



УКРАЇНА

(19) UA (11) 80766 (13) C2
(51) МПК
A01K 67/04 (2006.01)МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ШТУЧНЕ ПОЖИВНЕ СЕРЕДОВИЩЕ ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ GALLERIA MELONELLA L., ЩО Є ЖИВИТЕЛЕМ ХОЙОЙ

1

2

(21) а200512470

(22) 23.12.2005

(24) 25.10.2007

(72) МОРОЗ МИКОЛА СЕРГІЙОВИЧ, UA

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ,
UA

(56) RU C1 2038086, 27.06.1995

RU C1 2210210, 20.08.2003

RU C2 2215428, 10.11.2003

UA U 8848 15.08.2005

(57) Штучне поживне середовище для вирощування *Galleria melonella* L., що є живителем хойой, що містить: висівки пшеничні, борошно пшеничне, борошно кукурудзяне, сухі пивні або пекарські дріжджі, мед бджолиний, сухе молоко, гліцерин 50%-ий, мерву пасічну і воду, яке **відрізняється** тим, що додатково містить загальні ліпіди греди китайської дубової пряжки моновольтинної породи Поліський тасар грабової спеціалізованої лінії Рівненської популяції, отримані на шостий день її інкубації, що містять: метилові ефіри жирних кислот - 2,64-3,87 % ; вільні жирні кислоти - 4,32-6,09 %; тригліцериди - 1,51-3,28 %; холестерин - 0,44-1,18 %; фосфоліпіди (нейтральні ліпіди, фосфатидилетанол амін, фосфатидилхолін, фосфатидилсерин, сфінгомелін) - 5,77-7,19 %, подвійний дигідрофосфат марганцю - кобальту, в

якому вміст інгредієнтів у перерахунку на оксиди, мас. %: марганцю - 0,26-24,65, кобальту - 25,76-0,25, фосфору - 49,13-49,83, води - 24,85-25,27, суміш фітоекдистероїдів у вагових співвідношеннях відповідно 0,5:0,0125, наступні екдистероїди: 1-оксіекдистерон ($C_{27}H_{44}O_8$); 26-оксіекдистерон ($C_{27}H_{44}O_8$), нікотинамід, фолієву кислоту, рутин, кальцію пентотенат при наступному співвідношенні компонентів, мас %:

висівки пшеничні

борошно пшеничне

борошно кукурудзяне

сухі пивні або пекарські дріжджі

мед бджолиний

сухе молоко

гліцерин 50%-ий

мерва пасічна

цукор

ліпіди греди китайської дубової пряжки моновольтинної породи Поліський тасар грабової спеціалізованої лінії Рівненської популяції, отримані на шостий день її інкубації

подвійний дигідрофосфат марганцю - кобальту

суміш фітоекдистероїдів

нікотинамід

фолієва кислота

рутин

кальцію пентотенат

вода

Винахід відноситься до лісового і сільського господарств, конкретно до ентомологічних технологій, і може використовуватись у технічній ентомології для вирощування лабораторних, лабораторно-польових та комерційних культур ентомофагів з метою збереження генетичних ресурсів та видового різноманіття комах, збалансованого використання біологічних ресурсів корисних комах для потреб людини, отримання на основі ентомологічних технологій економічної вигоди, що пов'язана із застосуванням ентомофага хойой як біологічного засобу боротьби з шкідливим карантинним фітофагом - американським білим метеликом.

Відоме штучне живильне середовище для вирощування живителя хойой - великої воцїної моли (*Galleria melonella* L.) [Мельник П.О., Колісниченко Л.І., Сикало О.О. Методика масового розведення ентомопаразитоїда АБМ хойой. Методичні вказівки розроблені Українською науково-дослідною станцією карантину рослин та ЦНДКЛ Укрголовдержжарантин. - Чернівці. - 2000. - 15с.] - контрольний варіант, в склад якого входять висівки пшеничні, борошно пшеничне, борошно кукурудзяне, сухі пивні або пекарські дріжджі, мед бджолиний, сухе молоко, гліцерин, мерва, цукор при наступному вмісті компонентів, грам на один кілограм штучного живильного середовища: висівки пшеничні - 130-200, борошно пшеничне -

C2

(13)

(11) 80766

(19) UA

110-140, борошно кукурудзяне - 130-160, сухі пивні або пекарські дріжджі - 90-65, мед бджолиний - 90-0, сухе молоко - 90-0, гліцерин 50%-ий - 160-150, мерва - 200-200, цукор - 0-85. На час приготування вищеописаного штучного живильного середовища наважку мерви прогрівали і гарячу подрібнювали якомога дрібніше. Зважені сухі компоненти ретельно перемішували з підготовленою мервою. Створену суміш прогрівали при температурі +80-90°C на протязі 5-6 годин, після чого додавали рідкий мед і гліцерин. Все знову добре перемішували. Готове штучне живильне середовище ставало рихлим та сипучим. Якщо у склад штучного живильного середовища входив цукор або гліцерин 50%-ий, то в цукор добавляли 50мл води яку підігрівали до повного розчинення цукру, після чого додавали мед і гліцерин. Добре перемішаною сумішшю рідких компонентів заливали суху частину середовища і знову ретельно змішували. Готове штучне живильне середовище зберігали в чистих скляних банках або поліетиленових пакетах у холодильнику при +5°C. Зібрані в один день яйцекладки великої вошинної молі поміщали в скляні банки об'ємом 0,2-0,5л. В банки по 0,2л поміщали до 250, а об'ємом 0,5л - 500 яєць. Отвори банок накривали щільною тканиною, закріплюючи її гумкою, та поміщали на інкубацію при температурі +26-28°C, вологості повітря 60%. Через 3-4 доби насипали вищеописане штучне живильне середовище, відповідно, 30-50г і знову інкубували яйця великої вошинної молі в оптимальних умовах. Відродження гусені відбувалося через 8-10 днів. Коли гусениці переходили в третій вік, їх перемішували в садки більших розмірів де вирощували до одержання лялечок галлерії (*Galleria melonella* L.). При догляді за гусеницями галлерії та зараження ентомопаразитом лялечок живителя враховували загальні рекомендації відображені в технології масового розведення хойойі (*Chouioia cunea* Jang.) в лабораторно-промислових умовах [Мельник П.О., Колісниченко Л.І., Сикало О.О. Методика масового розведення ентомопаразитоїда АБМ хойойі. Методичні вказівки розроблені Українською науково-дослідною станцією карантину рослин та ЦНДКЛ Укрголовдержжарантин. - Чернівці. - 2000. - 15с.].

Недоліком відомого живильного середовища є те, що годівля на ньому гусениць великої вошинної молі (*Galleria melonella* L.) не забезпечує оптимальних умов линяння і їх виживання, високих показників маси кладки та кількості відкладених яєць живителя, оживлення і виживання відроджених личинок, збереження під час довготривалого зберігання поживних якостей лялечок живителя для розвитку хойойі (*Chouioia cunea* Jang.).

Винаходом ставиться завдання: підвищення виживання гусениць у період линяння, збільшення показників маси кладки та кількості відкладених яєць самицями великої вошинної молі, оживлення і життєздатність відроджених личинок, збереження під час довготривалого зберігання поживних

якостей лялечок великої вошинної молі для розвитку хойойі.

Поставлене винаходом завдання досягається тим, що штучне живильне середовище для вирощування живителя хойойі, що містить: висівки пшеничні, борошно пшеничне, борошно кукурудзяне, сухі пивні або пекарські дріжджі, мед бджолиний, сухе молоко, гліцерин 50%-ий, мерву і воду, згідно винаходу (додатково містить загальні ліпіди грени китайської дубової прядки моновольтинної породи Поліський тасар грабової спеціалізованої лінії Рівненської популяції отримані на шостий день її інкубації, що містять: метилові ефіри жирних кислот - 2,64-3,87%; вільні жирні кислоти - 4,32-6,09%; тригліцериди - 1,51-3,28%; холестерин - 0,44-1,18%; фосфоліпіди (нейтральні ліпіди, фосфатиділ-етанол амін, фосфатиділхолін, фосфатиділ сирин, сфінгомелін,) - 5,77-7,19%, подвійний дигідрофосфат марганцю - кобальту, в якому вміст інгредієнтів у перерахунку на оксиди, мас. %: марганцю - 0,26-24,65, кобальту -25,76-0,25, фосфору - 49,13-49,83, води - 24,85-25,27, суміш фітоекдістероїдів у вагових співвідношеннях відповідно 0,5:0,0125 наступні екдістероїди: 1-оксіекдістерон ($C_{27}H_{44}O_8$); 26 - оксіекдістерон ($C_{27}H_{44}O_8$), нікотинамід, фолієву кислоту, рутину, кальцію пентотенату при наступному вмісті компонентів, маса %:

висівки пшеничні	10,00-17,53
борошно пшеничне	9,00-12,41
борошно кукурудзяне	10,60-13,46
сухі пивні або пекарські дріжджі	8,00-5,62
мед бджолиний	8,40-0,52
сухе молоко	8,50-0,53
гліцерин 50%-ий	15,50-12,92
мерва	18,70-17,05
цукор	0,49-6,40
ліпіди грени китайської дубової прядки	5,72-7,88
подвійний дигідрофосфат марганцю-кобальту	0,03-0,08
	0,0005-
суміш фітоекдістероїдів	0,0008
нікотинамід	0,0215-0,03
фолієва кислота	0,008-0,015
рутин	0,02-0,0292
кальцію пентотенат	0,01-0,025
вода	5,00-5,50.

Ефективність запропонованого штучного живильного середовища досліджували на живителі хойойі - великій вошинній молі (*Galleria melonella* L.). Штучне живильне середовище для вирощування гусениць великої вошинної молі готували наступним чином. Відповідно дослідному варіанту, прогріту при температурі +40-50°C масу мерви мілко подрібнювали за допомогою електромлинка до отримання однорідного грубо змеленого порошку. Зважені сухі компоненти з висівок та борошна пшеничного, борошна кукурудзяного, сухих пивних або пекарських дріжджів, згідно варіантів граничних і середніх величин компонентів, представлених в таблиці 1, змішували з порошком мерви. Приготовлені суміші прогрівали при температурі +90°C на протязі 6

годин. Після чого, згідно варіантів, наливали у скляний посуд нагріту до +40-50°C воду і розчиняли відповідні порції, меду, цукру та гліцерину. У добре перемішану суміш рідких компонентів добавляли, згідно варіантів граничних і середніх величин компонентів, представлених в таблиці 1, ліпіди грени китайської дубової прядки, подвійний дигідрофосфат марганцю-кобальту, суміш фітоекдістероїдів, нікотинамід, фолієву кислоту, рутин, кальцію пентотенат. Складену суміш рідких компонентів заливали в прогріту суху частину штучного живильного середовища і знову ретельно змішували до отримання однорідної консистенції. Охолоджене до +5°C штучне живильне середовище поміщали в чисті скляні банки, або поліетиленові пакети і зберігали в холодильнику при температурі +4-5°C не більше 18 днів. Готуючи штучне живильне середовище використовували препаративну форму суміші загальних ліпідів з грени китайської дубової прядки моновольтинної породи Поліський тасар грабової спеціалізованої лінії Рівненської популяції отримані на шостий день її інкубації, що містить: метилові ефіри жирних кислот - 2,64-3,87%; вільні жирні кислоти - 4,32-6,09%; тригліцериди - 1,51-3,28%; холестерин - 0,44-1,18%; фосфоліпіди (нейтральні ліпіди, фосфатиділ-етанол амін, фосфатиділхолін, фосфатиділ сірин, сфінгомелін,) - 5,77-7,19%. При складанні суміші штучного живильного середовища вміст інгредієнтів у подвійному дигідрофосфату марганцю-кобальту в перерахунку на оксиди був наступним, мас. %: марганцю - 0,26-24,65, кобальту - 25,76-0,25, фосфору - 49,13-49,83, води - 24,85-25,27. Біостимулюючу суміш фітоекдістероїдів, як регуляторів активності ферментів тканин і органів видів комах із ряду Lepidoptera, використовували у вагових співвідношеннях відповідно 0,5:0,0125 наступні екдістероїди: 1-оксіекдістерон ($C_{27}H_{44}O_8$); 26 - оксіекдістерон ($C_{27}H_{44}O_8$).

При догляді за лабораторними культурами живителя хойойі (*Chouioia cuneata* Jang.) - великої вошинної молі (*Galleria melonella* L.), враховували загальновідомі особливості її біології та екології, а також рекомендації щодо технології вирощування лабораторної та комерційної культури великої вошинної молі [Мельник П.О., Колісниченко Л.І., Сикало О.О. Методика масового розведення ентомопаразитоїда АБМ хойойі. Методичні вказівки розроблені Українською науково-дослідною станцією карантину рослин та ЦНДКЛ Укрголовдержжарантин. - Чернівці. - 2000. - 15с.].

Гусениць контрольних варіантів великої вошинної молі (*Galleria melonella* L.) вирощували на штучному живильному середовищі в склад якого входять висівки пшеничні, борошно пшеничне, борошно кукурудзяне, сухі пивні або пекарські дріжджі, мед бджолиний, сухе молоко, гліцерин, мерва, цукор при наступному вмісті компонентів, грам на один кілограм штучного живильного середовища: висівки пшеничні - 130-200, борошно пшеничне - 110-140, борошно кукурудзяне - 130-160, сухі пивні або пекарські дріжджі - 90-65, мед бджолиний - 90-0, сухе

молоко - 90-0, гліцерин 50%-ий - 160-150, мерва - 200-200, цукор - 0-85. Для приготування штучного живильного середовища наважку мерви прогрівали і гарячу подрібнювали якомога дрібніше. Зважені сухі компоненти ретельно перемішували з підготовленою мервою. Створену суміш прогрівали при температурі +80-90°C на протязі 5-6 годин, після чого додавали рідкий мед і гліцерин. Все знову добре перемішували. Готове штучне живильне середовище було рихлим та сипучим. Якщо у склад штучного живильного середовища входив цукор або гліцерин 50%-ий, то в цукор добавляли 50мл води яку підігрівали до повного розчинення цукру, після чого додавали мед і гліцерин. Добре перемішаною сумішшю рідких компонентів заливали суху частину середовища і знову ретельно змішували. Готове штучне живильне середовище зберігали в чистих скляних банках або поліетиленових пакетах у холодильнику при +5°C. Зібрані в один день яйцекладки великої вошинної молі поміщали в скляні банки об'ємом 0,2-0,5л. В банки по 0,2л поміщали до 250, а об'ємом 0,5л - 500 яєць великої вошинної молі. Отвори банок накривали щільною тканиною, закріплюючи її гумкою, поміщали на інкубацію яйця великої вошинної молі при температурі +26-28°C, вологості повітря 60%. Через 3-4 доби насипали штучне живильне середовище, відповідно, 30-50г і знову інкубували яйця великої вошинної молі в оптимальних умовах. Відродження гусені галлерії відбувалося через 8-10 днів. Коли гусениці галлерії переходили в третій вік, їх пересажували в садки більших розмірів де вирощували до одержання лялечок. При догляді за гусеницями галлерії та при проведенні масового зараження паразитоїдом (*Chouioia cuneata* Jang.) лялечок живителя враховували загальні рекомендації відображені в технології масового розведення хойойі в лабораторно-промислових умовах [Мельник П.О., Колісниченко Л.І., Сикало О.О. Методика масового розведення ентомопаразитоїда АБМ хойойі. Методичні вказівки розроблені Українською науково-дослідною станцією карантину рослин та ЦНДКЛ Укрголовдержжарантин. - Чернівці. - 2000. - 15с.].

Вміст компонентів у штучному живильному середовищі для вигодовування гусениць живителя хойойі - великої вошинної молі

Назва компонентів	Коефіцієнти	
	А	В
1	2	3
Висівки пшеничні	8,15	10,00
Борошно пшеничне	7,55	9,00
Борошно кукурудзяне	8,45	10,60
Сухі пивні або пекарські дріжджі	9,24	8,00
Мед бджолиний	9,00	8,40
Сухе молоко	10,05	8,50
Гліцерин 50% -ий	17,89	15,50
Мерва	22,34	18,70

Цукор	0,24	створення екологічного ізоляту	0,49	популяції	0,11
Ліпіди гени китайської дубової прядки	3,50	задачі спадковими властивостями	0,02	спадковими властивостями	0,11
Подвійний дигідрофосфат марганцю-кобальту	0,01		0,03	0,06	0,08
Суміш фітоекдістероїдів	0,0002		0,0005	0,0007	0,0008
Нікотинамід	0,0108		0,0215	0,024	0,025
Фолієва кислота	0,004		0,008	0,11	0,015
Рутин	0,01		0,02	0,0213	0,0292
Кальцію пентотенат	0,005	Варіанти	0,01	0,02	0,04
Вода	3,55	загальна віджероб	5,00	загальна віджероб	6,15

Винахід ілюструється наступними таблицями та фігурами:

Таблиця 2. Вплив штучного живильного середовища на виживання личинок у період линяння.

Фіг.1. Вплив штучного живильного середовища на величину маси кладки та кількості відкладених яєць самицями великої вошинної молі.

Фіг.2. Вплив штучного живильного середовища на відродження і життєздатність гусениць великої вошинної молі.

Фіг.3. Вплив штучного живильного середовища на збереження під час довготривалого зберігання поживних якостей лялечок великої вошинної молі для розвитку хойойі (*Chouioia cunea* Jang.).

Результати досліджень впливу штучного живильного середовища на виживання гусениць великої вошинної молі у період линяння представлені у таблиці 2. Аналіз результатів досліджень показує, що найкращі показники виживання у період линяння гусениць *Galleria melonella* L. одержані в варіантах В, С і D. У цих варіантах період линяння гусениць з другого на третій вік супроводжувався найменшою загальною ослаблених або хворих особин. Так, наприклад, підрахунки показують, що в варіантах В, С і D найбільша кількість перелинялих гусениць *Galleria melonella* L. - 476, 482, 481, що, відповідно, на 49, 55, 54екз. більше у порівнянні з аналогічним варіантом за відомим способом. Слід відмітити, що збільшення кількісних величин компонентів штучного живильного середовища і зниження води в ньому, як це показано в варіанті А, суттєво не збільшує кількість перелинялих гусениць *Galleria melonella* L. і з економічної сторони є недоцільним. Крім того, як показали візуальні спостереження, при значному збільшенні у штучному живильному середовищі біологічно активних ліпідів гени китайської дубової прядки та на фоні збільшення суміші фітоекдістероїдів у дослідному варіанті Е відбувалося завчасне линяння гусениць з відокремленням головної капсули у значної частини особин галлерії. У цьому випадку, подовжений період линяння зменшував термін поїдання корму гусеницями у період подальшого їх розвитку і таким чином сприяв ослабленню особин лабораторної популяції великої вошинної молі, що сприяло їх захворюванню і загибелі. В умовах оптимальної дії трофічних стресових чинників, які були створені у варіантах В, С і D, лабораторна культура *Galleria melonella* L. формувала ядро адаптивної мікропопуляції, за рахунок якого в наступних поколіннях формувалась штучно

Варіанти	А	В	С	Д	Е
Віджероб	36	24	18	19	30
Віджероб	6	5	4	4	6
Віджероб	30	19	14	15	24
Віджероб	83	18	65		

Примітка. Кількість гусениць *Galleria melonella* L. на кінець другого

Навіть за умови ефективної чисельності ізоляту стартової культури *Galleria melonella* L. на фоні песимального трофічного чинника у лабораторної популяції спостерігали прояв ознак синдрому хронічного стресу. Суть якого полягає в обмеженні можливості збереження в ній високого рівня генетичної гетерогенності, продуктивності та життєздатності лабораторної культури.

Вплив штучного живильного середовища на величину маси кладки та кількості відкладених яєць самицями великої вошинної молі представлено на Фіг.1. Згідно отриманих результатів, найбільші показники маси кладки та кількості відкладених яєць самицями *Galleria melonella* L. спостерігали у дослідних варіантах В, С і D. Так, наприклад, середня маса кладки у вищеназваних варіантах становила, відповідно, 38,59мг, 39,42мг, 39,53мг, що на 16,80%, 19,31% та 19,64% більше в порівнянні з варіантом за відомим способом. Суттєве підвищення маси однієї кладки у дослідних варіантах зумовлене, у першу чергу, збільшенням кількості відкладених яєць однією самицею. За рахунок застосування запропонованого штучного живильного середовища самиці великої вошинної молі, наприклад, у варіантах В, С і D відкладали у середньому 1072, 1095 та 1098 яєць, що на 13,53%, 16,00% та 16,31%, відповідно, більше в порівнянні з варіантом за відомим способом.

На Фіг.2 наведені дані про вплив штучного живильного середовища на відродження і життєздатність гусениць великої вошинної молі. При вигодовці гусениць великої вошинної молі на запропонованому штучному живильному середовищі встановлено, що найкращі показники відродження гусениць із яєць другого покоління та їх життєздатність спостерігаються також у варіантах В, С і D. Так, у названих варіантах відродження гусениць із яєць становило 91,51%, 94,16% і 92,35%, що, відповідно, на 261, 311 та 294 гусениці більше в порівнянні з варіантом за відомим способом.

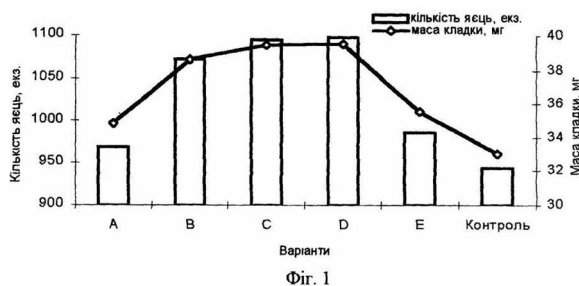
Результати вивчення впливу штучного живильного середовища на збереження під час довготривалого зберігання поживних якостей

лялечок великої вощинної молі для розвитку ентомопаразитоїда хойойі (*Chouioia cuneata* Jang.) представлені на Фіг.3.

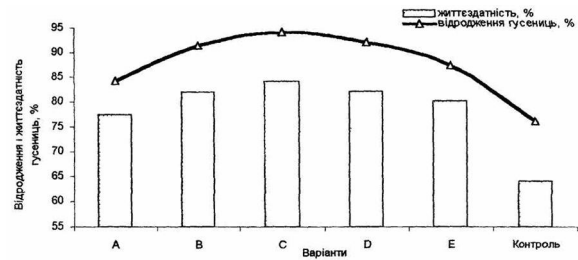
Незаражені лялечки *Galleria melonella* L. зберігали наступним чином. На днище півлітрових скляних банок клали фільтрувальний папір, після чого до половини їх об'єму заповнювали свіжими лялечками живителя. Банку закривали поліетиленовою накривкою і поміщали в холодильник для зберігання протягом 18 діб при температурі +5°C.

З метою забезпечення достатньої аерації біологічного матеріалу у період експериментальних досліджень, проведення масового зараження ентомопаразитоїдом *Chouioia cuneata* Jang, лялечок *Galleria melonella* L. відбувалося в ентомологічних садках з прозорої пластмаси розміром 20×20×40см. Встановлено, що при вигодовці гусениць на дослідному штучному живильному середовищі лялечки великої вощинної молі мають кращі поживні якості після довготривалого (18 діб) зберігання в холодильнику в порівнянні з вирощеними в аналогічних умовах на штучному живильному середовищі варіанту за відомим способом. Найбільша кількість лялечок придатних для повноцінного розвитку ентомопаразитоїда *Chouioia cuneata* Jang, була отримана з варіантів В, С і D. В цих варіантах оптимальними для розвитку хойойі після 18-ти добового зберігання виявлено, відповідно, 161,186 та 193 лялечки, що на 42,48%, 64,60% і 70,80% більше в порівнянні з варіантом за відомим способом.

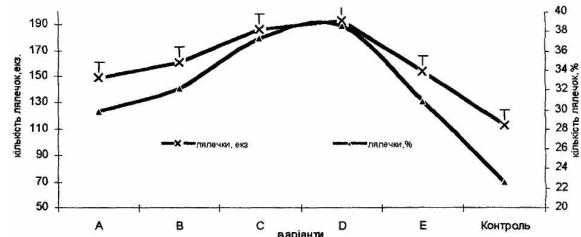
Аналіз експериментальних досліджень, що виражені у вигляді і цифрового матеріалу і розміщені в таблицях 1 і 2, Фіг.1-3 показує, що за всіма вивченими показниками дослідні варіанти переважають показники за відомим способом. Запропоноване в якості корму штучне живильне середовище для вирощування живителя *Galleria melonella* L. просте за своїм вмістом і не потребує спеціального обладнання для його приготування. За рахунок застосування запропонованого штучного живильного середовища покращуються показники виживання гусениць живителя у період линяння, збільшуються показники маси кладки та кількості відкладених яєць самицями великої вощинної молі, оживлення та життєздатність відроджених личинок другого покоління, збереження під час довготривалого зберігання поживних якостей лялечок великої вощинної молі для розвитку ентомопаразитоїда *Chouioia cuneata* Jang., таким чином досягається новий позитивний ефект.



Фіг. 1



Фіг. 2



Фіг. 3