



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **110305**

(13) **C2**

(51) МПК

**A01K 67/033** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2014 13344	(72) Винахідник(и):	Мороз Микола Сергійович (UA), Максін Віктор Іванович (UA)
(22) Дата подання заявки:	12.12.2014	(73) Власник(и):	НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ-41, 03041 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	10.12.2015	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	UA 82450 C2, 10.04.2008 UA 80766 C2, 25.10.2007 Boriani M. Chouioia cunea Yang (Hymenoptera Eulophidae), parasitoid of Hyphant'a cunea (Drury) (Lepidoptera Arctiidae), new for Europ / M. Boriani // Boll. Zool. Arg. Bachic. – 1991. - Ser. II. - №23 (2) – pp. 193-196 Біотехнологія корисних ентомофагів та оцінка якості виробництва: навчально- методичний комплекс / розробн. Л.П. Ющенко: КМ України, НУБіП України. – К., 2010. – 18 с.
(41) Публікація відомостей про заяву:	12.05.2015, Бюл.№ 9		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.12.2015, Бюл.№ 23		

## (54) СПОСІБ ОПТИМІЗАЦІЇ ЕНТОМОКУЛЬТУРИ ЕНДОПАРАЗИТА CHOUIOIA CUNEA JANG.

### (57) Реферат:

Винахід належить до способу оптимізації ентомокультури ендopаразита Chouioia cunea Jang та включає годівлю личинок фітофагів-хазяїнів листям кормової рослини. Для відкладання яєць ентомофага в тіло живителя використовують опромінені бактерицидною лампою впродовж 8-12 хвилин лялечки 144-168 години постембріонального розвитку. Додатково для личинок фітофагів-хазяїнів вносять в дієту з розрахунку на 100 г листя кормової рослини 5-10 мл водяного розчину наноаквахелату. Починаючи з другого до кінця третього віку використовують цитрат германію 0,0002-0,001 %-ної концентрації; з четвертого - цитрат магнію 0,0001-0,0005 %-ної концентрації і з п'ятого - цитрат селену 0,0004-0,0008 %-ної концентрації.

UA 110305 C2



Винахід належить до галузі сільського господарства, зокрема - біологічних технологій.

Відомий спосіб розведення хойойї в штучних умовах (Деклараційний патент на корисну модель № 8848 Україна, МПК A01H4/00, Спосіб утримання хойойї в штучних умовах / П.О. Мельник, І.В. Голик, А.О. Іванська, Р.Д. Коржук, опубл. 15.08.2005, бюл. № 8.) - суть якого полягає в тому, що ентомофага хойойю (*Chouioia cunea* Jang.) розводять у лялечках живителя великої вошинної моли (*Galleria melonella* L.), процес вирощування хойойї забезпечується неперервним репродукуванням поколінь ендопаразита в лялечках галерії, які вирощують для цієї мети на штучному живильному середовищі.

Недоліком аналогу є те, що спосіб розведення хойойї у штучних умовах регламентується тільки живителем - лялечками великої вошинної моли, але розведення *Chouioia cunea* Jang, не забезпечує цілеспрямованої дії на культуру ендопаразита оптимальних умов утримання, динамічної рівноваги з навколишнім середовищем в процесі відбору, коригування статевого індексу популяції з метою найліпшого вирішення завдання розведення.

Відомий спосіб розведення ентомофага хойойї (Патент № 83125, Спосіб розведення ентомофага хойойї (*Chouioia cunea* Jang.) /М. С. Мороз, опубл. 27.04.2008, Бюл. № 7.) - включає періодичне розведення личинок ентомофага хойойї в лялечках різних живителів - павиноочки малої і спеціалізованої грабової кормової лінії моновольтинної породи Поліський тасар китайської дубової прядки, для відкладання яєць ентомофага в тіла живителя використовуються опромінені бактерицидною лампою впродовж 8-12 хвилин лялечки 144-168 години постембріонального розвитку.

Недоліком аналогу є те, що спосіб розведення ентомофага хойойї забезпечує у штучних умовах для особин популяції ендопаразита підвищення якісних показників у період онтогенезу - життєздатності, продуктивності, скорочення тривалості постембріонального розвитку, пошукових здібностей до шкідника і ефективної конкуренції ентомофага з іншими зоофагами, а за умови довготривалого зберігання лялечок живителя підвищення їх поживних якостей для розвитку хойойї, але розведення *Chouioia cunea* Jang., не забезпечує цілеспрямованої дії на культуру ендопаразита оптимальних умов утримання, динамічної рівноваги з навколишнім середовищем в процесі відбору, коригування статевого індексу популяції з метою найліпшого вирішення завдання розведення.

Винаходом ставиться задача: під час розведення *Chouioia cunea* Jang., забезпечити цілеспрямовану дію на культуру ендопаразита оптимальних умов утримання, динамічну рівновагу з навколишнім середовищем в процесі відбору, коригування біологічної ефективності ендопаразита з метою найліпшого вирішення завдання розведення.

Для вирішення задачі запропонований спосіб оптимізації ентомокультури ендопаразита *Chouioia cunea* Jang., що включає годівлю личинок фітофагів-хазяїнів листям кормової рослини, для відкладання яєць ентомофага в тіла живителя використовуються опромінені бактерицидною лампою впродовж 8-12 хвилин лялечки 144-168 години постембріонального розвитку, який відрізняється тим, що додатково для личинок фітофагів-хазяїнів вносять в дієту в розрахунку на 100 г листя кормової рослини 5-10 мл водяного розчину наноаквахелату: починаючи з другого до кінця третього віку - цитрат германію 0,0002-0,001 %-ної концентрації, четвертого - цитрат магнію 0,0001-0,0005 %-ної концентрації і п'ятого - цитрат селену 0,0004-0,0008 %-ної концентрації.

Ефективність запропонованого способу оптимізації ентомокультури ендопаразита досліджували на лабораторній культурі *Chouioia cunea* Jang., для якої фітофагами-хазяїнами були лялечки американського білого метелика, китайської дубової прядки, непаристої прядки та прядки перстенівки опромінені бактерицидною лампою впродовж 8-12 хвилин лялечки 144-168 години постембріонального розвитку, що отримані шляхом годівлі фітофагів-хазяїнів листям кормової рослини і додатково для личинок фітофагів-хазяїнів вносили в дієту в розрахунку на 100 г листя кормової рослини 5-10 мл водяного розчину наноаквахелату: починаючи з другого до кінця третього віку - цитрат германію 0,0002-0,001 %-ної концентрації, четвертого - цитрат магнію 0,0001-0,0005 %-ної концентрації і п'ятого - цитрат селену 0,0004-0,0008 %-ної концентрації.

При розведенні ентомокультури ендопаразита *Chouioia cunea* Jang., підтримували рекомендовані для нього середні оптимальні параметри чинників абіотичного і біотичного походження [Іванська А.О. Біологічний метод боротьби. Лабораторне розведення ентомопаразита американського білого метелика *Hyphantria cunea* Druri. - *Chouioia cunea* Jang. Колонізація ентомофага у вогнищах шкідника. Методичні рекомендації / А.О. Іванська, П.О. Мельник, І.М. Острик, М.П. Соломічук, С.Е. Прунцев // - Чернівці. - Зелена Буковина. - 2005. - 20 с.].

Зараження ентомопаразитом лялечок фітофагів-хазяїнів американського білого метелика, китайської дубової прядки, непаристої прядки та прядки перстенівки проводили в аналогічних з дослідними особинами технологічних умовах. В дослідному і контрольному варіантах використовували лабораторно-польову культуру *Chouioia cunea* Jang.

Для вивчення можливості під час розведення *Chouioia cunea* Jang., забезпечити цілеспрямовану дію на культуру ендopаразита оптимальних умов утримання, динамічну рівновагу з навколишнім середовищем в процесі відбору, коригування біологічної ефективності ендopаразита з метою найліпшого вирішення завдання розведення проводили вигодовлю фітофагів-хазяїнів американського білого метелика, китайської дубової прядки, непаристої прядки та прядки перстенівки листям кормової рослини їх лялечки перед відкладання яєць ентомофагом в тіла живителя опромінювали бактерицидною лампою впродовж 8-12 хвилин лялечки 144-168 години постембріонального розвитку - контрольні варіанти і додатково для личинок фітофагів-хазяїнів вносили в дієту в розрахунку на 100 г листя кормової рослини 5-10 мл водяного розчину наноаквахелату: починаючи з другого до кінця третього віку - цитрат германію 0,0002-0,001 %-ної концентрації, четвертого - цитрат магнію 0,0001-0,0005 %-ної концентрації і п'ятого - цитрат селену 0,0004-0,0008 %-ної концентрації - дослідні варіанти.

Винахід ілюструється наступними таблицями та графіками:

Табл. 1. Вплив технологічних параметрів вигодовлі, на процес збереження поживних якостей лялечок фітофагів-хазяїнів за умови їх використання для безперервного розведення ендopаразита.

Граф. 1. Вплив цитрат магнію на фенолоксидазну активність еноцидоїдів гемолімфи лялечок *Antheraea pernyi* G.-M.

Граф. 2. Вплив технологічних параметрів вигодовлі личинок фітофагів-хазяїнів, на толерантність (ступінь стійкості) ендopаразита до змін чинників середовища в процесі онтогенезу.

Граф. 3. Вплив технологічних параметрів вигодовлі личинок фітофагів-хазяїнів, на біологічну ефективність ендopаразита.

Граф. 4. Вплив технологічних параметрів вигодовлі личинок фітофагів-хазяїнів, на репродуктивний потенціал ендopаразита.

Результати експериментів щодо впливу технологічних параметрів вигодовлі личинок фітофагів-хазяїнів, на процес оптимізації утримання ендopаразита за умов безперервного його розведення представлені у таблиці 1. Відповідно до отриманих результатів досліджень, позитивний ефект від підгодовування личинок фітофагів-хазяїнів в розрахунку на 100 г листя кормової рослини 5-10 мл водяного розчину наноаквахелату з другого до кінця третього віку - цитрат германію, четвертого - цитрат магнію і п'ятого - цитрат селену в оптимальних концентраціях, призводить до значного терміну збереження поживних якостей лялечок фітофагів-хазяїнів за умови їх використання для безперервного розведення ендopаразита. З'ясовано, що в результаті внесення в дієту в розрахунку на 100 г листя кормової рослини 5-10 мл водяного розчину наноаквахелату: починаючи з другого до кінця третього віку - цитрат германію 0,0002-0,001 %-ної концентрації, четвертого - цитрат магнію 0,0001-0,0005 %-ної концентрації і п'ятого - цитрат селену 0,0004-0,0008 %-ної концентрації забезпечуються найліпші показники щодо збереження поживних якостей лялечок фітофагів-хазяїнів після довготривалого зберігання. Так, наприклад, підгодовування личинок фітофагів-хазяїнів з другого до кінця третього віку наноаквахелатом цитрат германію 0,0002-0,001 %-ної концентрації забезпечило найкращу якість їх лялечок як кормового субстрату впродовж 720 годин зберігання, відповідно, американського білого метелика - 44-46 екз., китайської дубової прядки - 48-49 екз., непаристої прядки - 41-43 екз. та прядки перстенівки - 43-45 екз., що у відсотковому співвідношенні більше на: *Hyphantria cunea* Drury. - 57,14-64,29 %, *Antheraea pernyi* G.-M. - 23,08-25,64 %, *Lymantria dispar* L. - 57,70-65,38 % та *Malacosoma neustria* L. - 79,17-87,50 % порівняно з варіантом аналога. Суттєве збільшення терміну зберігання лялечок фітофагів-хазяїнів без втрати поживних якостей для культивування ендopаразита у експериментальних варіантах зумовлене, передусім, оптимізацією технологічних параметрів підгодовування личинок фітофагів-хазяїнів наноаквахелатами. Під час довготривалого зберігання лялечок під дією цитрат магнію спостерігалось підвищення фенолоксидазної активності у захисних клітинах гемолімфи *Antheraea pernyi* G.-M. (граф. 1), що сприяло позитивному функціонуванню клітинних і гуморальних систем індивідуального імунітету особин комах.

На граф. 2 наведені дані щодо впливу технологічних параметрів вигодовлі личинок фітофагів-хазяїнів, на толерантність ендopаразита до змін чинників середовища в процесі онтогенезу. Відповідно до експериментально отриманих результатів, найбільшу кількість

особин ендopаразита в тілі лялечок фітофагів-хазяїнів за оптимальних і песимальних умов виявлено у дослідних варіантах. Так, зокрема, кількість личинок ендopаразита в тілі лялечки китайської дубової прядки дослідних варіантів за оптимальних і песимальних умов утримання становила, відповідно, 687 і 672 екземпляри, що на 20,74 % і 66,34 % більше порівняно з варіантом аналога.

Дані щодо впливу технологічних параметрів вигодовлі личинок фітофагів-хазяїнів, на біологічну ефективність *Chouioia cunea* Jang, представлені на граф. 3. Згідно з результатами досліджень, використання наноаквахелатів цитрат германію, цитрат магнію і цитрат селену в оптимальних концентраціях за вищеописаною технологією внесло позитивні зміни щодо корекції життєвого циклу корисних комах. У всіх дослідних варіантах спостерігали зростання рівня зараження лялечок фітофагів-хазяїнів *Chouioia cunea* Jang.: на 26 % - (американського білого метелика), 14 % - (китайської дубової прядки), 28 % - (непаристої прядки) і 13 % - (прядки перстенівки). Слід відмітити, що оптимальні концентрації наноаквахелатів формують захисні реакції, спрямовані на ліквідацію наслідків негативного чинника, на тлі активації загального метаболізму ендopаразита.

На прикладі трьох поколінь дослідним шляхом встановлено, що під оптимізацією ведення культури *Chouioia cunea* Jang., є сукупність заходів цілеспрямованої дії на культуру ендopаразита шляхом створення найкращих умов утримання і коректування генетичної структури популяції з метою оптимального вирішення завдання розведення.

Результати досліджень впливу технологічних параметрів годівлі личинок фітофагів-хазяїнів, на репродуктивний потенціал *Chouioia cunea* Jang., відображено граф.4. Репродуктивний потенціал  $R_p = (S_r \times d) \cdot n$ , це швидкість з якою особина *Chouioia cunea* Jang., може розмножуватись. Репродуктивний потенціал залежить від  $S_r$  - співвідношення статей,  $d$  - чисельності потомства,  $n$  - числа поколінь. Відповідно до отриманих результатів, максимальні показники репродуктивного потенціалу спостерігали у дослідних варіантах, де годівля личинок ендopаразита відбувалася на лялечках фітофага-хазяїна *Antheraea pernyi* G.-M. - 19465 особин, що на 50,89 % більше порівняно з варіантом аналога.

На прикладі *Chouioia cunea* Jang., підтверджено встановлену онтогенетичну відмінність щодо реалізації захисних реакцій у комах на дію наноаквахелатів: на стадії личинки переважає розвиток неспецифічних механізмів захисту, збільшується доля еноцитодних гемоцитів; у імаго зростає доля гемоцитів, що фагоцитують, і формуються механізми спеціалізованого захисту.

Розгляд експериментальних даних, що виражені у вигляді цифрового матеріалу і розміщені в таблиці 1, граф. 1-4 показує, що за всіма вивченими властивостями дослідні модифікації щодо оптимізації ентомокультури ендopаразита *Chouioia cunea* Jang., перевершують показники аналога.

Таблиця 1

Вплив технологічних параметрів вигодовлі, на процес збереження поживних якостей лялечок фітофагів-хазяїнів за умови їх використання для безперервного розведення ендopаразита

Показники	Кількість лялечок фітофагів-хазяїнів після довготривалого зберігання, що зберегли поживні якості для культивування ендopаразита, екз./ %							
	<i>Hyphantria cunea</i> Drury.		<i>Antheraea pernyi</i> G.-M.		<i>Lymantria dispar</i> L.		<i>Malacosoma neustria</i> L.	
	екз. / % до контр.	%	екз. / % до контр.	%	екз. / % до контр.	%	екз. / % до контр.	%
Концентрація наноаквахелату цитрат германію для підгодовування личинок 2-3 віку фітофагів-хазяїнів, %								
0,00004	42/150,0	84	46/117,95	92	40/153,85	80	41/170,83	82
0,0002	44/157,14	88	48/123,08	96	41/157,7	82	43/179,17	86
0,001	46/164,29	92	49/125,64	98	43/165,38	86	45/187,5	90
0,005	43/153,57	86	46/117,95	92	40/153,85	80	42/175,0	84

Продовження Таблиці 1

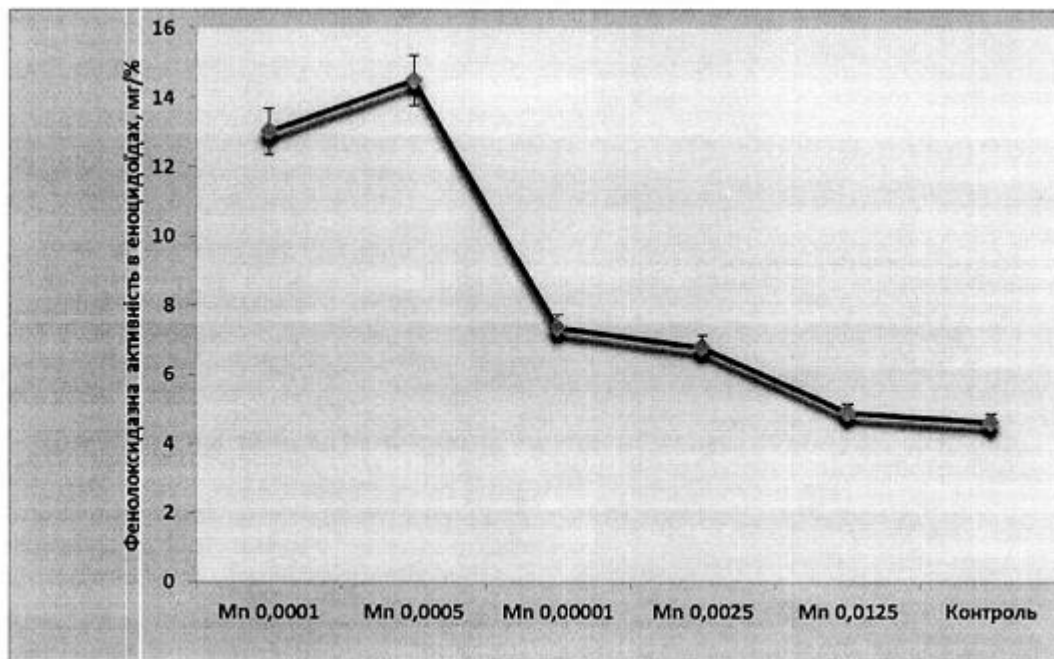
Концентрація наноаквахелату цитрат магнію для підгодовування личинок четвертого віку фітофагів-хазяїнів. %								
0,00001	40/142,86	80	44/112,82	88	39/150,0	78	42/175,0	84
0,0001	45/160,71	90	47/120,51	94	43/165,38	86	44/183,33	88
0,0005	46/164,29	92	49/125,64	98	44/169,23	88	46/191,67	92
0,0025	41/146,43	82	46/117,95	92	40/153,85	80	43/179,17	86
Концентрація наноаквахелату цитрат селену для підгодовування личинок п'ятого віку фітофагів-хазяїнів. %								
0,0001	38/135,71	76	44/112,82	88	34/130,77	68	37/154,17	74
0,0004	42/150,0	84	47/120,51	94	38/146,15	76	39/162,5	78
0,0008	43/153,57	86	48/123,08	96	40/153,85	80	41/170,83	82
0,0016	40/142,86	80	45/115,38	90	36/138,46	72	38/158,33	76
Кількість розчину наноаквахелату на 100 г листя кормової рослини, мл								
2	40/142,86	80	44/112,82	88	40/153,85	80	42/175,0	84
5-10	44/157,14	88	48/123,08	96	43/165,38	86	44/183,33	88
15	42/150,0	84	46/117,95	92	36/138,46	72	39/162,5	78
Контроль	28/100,0	56	39/100,0	78	26/100,0	52	24/100,0	48

Примітка. Термін зберігання лялечок фітофагів-хазяїнів 720 годин.

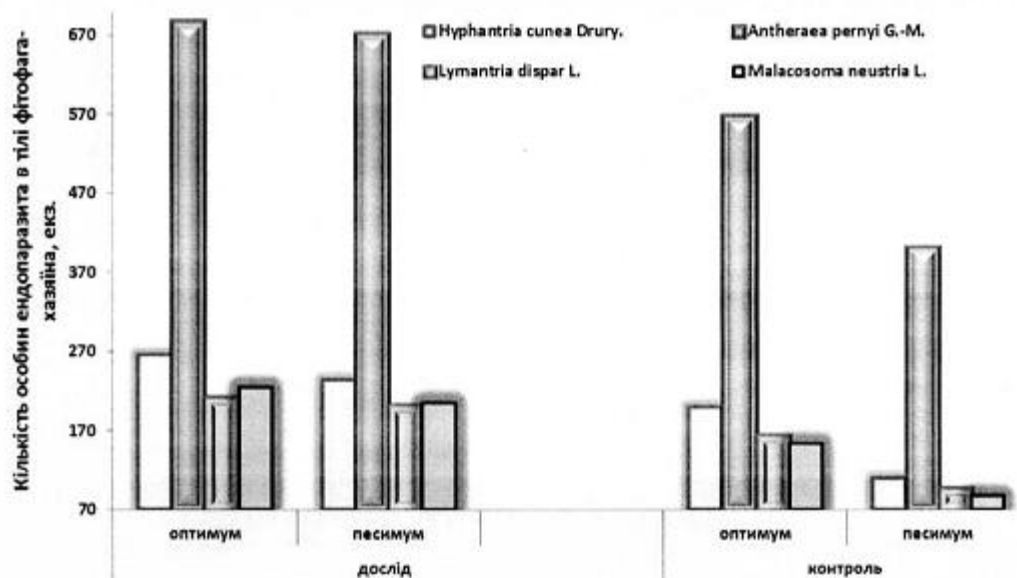
За рахунок використання як біологічно активних компонентів цитрат германію, цитрат магнію та цитрат селену під час постембріонального розвитку фітофагів-хазяїнів встановлені найліпші показники щодо збереження поживних якостей лялечок фітофагів-хазяїнів після довготривалого зберігання, а на час розведення *Chouioia cunea* Jang., забезпечується цілеспрямована дія на культуру ендопаразита оптимальних умов утримання, динамічна рівновага з навколишнім середовищем в процесі відбору, коригування біологічної ефективності ендопаразита з метою найліпшого вирішення завдання розведення, таким чином досягається новий позитивний ефект.

#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

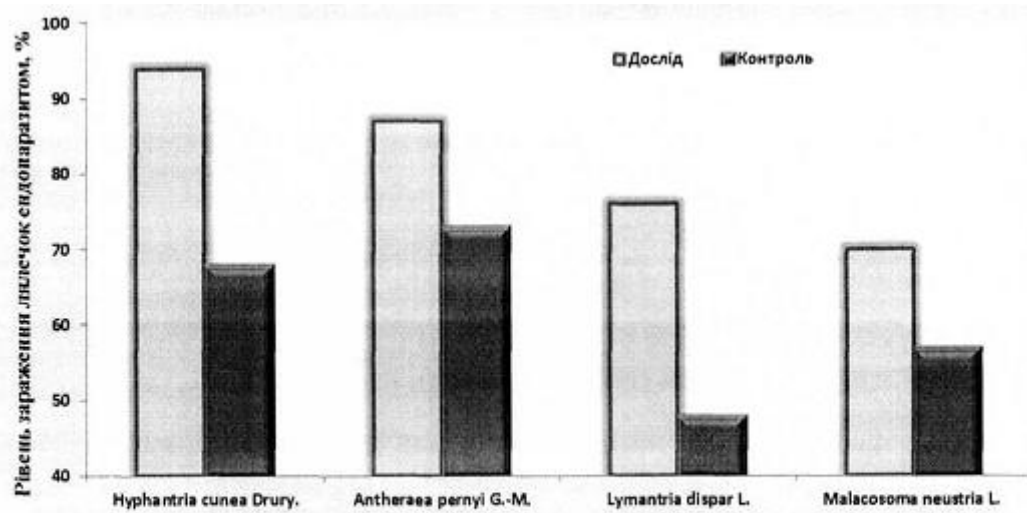
Спосіб оптимізації ентомокультури ендопаразита *Chouioia cunea* Jang., що включає годівлю личинок фітофагів-хазяїнів листям кормової рослини, а для відкладання яєць ентомофага в тіла живителя використовують опромінені бактерицидною лампою впродовж 8-12 хвилин лялечки 144-168 години постембріонального розвитку, який **відрізняється** тим, що додатково для личинок фітофагів-хазяїнів вносять в дієту з розрахунку на 100 г листя кормової рослини 5-10 мл водяного розчину наноаквахелату; починаючи з другого до кінця третього віку - цитрат германію 0,0002-0,001 %-ної концентрації, четвертого - цитрат магнію 0,0001-0,0005 %-ної концентрації і п'ятого - цитрат селену 0,0004-0,0008 %-ної концентрації.



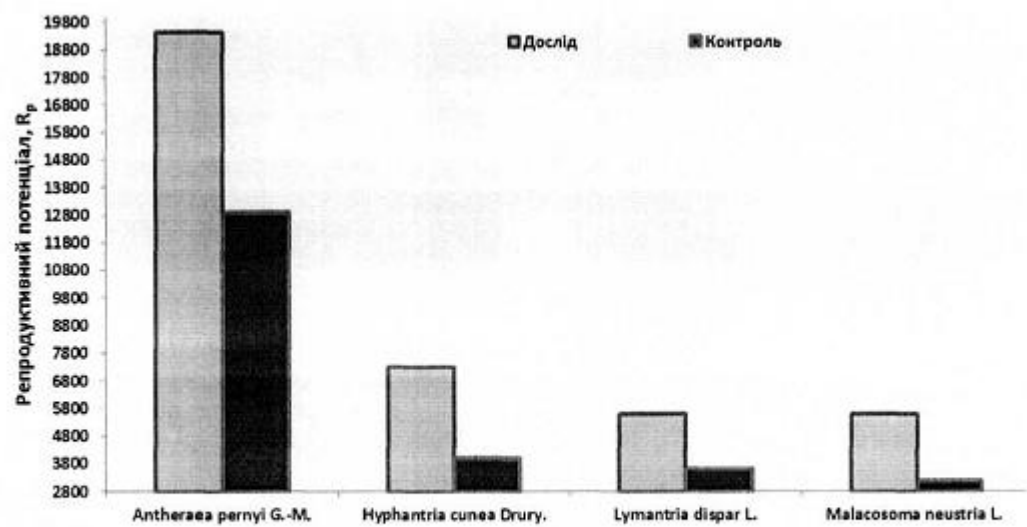
Граф. 1



Граф. 2



Граф. 3



Граф. 4

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601