

Корисна модель стосується області сільського господарства.

Відомий спосіб використання стильбенового з'єднання як активатор схованої вірусної інфекції в комах при захисті сільськогосподарських і лісових культур [Black B.C. Potentiation of epizootic viral infections // Patent USA №5879674.- 1999.-Р. 1-6].

Спосіб включає введення 4, 4' - діаміно-2, 2' - стильбен дисульфонової кислоти й солей кислоти в якості активатора вірусу, у їжу для лускокрилих, двокрилих, прямокрилих або розпилення активатора з додаванням зволожників, емульсифікаторів і адгезивів.

Недоліком способу є повільне нагромадження вірусних поліедрів у гусениць і відсутність вибіркової дії для інших живих організмів.

В основу корисної моделі поставлене завдання вдосконалити спосіб активзації латентного вірусу ядерного поліедроза у лускокрилих шляхом впливу продуктами ампліфікації ДНК вірусних поліедрів, що забезпечує активізацію латентного вірусу в гусеницях 1-го личинного віку й стрімке його нагромадження.

Поставлене завдання вирішується тим, що в способі активзації латентного вірусу ядерного поліедроза у лускокрилих, що включає вплив активатором на організм гусениць, відповідно до корисної моделі, наносять біологічну речовину, що містить фрагменти ДНК вірусу ядерного поліедроза хазяїна на поверхню тіла гусениць у кількості не менш 10^6 фрагментів ДНК в обсязі 0,04-0,06мкл речовини, що забезпечує збільшення швидкості нагромадження вірусних поліедрів, вибіркової дії вірусу.

Спосіб реалізується таким чином. Біологічна речовина, що містить не менш 10^6 фрагментів ДНК в обсязі 0,04-0,06мкл, наносять на тіло гусениці, заражаючи її вірусом. Після закінчення часу через 18-22 годин заражені гусениці гинуть, їх розтирають і мікро скопіюють. Дослідження показали значне нагромадження вірусних поліедрів (див. таблиця).

Приклад.

Для активзації латентного вірусу використали яйця непарного шовкопряда. Через 11-13 годин після виходу з яєць личинок 1-го віку на поверхню тіла 14 гусениць нанесли по 0,04-0,06мкл розчину продуктів ампліфікації ДНК вірусних поліедрів.

Розчин одержують таким чином.

Екстракцію тотальної ДНК проводили з використанням комплекту «Днк-сорб-А» варіант 100 фірми АмплиСенс (по інструкції). Активізацію латентного вірусу ядерного поліедроза непарного шовкопряда проводять за допомогою продуктів ампліфікації ДНК вірусних поліедрів, отриманих методом RAPD-PCR з використанням праймера ОРА-08. RAPD-PCR проводили в реакційній суміші обсягом 29мкл на термоциклері «Терцик» (Днк-технологія, Росія) з використанням реактивів для полімеразної ланцюгової реакції «АмплиСенс-200-1» (АмплиСенс, Москва). Реакційна суміш обсягом 29мкл містила: 5-х PCR-буфер - 5мкл; $MgSO_4$, 50Мм - 1.5мкл; H_2O Milli - 3мкл; dNTP-mix - 2.5мкл, 2 Мм; T_{aq} -полімераза, 5од/мкл - 0.5мкл; мінеральне масло - 10.5мкл; праймер, A_{260} 10 ОЕ/мол - 1мкл; Т-буфер з дослідженою ДНК - 5мкл. RAPD-PCR проводили в режимі: денатурація 93°C - 1хв, відпал 35°C - 1хв, синтез 72°C - 1хв - 5 циклів; денатурація 93°C - 0.5хв, відпал 35°C - 0.5хв, синтез 72°C - 0.5хв - 40 циклів. Термінальну стадію синтезу проводили при 72°C - 3хв. Продукти ампліфікації розділяли методом електрофореза в 1,8 %-ном агарозном гелі.

Для проведення RAPD-PCR використали праймер ОРА-08 (GTGACGTAGG). Розчин містив 7 фрагментів ДНК різної довжини в сумі складових приблизно 1200 п. н. Концентрація кожного з 7 фрагментів ДНК становила 10^6 фрагментів на 0.05мкл розчину. Після зараження кожену гусеницю помістили в окрему пробірку. Як контроль використали 6 гусениць, заражених описаним вище способом із застосуванням того ж розчину, але не утримуючих фрагментів ДНК (II група). Через 18-22 години гусениць із I і II груп розтирали й мікроскопіювали.

Виявлено достовірну відмінність між I і II групами в нагромадженні вірусних поліедрів ($F > F_{0.001}$). В I групі нагромадження вірусних поліедрів ішло в середньому в 9.7 рази швидше, ніж в II групі. Отже, саме ампліфікованні фрагменти ДНК вірусу викликають стрімке нагромадження вірусних поліедрів, вірогідність розходжень вибірових середніх за критерієм Фишера в порівнянні з контролем ($F > F_{0.001}$; $F = 80.01$); зазначений 99.9 % довірчий інтервал.

Запропонований спосіб активзації латентного вірусу має вибірковість у дії, безпечний для інших живих організмів. Активізує латентний вірус у гусеницях 1-го личинного віку. Спосіб активзації латентного вірусу ядерного поліедроза у лускокрилих

Таблиця

	Кількість поліедрів, 0.00025 мкл	Розмір поліедрів, мкм
I група	$19.85 \pm 10.6^*$	0.168 ± 0.049
II група (контроль)	2.04 ± 1.6	0.242 ± 0.048