



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **49463** (13) **U**
(51) МПК (2009)
A01K 67/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ТРИВАЛОГО ЗБЕРІГАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ КУЛЬТУР ПАРАЗИТА ЛІЗІФЛЕБУСА (LYSIPHLEBUS FABARUM MARSH.)

1

2

(21) u200912537

(22) 03.12.2009

(24) 26.04.2010

(46) 26.04.2010, Бюл.№ 8, 2010 р.

(72) ДРОЗДА ВАЛЕНТИН ФЕДОРОВИЧ

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

(57) Спосіб тривалого зберігання лабораторних культур паразита лізіфлебуса (*Lysiphlebus fabarum* Marsh.), що включає утримання паразита в організмі комахи-хазяїна, який **відрізняється** тим, що перед процесом зараження самицями лізіфлебуса личинок попелиць проводять їх спаровування та згодовують самицям діету у складі 5 %-ного вод-

ного розчину меду, сумісно з 0,002 %-ним водним розчином нативної рибонуклеїнової кислоти (РНК), крім того, зберігають їх в організмі комах-хазяїнів - личинках 3-4-го віків попелиць, крім того, на стадії 2-3-го віків лізіфлебуса утримують впродовж двох діб за температури повітря 14-16 °С, відносної вологості повітря 75-78 %, за тривалості світлового дня 11-12 годин, крім того, впродовж трьох діб утримують лізіфлебуса за температури повітря 10-11 °С та відносної вологості повітря 75-78 %, тривалості світлового дня 9 годин, крім того, далі зберігають біоматеріал у холодильнику за температури 2,5-3,5 °С та відносної вологості повітря 78-83 %.

Корисна модель відноситься до сільського господарства, зокрема до галузі масового вирощування лабораторних культур комах для потреб біологічного контролю чисельності шкідників в агроценозах. Спосіб може бути використаний в сучасних технологіях масового лабораторного вирощування культур ентомофагів.

Відомо, що складовою частиною сучасних інтегрованих технологій масового вирощування ентомофагів для потреб захисту рослин є їх зберігання - коротко- та довготермінове (Шейко Э.С. Разработка методов хранения насекомых энтомофагов. Автор дисс. канд. биол. наук. - К.: 1986, 22 с). Для цього використовують різноманітні способи та пристосування переважно шляхом регулювання умовами температури та вологості повітря. Найбільш повно та детально обґрунтовано способи зберігання лабораторних популяцій видів роду трихограми (Шляхтич В.А., Гринберг Ш.М., Заславский В.А. Методические указания по хранению и реактивации хозяйственно-значимых видов трихограммы. - М.: ВАСХНИИЛ, 1989, 12 с). Проте, що стосується зберігання інших видів ентомофагів, відомий спосіб не поширюється.

Відомий також спосіб формування діапаузи популяцій трихограми, що передбачає утримання паразита за різних умов температури та вологості повітря. Наводиться операційна технологія

підготовки біоматеріалу до діапаузування та реактивації трихограми (Игнатко Н.И. Приёмы совершенствования технологии хранения трихограммы, повышение эффективности ее применения в борьбе с вредителями сельскохозяйственных культур. Автореф. дисс. канд. с.-х. наук. - К.: 1983, 20 с). Проте, ефективність способу не поширюється на лізіфлебуса.

Відомий спосіб тривалого зберігання трихограми, який є найбільш близьким технічним рішенням до способу, що пропонується і вибраний в якості найближчого аналога (Дрозда В.Ф. Спосіб тривалого зберігання трихограми. Патент України №22644. МПК А01К 67/00. Опубл. 25.04.2007. Бюл. № 5).

Спосіб викладений у найближчому аналозі полягає у тому, що зберігають трихограму у біолабораторіях в яйцях лускокрилих комах за температури повітря 2,5±1,5°С та відносній вологості повітря 82±3%. Біоматеріал зберігають на відкритій поверхні шаром товщиною 1,5-2,0см. До біоматеріалу додають наповнювач - оксин у кількості 0,5% від загальної його маси. Реалізація способу забезпечила життєздатність трихограми в період її реактивації на рівні 88,5%.

Проте, спосіб-найближчий аналог має такі недоліки: невідновлена позитивна дія способу по відношенню до лабораторних культур лізіфлебуса.

(13) **U**

(11) **49463**

(19) **UA**

В основу корисної моделі поставлене завдання експериментально обґрунтувати спосіб тривалого зберігання лабораторних культур паразита лізіфлебуса (*Lysiphlebus fabarum* Matrsh.). Ставилось завдання обґрунтувати оптимальні параметри тривалого, понад 100 днів, зберігання паразита багатьох видів попелиць в умовах біолабораторії зі збереженням визначальних біологічних та технологічних характеристик лізіфлебуса.

Поставлене завдання досягається тим, що послідовно реалізуються суттєві елементи запропонованого способу. Зокрема, перший з них передбачає отримання імаго лізіфлебуса. Після їх відродження проводять спаровування з негайним згодовуванням самицям дієти у складі 5%-ного водного розчину меду, сумісно з 0,002%-ним водним розчином нативної рибонуклеїнової кислоти (РНК). Інша суттєва відміна способу передбачає зараження самицями паразита та зберігання їх в організмі комах-хазяїнів - личинках 3-4-го віків попелиць. Суттєвим є те, що на стадії 2-3-го віків лізіфлебуса утримують впродовж двох діб за температури повітря 14-16°C, відносні вологості повітря 75-78%. Тривалість світлового дня становить 11-12 годин. Інша суттєва відміна способу передбачає впродовж трьох діб утримувати лізіфлебуса за температури повітря 10-11°C та відносній вологості повітря 75-78%, тривалості світлового дня 9 годин. Наступна суттєва відміна способу передбачає утримання біоматеріалу у холодильнику за температури 2,5-3,5°C та відносні вологості повітря 78-83%.

Суть запропонованого способу полягає у тому, що експериментально обґрунтовують оптимальні параметри гідротермічного режиму та умов фотоперіоду, тривалого зберігання лізіфлебуса. Важливим аспектом способу є те, що спосіб передбачає фізіологічну підготовку організму паразита для тривалої біологічної консервації. Зокрема, обґрун-

товані оптимальні стадії розвитку попелиць - комах-хазяїнів лізіфлебуса. Як відомо, паразит заражає усі стадії личинок попелиць. У способі обґрунтовано оптимальні параметри цього елементу. Білково-вуглеводнева дієта для самиць паразита - визначальна ознака високожиттєздатних дочірніх поколінь паразита.

ПРИКЛАД ЗДІЙСНЕННЯ СПОСОБУ

Типова біолабораторія, де вирощують лабораторні популяції паразитичних комах. Культура лізіфлебуса - паразита багатьох, понад 560 видів попелиць. Усі передімагінальні фази його розвиваються в організмі попелиць. Як і усі афідіїди, з характером та функціонуванням статеві системи відноситься до проовігених видів. Це означає, що статеві продукція у них формується на стадіях перед лялечки та лялечки, і імаго відроджується з готовими для відкладання яйцями. Самиці реалізують статеву продукцію майже не потребуючи додаткового живлення. Як правило імаго живуть 3-4 дні.

Для обґрунтування способу формували дослідні варіанти, яких було два та контроль. У варіанті, де обґрунтовували запропонований спосіб послідовно реалізовували суттєві вимоги: отримували дорослих особин, проводили спаровування з самцями і зразу самицям пропонували дієту - 5%-ний водний розчин меду, сумісно з 0,002%-ним водним розчином нативної рибонуклеїнової кислоти (РНК). На стадії личинок 2-3-го віків лізіфлебуса утримували впродовж двох діб за температури повітря 14-16°C, відносні вологості повітря 75-78% та Т тривалості світлового дня 11-12 годин. Далі впродовж трьох діб паразита утримували за температури повітря 10-11°C та відносній вологості повітря 75-78%, тривалості світлового дня 9 годин. Біоматеріал зберігали у холодильнику за температури 2,5-3,5°C та відносні вологості повітря 78-83%.

Таблиця

Результати обґрунтування способу тривалого зберігання паразита попелиць лізіфлебуса

Способи, що порівнюються	Життєздатність паразита в період реактивації, %	Плодючість самиць, яєць/самицю після 60 днів зберігання		Характеристики лізіфлебуса після 120 днів зберігання			Позитивний результат
		потенційна	реальна	відродження, %	плодючість, яєць	заражено личинок, %	
Спаровування самиць; Дієта для імаго; Зберігання в личинках попелиць; Процес зберігання у холодильнику (спосіб, що пропонується)	89,4	357,4	130,1	67,9	121,4	59,8	Спосіб створює оптимальні умови для процесу тривалого зберігання культури. Популяція життєздатна після реактивації

Продовження таблиці

Способи, що порівнюються	Життєздатність паразита в період реактивації, %	Плодючість самиць, яєць/самицю після 60 днів зберігання		Характеристики лізіфлебуса після 120 днів зберігання			Позитивний результат
		потенційна	реальна	відродження, %	плодючість, яєць	заражено личинок, %	
Зберігали за температури 2,5°C вологості повітря 82%; Шар біоматеріалу товщиною 2,0см; Наповнювач - оксин 0,5% (спосіб-найближчий аналог)	77,8	318,2	93,8	49,6	86,8	36,7	Спосіб не забезпечує процес тривалого зберігання лізіфлебуса
Контроль	62,4	288,5	82,4	40,5	73,3	30,1	Підтримується культура паразита в мінімальних параметрах
HIP ₀₅	-	6,2	4,8	3,7	4,1	3,6	-

У варіанті, де проводили зберігання лізіфлебуса, згідно способу - найближчого аналога, використовували суттєві його елементи: зберігання біоматеріалу проводили за температури повітря 2,5±1,5°C, вологості повітря 82±3%. Утримували паразита на відкритій поверхні шаром товщиною 1,5-2,0см. До біоматеріалу додавали наповнювач - оксин у кількості 0,5% від загальної його маси. Контрольний варіант - лабораторні культури лізіфлебуса утримувались та зберігались за стандартних умов, без будь-якої дії по відношенню до них. Для оцінки ефективності способів, величини можливого позитивного результату використовували най-

більш інформативні об'єктивні тестові характеристики. Отриманий цифровий матеріал обробляли статистично. Результати досліджень наведено у таблиці.

Встановлено, що поставлене завдання і успішно реалізовано. В межах суттєвих елементів обґрунтовано спосіб тривалого зберігання лабораторних культур паразита лізіфлебуса. Отримані цифрові показники тестових характеристик суттєво перевищують аналогічні показники найближчого аналога. Після 120 днів зберігання лабораторна культура лізіфлебуса була життєздатною, самиці відкладали яйця у личинки попелиць.