F.* Persistence of insect viruses / Evans H. F., Harrap K. A. ; In: Minson A. C., Darby G. K. (Eds) // Virus Persistence. SGM Symposium. — Cambridge : Cambridge University Press, 1982. — P. 57–96.

2. *Miller L. K.* Baculovirus interaction with host apoptotic pathways / Miller L. K. // Journal of Cellular Physiology. — 1997. — P. 173–182.

3. *Vlak J. M.* Genetic engineering of baculoviruses for insect control / Vlak J. M. ; In: Oakeshott J., Whitten M. J. (Eds) // Molecular approaches to fundamental and applied entomology. — New York : Springer-Verlag, 1992. — P. 90–127.

4. *Moscardi F.* Assessment of the application of baculoviruses for control of lepidoptera / Moscardi F. // Annual review of entomology. — 1999. — Vol. 44. — P. 257–289.

5. *Kawai-Toyooka H.* DNA interference: a simple and efficient gene-silencing system for high-throughput functional analysis in the fern *Adiantum* / Kawai-Toyooka H., Kuramoto C., Orui K. et all // Plant and Cell Physiol. — 2004. — V. 45. — P.1648–57.

6. *Оберемок В. В.* Разработка биопрепаратов на основе нуклеиновых кислот : Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии : материалы Междунар. науч. конф., Минск, 2–6 июня 2008 / Оберемок В. В. — Минск, 2008. — Т. 2 —374 с.

7. *Тыщенко В. П.* Физиология насекомых / Тыщенко В. П. — М. : Высшая школа, 1986. — 330 с.

8. *Bertin J.* Apoptic supression by baculovirus P35 involves cleavage by and inhibition of a virus induced CED — 3/ICE-like protease / Bertin J., Mendrysa S. M., LaCount D. J., et all // J. Virol. — 1996. —V. 70. — P. 6251–6259.

9. *Manji G. A.* Baculovirus inhibitor of apoptosis functions at or upstream of the apoptotic supressor P35 to prevent programmed cell death / Manji G. A., Hozar R. R., LaCount D. J., Friesen P. D. // J. Virol. — 1997. —V. 71. — P. 4509–4516.

10. *Hughes A. L.* Evolution of inhibitors of apoptosis in baculoviruses and their insect hosts / Hughes A. L. // Infect. Genet. Evol. — 2002. — Vol. 2. — P. 3–10.

11. *Sambrook J.* Molecular Cloning : Laboratory Manual / Sambrook J., Fritisch E. F., Maniatis T. — New York : Cold Spring Harbour Univ. Press, 1989. — 1626 p.

12. *Kuzio J.* Sequence and analysis of the genome of a baculovirus pathogenic for *Lymantria dispar* / Kuzio J., Pearson M. N., Harwood S. H. et all // Virology. — 1999. — Vol. 253. — P. 17–34.

13. *Зиновьева Л. А.* Биологические методы борьбы с вредителями растений / Зиновьева Л. А., Захарченко И. С. — Рига : Зипатия, 1968. — С. 17–20.

14. *Рокицкий П. Ф.* Биологическая статистика / Рокицкий П. Ф. — Минск : Вышейш. школа, 1973. — 320 с.

15. *Гулий В. В.* Вирусные болезни насекомых и их діагностика / Гулий В. В., Рыбина С. Ю. — Кишинев, 1988. — 187 с.

16. *Агол В. И.* Генетически запрограммированная смерть клетки / Агол В. И. // Соросовский образовательный журнал. — 1996. — С. 20–24.

17. Пат. №36445 України МПК (2006) A01M 1/20. Засіб знищення листогризучих комах з ряду лускокрилих / В. В. Оберемок. — Опубл. 27.10.2008. ; бюл. № 20,.

Рецензент: завідувач кафедри екології та раціонального природокористування Таврійського національного університету ім. В. І. Вернадського, доктор біологічних наук, професор А. В. Івашов.