

ХАРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

імені Г.С.СКОВОРОДИ

На правах рукопису

БОЙЧУК Юрій Дмитрович

ПРИНЦИПИ І МЕТОДИ ДОБОРУ ВИХІДНОГО
МАТЕРІАЛУ ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ КОМАХ

03.00.09 - Ентомологія

А в т о р е ф е р а т

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук



Харків - 1996

НВ. 35. 664

Дисертація представлена у вигляді рукопису.

Робота виконана в секції зоології і охорони природи Харківського державного педагогічного університету імені Г.С.Сковороди.

- Науковий керівник - доктор біологічних наук, професор
ЗЛОТІН Олександр Зіновійович
- Офіційні опоненти - доктор біологічних наук, професор,
академік УААН БІЛЕЦЬКИЙ Євген
Миколайович
- кандидат сільськогосподарських наук,
старший науковий співробітник
БРАСЛАВСЬКИЙ Марк Юхимович
- Провідна установа - Інститут зоології ім. І.І.Шмальгаузена
НАН України.

Захист дисертації відбудеться "23" лютого 1996 р.
о _____ годині на засіданні Спеціалізованої Ради К.02.26.04 при
Харківському державному педагогічному університеті ім. Г.С.Скоро-
роди: ЗІОІ68 м. Харків-І68, вул. Блюхера, 2, зал засідань.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Харківського
державного педагогічного університету ім. Г.С.Сковороди

Автореферат розісланий "14" березня 1996 р.

Вчений секретар
Спеціалізованої Ради *Н. П. Чепурна* Н.П.Чепурна

ЛННБ України ім.В.Стефаника ^Т



00760082 (N)

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. У зв'язку з наростаючим забрудненням навколишнього середовища пестицидами все більшу увагу привертають альтернативні методи захисту рослин і тварин. Вирішенню цієї проблеми в певній мірі сприятиме реалізація програм технічної ентомології /Злотин, 1989; Тамарина, 1990/. Тому особливий інтерес викликає масове розведення комах, поступове розширення об'єму виробництва продукції ентомологічної промисловості /Чернышов, 1986/.

Ефективне вирішення цієї чи іншої програми неможливе без правильного добору вихідного матеріалу для закладання стартової культури комах.

Добір вихідного біоматеріалу – важливий етап створення культури комах. Але недостатня вивченість питання і відсутність загальних підходів та уніфікованих методів гальмує його проведення.

Звідси – актуальність визначення основних принципів і розробка нових методів добору вихідного матеріалу для створення культур комах.

Мета роботи. Метою даної роботи є пошук принципів і критеріїв, що дають змогу здійснювати реальну оцінку будь-якого вихідного біоматеріалу /відібраного з природних популяцій або відомих інсектарних культур/ з точки зору його еколого-біологічних та генетичних особливостей, рівня життєздатності і відповідності цілям запланованої програми розведення.

Задачі дослідження. Обґрунтувати загальні підходи до добору вихідного матеріалу для культивування комах.

Розробити нові методи оцінки якості вихідного біоматеріалу.

Вивчити можливість застосування формули загальної життєздатності і перспективного росту чисельності популяції /Злотин, Чепурная, 1994/ для оцінки стану вихідного біоматеріалу як інтегрованого показника його якості.

Наукова новизна дослідження. Вперше на основі теоретичного узагальнення та отриманих експериментальних даних сформульовані біологічні основи добору вихідного матеріалу для закладання культур комах, що полягають в оцінці фізіологічного стану популяції і встановленні її придатності для реалізації майбутньої програми розведення.

Запропоновані методи оцінки життєздатності комах за активністю дихання сперматозоїдів і відновній активністю гемолімфи. Використання цих методів дозволяє здійснювати оцінку фізіологічного стану біоматеріалу на стадії личинки і імаго.

Встановлено, що при проведенні добору вихідного матеріалу треба використовувати інтегровані показники. Це дає змогу скоротити кількість параметрів, що потребують визначення, і оперативно провести оцінку популяцій. Важливою умовою високої ефективності результатів є проведення оцінки на всіх стадіях циклу розвитку виду.

Аналіз факторів, що визначають фізіологічний стан природних і інсектарних /штучних/ популяцій дає змогу запропонувати використання як узагальнюючого методу розрахунку загальної життєздатності популяції і перспективного росту її чисельності, який застосовувався раніше для оцінки якості культур комах в регламенті процесу їх культивування. В поєднанні з іншими методами оцінки стану популяцій комах він дає максимально повне уявлення про якість вихідного біоматеріалу і його цільову

придатність.

Практичне значення роботи. Для правильного добору вихідного матеріалу з природних популяцій та відомих інсектарних культур запропоновано використовувати цільовий принцип, що дає можливість відбирати біоматеріал, який найбільш повно відповідає задачам розведення.

Розроблено нові методи оцінки життєздатності комах за активністю дихання сперматозоїдів і відновній активністю гемолімфи.

Запропоновано при доборі вихідного біоматеріалу використовувати інтегровані критерії оцінки його якості /індекс загальної життєздатності і показник перспективного росту чисельності популяції/, що дають можливість оцінювати будь-який біоматеріал з загальнобіологічних позицій, з урахуванням видових особливостей і задач розведення.

На захист вноситься новий підхід до добору вихідного біоматеріалу для закладання культур комах, який базується на застосуванні принципу випадкової вибірки, для аналізу стану популяції, з послідуьчим добором вихідного біоматеріалу за цільовим принципом, у відповідності до вимог майбутньої програми розведення; нові методи добору вихідного біоматеріалу і його комплексної оцінки.

Реалізація результатів дослідження. Результати дослідження використані при доборі вихідного біоматеріалу для отримання вірусних препаратів, що використовуються в лісозахисті, на Харківському спеціалізованому лісозахисному підприємстві /снт. Покотилівка Харківської обл./.

Апробація роботи і публікації. Про матеріали дисертаційної

роботи було повідомлено на Регіональній нараді по польовим, практикам /Мінськ, 1991/, на Міжнародному симпозиумі "Актуальні проблеми світового шовківництва" /Мерефа, 1992/, Міжнародній науковій конференції, присвяченій 150-річчю з дня народження І.І.Мечнікова /Харків, 1995/, на науково-практичній конференції "Екологічні проблеми Харківської області" /Харків, 1995/.

По темі дисертації опубліковано 12 робіт.

Структура і об'єм дисертації. Дисертація складається з вступу, 7 глав, висновків і рекомендацій виробництву, додатку, списку літератури. Останній містить 253 назв, в тому числі 56 іноземними мовами. Робота викладена на 140 сторінках машинописного тексту, включає 11 таблиць.

ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для дослідження були вибрані три представника ряду лускокрилих комах (Lepidoptera), які відрізняються за господарським значенням, біологічними особливостями, харчовою спеціалізацією, цілями розведення і ступенем розробленості прийомів добору вихідного біоматеріалу для закладання їх культур.

Шовковичний шовкопряд *Bombyx mori* L. /родина справжніх шовкопрядів - Bombycidae/ - основний продуцент сировини для шовкоперероблювальної промисловості, розводиться на протязі п'яти тисяч років і є єдиною повністю одомашненою комахою; найбільш добре вивчений об'єкт технічної ентомології.

При роботі з шовковичним шовкопрядом ми використовували промислові породи, районовані в Україні: Білококонну 1 покрашену /Б-1 покр/, Білококонну 2 покрашену /Б-2 покр/, Мерефу 6 /М-6/, Мерефу 7 /М-7/, Мерефу 8 /М-8/, Українську 1 /Укр-1/,

Українську 2 /Укр-2/, Українську ІЗ /Укр-ІЗ/ та Японську АК.

Непарний шовкопряд *Oseria dispar* L. /родина хвилівок - *Orgyidae*/ - належить до числа розповсюджених шкідників лісу і саду. Його розведення необхідне для приготування вірусних препаратів, що використовуються в мікробіологічному захисті рослин, застосування як текст-об'єкту в біологічних експериментах тощо.

В дослідженнях ми використовували три дикі популяції, отримані з різних районів Криму - Бахчисарайську, Севастопольську і Ялтинську.

Американський білий метелик *Huphantria cunea* Drury /родина ведмедиць - *Arctiidae*/ - один з небезпечних карантинних шкідників. Його культивування необхідне для отримання вірусних препаратів, оцінки інсектицидів, здійснення методу аутоцидної боротьби.

Для роботи ми використовували дві його популяції - Красноградську і Херсонську.

Такий вибір об'єктів дозволяє досить повно підійти до вирішення поставленої задачі - розробити принципи і методи добору вихідного матеріалу для культивування комах, вивчити можливості вибору критеріїв оцінки його якості.

Інкубацію яєць, лялечок і виховання гусениць взятих об'єктів проводили в оптимальних для кожного виду режимах.

У роботі використовували індивідуальний і груповий методи реєстрації біологічних параметрів.

При проведенні дослідження враховувалися наступні біологічні показники:

- для шовковичного шовкопряду: життєздатність яєць /%/,

життєздатність гусениць /%/ , життєздатність лялечок /%/ , співвідношення статей, кількість яйцекладучих самок /%/ , середню індивідуальну плодючість самок /шт/ , активність дихання сперматозоїдів, відновну активність гемолімфи;

- для непарного шовкопряду: життєздатність яєць /%/ , життєздатність лялечок /%/ , співвідношення статей, кількість яйцекладучих самок /%/ , середню індивідуальну плодючість самок /шт/ , чутливість до статевого аттрактанту самки;

- для американського білого метелика: життєздатність яєць /%/ , життєздатність гусениць /%/ , середню вагу лялечки /мг/ , життєздатність лялечок /%/ , співвідношення статей, середню індивідуальну плодючість самок /шт/ .

Життєздатність яєць шовковичного шовкопряду визначалася по 4 наважкам вагою 100 мг кожна, після прорахунку яєць і їх послідуєчюї інкубації. Облік вели на третій і сьомий день виходу гусениць шляхом підрахунку грени, що не ожила, і послідуєчюго перерахунку.

Життєздатність яєць непарного шовкопряду визначалася шляхом відбору випадкових проб з 4 повторностей по 100 штук яєць в кожній. Яйця інкубували, і вели підрахунок на протязі всього періоду виходу гусениць.

Життєздатність личинок непарного і шовковичного шовкопрядів та американського білого метелика визначали за співвідношенням вихідної кількості личинок, що були взяті на вигодівлю, до кількості отриманих здорових лялечок.

Життєздатність лялечок визначали за процентом метеликів, що відродилися з 100 лялечок, в 4-кратній повторності. Одночасно визначали співвідношення статей.

Для визначення індекса загальної життєздатності і показника перспективного росту чисельності популяції використовували формулу, запропоновану О.З.Злотіним і Н.П.Чепурною /1994/.

Інші показники визначалися за загальноприйнятими методиками. Методичні особливості досліджень описані у відповідних розділах роботи.

Статистичну обробку матеріалів ми виконували за В.Ю.Урбахом /1963/, Б.П.Ушаковим /1978/, В.П.Приставком /1979/ на мікрокалькуляторі МК-64.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

І. Оцінка загальної життєздатності і перспективного росту чисельності популяції непарного шовкопряду різних фаз градації.

Однією з ознак якості вихідного біоматеріалу є фаза градаційного циклу розвитку популяції, з якої він був відібраний.

При проведенні дослідження ми використовували три популяції непарного шовкопряду, які виховувалися в лабораторних умовах на поживному середовищі Дубко. На основі отриманих даних проводили розрахунки і їх значення вводили в формулу /Злотин, Чепурная, 1994/: $V = V_1 \cdot V_2 \cdot V_3$, де V - загальна життєздатність, V_1 - життєздатність яєць, V_2 - життєздатність личинок, V_3 - життєздатність лялечок.

Щоб прогнозувати перспективний ріст чисельності популяції, цю формулу модифікують: $R = V \cdot N \cdot F$, де R - перспективний ріст чисельності популяції, V - загальна життєздатність, N - кількість /частка/ яйцекладучих самок, F - середня плодовитість самки.

Отримані дані занесені до табл. І.

Таблиця І. Загальна життєздатність і перспективний ріст чисельності популяцій непарного шовкопряду різних фаз градації /середнє за 1993-94 рр./

Показники	Бахчисарайська	Севастопольська	Ялтинська
Життєздатність яець (V_1),%	87,5 ± 0,3	95,8 ± 1,9	59,0 ± 1,7
Життєздатність личинок (V_2),%	68,0 ± 0,2	80,5 ± 0,7	42,6 ± 2,3
Життєздатність лялечок (V_3),%	83,0 ± 2,1	91,3 ± 1,3	34,3 ± 1,2
Загальна життєздатність (V), %	49,4 ± 1,3	70,4 ± 1,8	8,6 ± 0,6
Частка яйцекладучих самок (N),%	38,6 ± 0,4	44,7 ± 0,3	27,0 ± 1,2
Середня плодючість самки (F),%	87,0 ± 3,2	120,0 ± 5,3	48,0 ± 0,7
Перспективний ріст чисельності популяції (R),раз	16,5 ± 1,1	37,8 ± 1,3	1,2 ± 0,5

Як бачимо, всі три популяції мають достовірні відмінності, що свідчить про їх знаходження в різних градаційних фазах. Придатною популяцією для закладання стартової культури слід вважати Севастопольську, яка знаходиться у фазі зростання чисельності.

Таким чином, використання вказаної формули дозволяє чітко визначити якість природних популяцій комах і відібрати найбільш життєздатний біоматеріал.

2. Методи оцінки фізіологічного стану комах на різних стадіях розвитку.

2.1. Дослідження зараженості мікроорганізмами яєць непарного шовкопряду в природних популяціях.

На поверхні яєць завжди знаходяться мікроорганізми, які часто відіграють вирішальну роль в патогенезі інфекційних захворювань і загибелі комах. Ступінь забрудненості поверхні яєць грибовою і бактеріальною мікрофлорою є одним з показників їх якості.

Для визначення зараженості бактеріальною флорою яйця трьох популяцій непарного шовкопряду висівали на м'ясо-пептонний агар, грибовою флорою – на сусло-агар. Щоб визначити наявність мікроорганізмів всередині яєць, їх обробляли розчином дезинфіктанту – гіпохлоритом натрію, а потім в стерильних умовах їх розтирали і робили висів на середовища. Контроль – висів яєць, поверхня яких була знезаражена гіпохлоритом натрію.

В результаті обліку росту колоній мікроорганізмів було встановлено, що яйця Ялтинської популяції найбільш інфіковані /кількість яєць, що дали ріст колоній бактерій – $77,5 \pm 0,5\%$, колоній грибів – $87,5 \pm 0,5\%$ /, яйця Севастопольської популяції виявилися найменш інфікованими /відповідно $7,5 \pm 0,5\%$ і $8,8 \pm 0,2\%$ /.

Всередині яєць бактеріальна і грибкова мікрофлора не була виявлена.

Паралельно був проведений мікроаналіз яєць з метою виявлення збудника нозематозу. Яйця всіх трьох популяцій виявилися вільними від цього паразиту.

Результати аналізу дають змогу рекомендувати яйця Севастопольської популяції як вихідний біоматеріал для створення

культури /не виключаючи проведення інших методів оцінки/.

2.2. Оцінка якості яєць популяцій непарного шовкопряду.

Для оцінки якості трьох популяцій непарного шовкопряду ми застосовували анатомо-морфологічний аналіз їх яєць. З кожної популяції були відібрані середні проби яєць по 300 мг кожна в трьохкратній повторності. За допомогою візуального проглядання яєць під бінокелем та скальпування за методом Є.М.Михайлова /1952/ їх розділили на фракції. Кількість яєць у кожній фракції підраховували і виражали в процентному відношенні до вихідної кількості яєць в даній пробі. Отримані результати відображені в табл. 2.

Таблиця 2. Оцінка якості яєць непарного шовкопряду різних популяцій /середнє за 1993-94 рр./

Показники	Бахчисарайська	Севастопольська	Ялтинська
Загальна кількість яєць в наважці, шт	408 ± 12	334 ± 8	489 ± 7
Повноцінні яйця, %	78,5 ± 2,7	91,9 ± 1,8	42,4 ± 2,4
Незапліднені яйця, %	10,8 ± 0,8	1,4 ± 0,7	28,4 ± 1,2
Заражені паразитами, %	5,8 ± 0,4	2,0 ± 0,2	16,2 ± 0,4
З загиблим зародком, %	2,2 ± 0,4	3,2 ± 0,2	5,8 ± 0,2
Дефектні яйця, %	2,7 ± 0,2	1,5 ± 0,1	7,2 ± 0,1
Середня маса 1 яйця, мг	0,74 ± 0,07	0,90 ± 0,09	0,61 ± 0,08

Порівняльна характеристика показала, що яйця Севастопольської популяції відрізняються від яєць Бахчисарайської і Ялтинської

свою високою якістю і можуть використовуватися як вихідний біоматеріал.

Анатомо-морфологічний аналіз яєць комах є простим і досить об'єктивним методом визначення їх якості при створенні культур.

2.3. Залежність між відновною активністю гемолімфи шовковичного шовкопряду і його життєздатністю.

Нами було зроблено припущення, що між відновною активністю комплексу ферментних субстанцій гемолімфи личинок, яку можна визначити за швидкістю знебарвлення перманганату калію $KMnO_4$, і життєздатністю гусениць існує взаємозв'язок. Для перевірки цього ми взяли 8 порід шовковичного шовкопряду і з кожної породи на другий день У віку відібрали гусениць, отримали гемолімфу і перевірили по кожній породі швидкість знебарвлення нею перманганату калію. Отримані дані занесені до табл. 3.

Таблиця 3. Залежність між відновною активністю гемолімфи шовковичного шовкопряду і його життєздатністю /середнє за 1994-95 рр./

Порода	Відновна активність гемолімфи /час знебарвл. $KMnO_4$, сек/	Фактична життєздатність, %
Б-1 покр.	$6,0 \pm 0,2$	$74,5 \pm 0,4$
Б-2 покр.	$6,2 \pm 0,3$	$75,6 \pm 0,5$
М-6	$5,9 \pm 0,2$	$73,6 \pm 0,4$
М-7	$5,4 \pm 0,2$	$76,8 \pm 0,5$
М-8	$5,8 \pm 0,1$	$73,2 \pm 0,3$
Укр-1	$5,3 \pm 0,2$	$72,9 \pm 0,8$
Укр-2	$4,0 \pm 0,1$	$83,0 \pm 1,2$
Укр-13	$8,1 \pm 0,4$	$70,7 \pm 0,9$

З табл. 3 видно, що між відновною активністю гемолімфи шовковичного шовкопряду і його життєздатністю існує зв'язок. Коефіцієнт кореляції дорівнює 0,810.

Таким чином, для оцінки життєздатності личинок комах запропоновано простий метод оцінки за відновною активністю гемолімфи /швидкостю знебарвлення гемолімфою розчину перманганату калію/.

2.4. Залежність між масою лялечки американського білого метелика і його життєздатністю.

При проведенні експеримента визначалася середня маса лялечки-самки і лялечки-самця. Потім при оптимальних умовах лялечок інкубували і проводили облік виходу імаго. Метеликів спарювали і визначали середню індивідуальну плодючість самки. Яйця інкубували, отриманих гусениць вигодовували на поживному середовищі Дубко. Результати обліку життєздатності занесені до табл. 4.

Таблиця 4. Характеристика основних біологічних показників американського білого метелика різних популяцій /середнє за 1993-95 рр./

Показники	Красноградська	Херсонська
Середня маса лялечки-самки, мг	103,9 ± 4,5	138,0 ± 8,1
Середня маса лялечки-самця, мг	72,5 ± 4,9	86,3 ± 5,2
Співвідношення статей, ♀:♂	1:1,3	1,7:1
Вихід імаго, %	83,4 ± 2,0	87,6 ± 1,9
Плодючість самки, шт	1120 ± 19	1380 ± 40
Відродження гусениць, %	83,4 ± 2,0	87,6 ± 1,9
Життєздатність гусениць, %	81,4 ± 1,8	88,4 ± 1,1

З табл. 4 видно, що показники Херсонської популяції вищі за такі Красноградської. Звідси, при доборі на стадії лялечки перевагу слід віддавати популяції, що має більшу масу лялечки, так як це має істотний вплив на життєздатність потомства.

2.5. Оцінка життєздатності імаго-самців непарного шовкопряду за їх чутливістю до статевого феромону самки.

За основу дослідження була покладена встановлена залежність між ступенем чутливості самців шовковичного шовкопряду до запаху статевого феромону самки і життєздатністю потомства, що отримується /Злотин и др., 1979, 1981/. Розроблений метод ми використали для оцінки імаго-самців непарного шовкопряду.

З Севастопольської популяції було виділено дві групи самців, які реагували на екстракт статевого феромону самки з активністю $1 \cdot 10^{-10}$ і які не реагували. Самців обох груп спарили з самками і їх потомство вигодували окремо на поживному середовищі Дубко.

Результати обліку показників містяться в табл. 5.

Таблиця 5. Залежність життєздатності потомства непарного шовкопряду від добору самців за їх реакцією на мінімальну концентрацію статевого феромону самки /Севастопольська популяція, середнє за 1994-95 рр./

Реакція самців на запах статевого феромону	Життєздатність гусениць, %	Життєздатність лялечок, %	Яйцекладучих самок, %
Самці реагували на феромон в концентрації $1 \cdot 10^{-10}$	83,9 ± 1,1	77,2 ± 1,7	40,0 ± 1,0
Самці не реагували на феромон в концентрації $1 \cdot 10^{-10}$	72,1 ± 1,8	64,2 ± 0,9	37,3 ± 0,6

Як бачимо, потомство самців, що реагували на мінімальну концентрацію статевого феромону самки, достовірно переважає над потомством самців, що на таку концентрацію не реагували, за показниками життєздатності. Даний метод може розглядатися як ефективний засіб встановлення фізіологічного стану популяцій на стадії імаго і добору життєздатного біоматеріалу.

2.6. Оцінка імаго-самців шовковичного шовкопряду за їх здатністю до багатократного запліднення самок.

Базуючись на тому факті, що при повторних спарюваннях ослаблені самці виділяють сперму значно пізніше, ніж більш життєздатні /Струнников, 1959/, ми провели дослід по вивченню здатності імаго-самців шовковичного шовкопряду до багатократного запліднення самок. Для досліду було взято 3 породи. З кожної породи відібрали по 5 самців в 3-кратній повторності і їх спарювали з 10 самками /кожного окремо/. Тривалість спарювання - 1 год., інтервал між спарюваннями - 10 хв. Самку після спарювання відсажували в окремий ізоляційний мішечок для відкладання грени. Грену оживляли соляною кислотою, інкубували і посімейно вигодовували. В II віці відбирали з кожної сім'ї по 100 гусениць і продовжували вигодовівлю. В кінці їх розвитку провели облік результатів /див. табл. 6/.

З наведених даних видно, що найбільшою потенційною здатністю до запліднення самок володіють імаго-самці порід Б-І покр. та М-7. Даний спосіб може бути застосований при доборі вихідного біоматеріалу для культивування комах.

2.7. Залежність між активністю дихання сперматозоїдів шовковичного шовкопряду і його життєздатністю.

Для визначення дихальної активності сперматозоїдів ми використовували метод визначення цього показника за швидкістю знебарвлення ними метиленової синьки /Щулимович, 1967/. Сперматозоїди

Таблиця 6. Потенційні можливості самців до багатократного запліднення самок шовковичного шовкопряду /облік за I-ю та IO-ю самками, середнє за 1993-94 рр./

Показники	Б-1 покр.		Б-2 покр.		М-7	
	I	IO	I	IO	I	IO
Кількість яєць в кладці, шт.	693 ± 13	405 ± 8	731 ± 22	449 ± 17	713 ± 21	435 ± 15
Запліднених яєць, %	97,0 ± 0,3	30,0 ± 0,3	96,4 ± 1,0	32,1 ± 0,3	98,0 ± 0,1	38,0 ± 0,4
Життєздатність яєць, %	89,9 ± 0,2	71,6 ± 0,1	92,2 ± 0,5	74,4 ± 0,5	94,8 ± 2,0	76,3 ± 0,4
Життєздатність гусениць, %	82,7 ± 0,3	70,0 ± 0,2	84,1 ± 0,4	65,0 ± 0,9	87,3 ± 0,9	82,0 ± 0,9

під час свого дихання забирають кисень метиленової синьки, і вона знебарвлюється. Відповідно, швидке її знебарвлення свідчить про інтенсивність дихання сперматозоїдів і їх запліднюючу здатність.

Дослід проводили на 4 породах шовковичного шовкопряду в період весняної вигодівлі. Від отриманих імаго-самців відбирали сперму, використовуючи реципрокних самок. Зразу після спарювання у самки вирізали копулятивну сумку, до її вмісту додавали краплю 0,01%-ного розчину метиленової синьки, і отриману суміш набирали в тоненький капіляр. Якість сперми визначали за терміном знебарвлення метиленової синьки. Результати експерименту занесені до табл. 7.

В умовах даного експеримента час знебарвлення метиленової синьки відповідає життєздатності гусениць. Між ознаками була встановлена кореляція, коефіцієнт якої дорівнює 0,986. Даний метод можна рекомендувати як спосіб добору високожиттєздатних імаго-

Таблиця 7. Залежність між активністю дихання сперматозоїдів шовковичного шовкопряду і його життєздатністю /середнє за 1994-95 рр./

Порода	Активність дихання сперматозоїдів /час знебарвлення метиленою синьки, хв./	Життєздатність гусениць, %
Б-2 покр.	$1,7 \pm 0,1$	$94,3 \pm 1,2$
М-8	$2,1 \pm 0,2$	$92,0 \pm 1,0$
Японська АК	$2,5 \pm 0,1$	$90,0 \pm 0,8$
Укр-ІЗ	$4,0 \pm 0,3$	$79,9 \pm 0,7$

самців комах для закладання культур.

2.8. Залежність біологічних показників культур шовковичного шовкопряду, що були отримані при застосуванні методів добору і відібраних випадково.

Для роботи було взято 2 районовані породи шовковичного шовкопряду. В першому варіанті культуру закладали з самців, які реагували на запах мінімальної концентрації статевого феромону самки /активність $1 \cdot 10^{-10}$ /. Їх спарювали з самками, яких після відкладання грени перевіряли на стійкість до летальної дії ДДВ₂ /Злотин и др., 1982/. Грену, отриману від "сильних" самок, оживляли соляною кислотою, інкубували, і гусениць вигодували. Після завершення повного циклу розвитку отримані результати вводили в формулу загальної життєздатності і перспективного росту чисельності популяції. Результати відповідних розрахунків містяться в табл. 8. Контроль - відповідні показники культури, що була відібрана випадково.

З табл. 8 видно, що показники загальної життєздатності і

Таблиця 8. Залежність біологічних показників культур шовко-
вичного шовкопряду, що були отримані при засто-
суванні методів добору і відібраних випадково
/середнє за 1994-95 рр./

Показники	Укр - 1		Укр - 2	
	з добором	! без добору	з добором	! без добору
$V_1, \%$	$89,7 \pm 0,3$	$85,3 \pm 0,4$	$90,7 \pm 0,2$	$87,0 \pm 0,3$
$V_2, \%$	$83,4 \pm 1,7$	$78,0 \pm 1,5$	$91,4 \pm 1,4$	$86,8 \pm 1,1$
$V_3, \%$	$96,8 \pm 0,5$	$91,7 \pm 1,1$	$95,9 \pm 0,4$	$93,7 \pm 0,2$
$V, \%$	$72,4 \pm 1,5$	$61,7 \pm 1,4$	$79,5 \pm 1,2$	$76,3 \pm 1,9$
$N, \%$	$49,7 \pm 2,1$	$43,5 \pm 1,7$	$41,1 \pm 2,3$	$35,7 \pm 2,2$
$F, \text{ шт}$	$715,2 \pm 12$	$689,5 \pm 10$	$769,0 \pm 12$	$743,3 \pm 10$
$R, \text{ раз}$	$257,3 \pm 12,9$	$185,1 \pm 8,8$	$251,3 \pm 15,1$	$202,5 \pm 13,7$

перспективного росту чисельності популяції достовірно вищі у культурі, де біоматеріал був відібраний за допомогою рекомендованих методів.

3. Біологічні показники стартових популяцій непарного шовкопряду з різною початковою кількістю особин.

Для збереження високого рівня генетичної гетерогенності і забезпечення високої життєздатності необхідною умовою є визначення приблизної чисельності ізолята для закладання стартової культури /Руснак, 1987; Злотин, 1989; Тамарина, 1990/, тим більше що це питання залишається дискусійним.

Для порівняння біологічних показників було створено дві стартові колонії Севастопольської популяції непарного шовкопряду з різною початковою кількістю особин - 500 і 2500.

Особин вигодували до повного завершення життєвого циклу при

оптимальних умовах на середовищі Дубко протягом шести генерацій.

Результати показали, що погіршення біологічних показників у стартової колонії з 500 особин почалося в 3 генерації, а в 6-ій генерації популяція загинула від активації латентного вірусу поліедрозу і інбридингу. Біологічні показники колонії з чисельністю 2500 особин в процесі культивування дуже різкої зміни не зазнали, і культура збереглася життєздатною. Тому при закладанні культур непарного шовкопряду треба брати не менше 2500 особин для збереження генофонду популяції і запобігання генетичної елімінації.

4. Використання гіпохлорита натрію для очищення яєць непарного шовкопряду від поверхневої мікрофлори.

Бактеріальна і грибова забрудненість поверхні яєць комах суттєво впливає на якість майбутньої культури. Гіпохлорит натрію — ефективний дезинфікант з широкою протимікробною дією. Для знезараження поверхні яєць комах він застосовується давно, особливого поширення набув в практичному шовківництві /Кириченко, 1995/.

Для дезинфекції яєць непарного шовкопряду гіпохлорит натрію вперше був використаний Д.Леонардом /Leonard, 1966/.

Ми провели перевірку впливу гіпохлорита натрію на яйця Севастопольської популяції непарного шовкопряду в концентрації, що була рекомендована для греди шовковичного шовкопряду — 0,2% по активному хлору з 25-хвилинною експозицією обробки. Яйця після обробки інкубували і гусениць вигодували на середовищі Дубко.

Досліди показали, що гіпохлорит натрію не спричиняє негативного впливу на ембріони яєць в такій концентрації; процент відродження гусениць у варіанті з обробкою яєць даним препаратом не відрізняється від контролю /яйця, оброблені стерильною водою/.

Але життєздатність гусениць достовірно вища, ніж в контролі /83,0±0,2% проти 64,0±0,3%/. Це зумовлено тим, що при відродженні гусениць з стерильних яєць збудники хвороб не потрапляють до їх шлунку і не спричиняють їх загибелі.

Отримані дані дають змогу рекомендувати до ширшого використання гіпохлорита натрію як дезинфіканту для очищення вихідного біоматеріалу непарного шовкопряду.

В И С Н О В К И

1. При доборі вихідного біоматеріалу слід використовувати принцип випадкової вибірки для аналізу стану популяції, який дає повне уявлення про її дійсний стан і відповідність до вимог майбутньої програми розведення. Якщо така відповідність встановлена, добір здійснюють за цільовим принципом.

2. Перед добором вихідного біоматеріалу збирають повну інформацію про біологію, екологію, фізіологію, біохімію і генетику виду, що планується для введення в культуру. Отримують також дані про чисельність та щільність природних популяцій і їх розподілення в ареалі.

3. Вихідний біоматеріал краще всього відбирати в діпаузуючій стадії, яка найбільш зручна в роботі і дає змогу отримати більше інформації про його стан.

4. Оцінку якості біоматеріалу проводять з урахуванням фази градації популяції /для видів, що дають спалахи масового розмноження/ і на всіх стадіях циклу розвитку виду, базуючись на еколого-біологічних особливостях комах.

5. Ступінь зараженості яєць комах з різних популяцій мікроорганізмами є одним з показників їх придатності для використання

як вихідного біоматеріалу.

6. Анатомо-морфологічний аналіз є простим і досить об'єктивним методом визначення якості яєць.

7. Для визначення якості вихідного біоматеріалу на стадії личинки запропоновано простий метод оцінки за відновною активністю гемолімфи /за швидкістю знебарвлення перманганата калію/.

8. При доборі вихідного біоматеріалу на стадії лялечки добір ведуть за максимальним показником маси тіла.

9. Оцінку життєздатності імаго-самців доцільно проводити за їх чутливістю до мінімальної концентрації статевого феромону самки; за здатністю до багатократного запліднення самок; активністю дихання сперматозоїдів /за швидкістю знебарвлення метиленової синьки/.

10. Як узагальнюючий метод оцінки якості вихідного біоматеріалу пропонується застосування в лабораторії формули загальної життєздатності і перспективного росту чисельності популяції.

11. Біологічні показники біоматеріалу, відібраного за допомогою рекомендованих методів, достовірно вищі за такі того матеріалу, який був відібраний випадково.

12. В наших експериментах мінімальною початковою кількістю стартової колонії непарного шовкопряду було 2500 особин, що дозволило зберегти генофонд популяції і запобігти генетичній елімінації культури.

РЕКОМЕНДАЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

I. Для добору вихідного біоматеріалу з природних популяцій або інсектарних культур доцільно провести оцінку його стану за допомогою випадкової вибірки з метою встановлення його придатності

для реалізації майбутньої програми розведення.

2. При встановленні доцільності використання біоматеріалу рекомендується провести пробну вигодівлю в умовах карантинної лабораторії з оцінкою загальної життєздатності і перспективного росту чисельності популяції.

3. В умовах відповідності якості відібраного біоматеріалу завданням програми розведення подальший добір ведуть: на стадії яйця - за максимальними показниками маси яєць і їх життєздатності, за мінімальною зараженістю паразитами і патогенами; на стадії личинки - за фактичною життєздатністю, за відновною активністю гемолімфи; на стадії лялечки - за максимальною масою лялечок, за їх життєздатністю; на стадії імаго - добір самців за їх чутливістю до мінімальної концентрації статевого феромону самки, за здатністю до багатократного запліднення самок, за активністю дихання сперматозоїдів, добір самок за їх максимальною плодючістю.

4. Для запобігання генетичної елімінації культури та збереження генофонду популяції початковий розмір стартової колонії має бути не меншим 2500 особин.

По темі дисертації опубліковані наступні роботи:

1. Об участии студентов в изучении биологической оценки биостимуляторов // Матер. Регион. совещ. по полевым практикам /Минск, окт. 1991 г./ . Минск, 1991. С. 98-99 /у співавторстві/.

2. Новый биостимулятор продуктивности "Инзог" // Тез. Междунар. симп. "Актуальные проблемы мирового шелководства" /Харьков, июнь 1991 г./ . Харьков, 1992. С. 102 /у співавторстві/.

3. Програма гуртків юних шовководів: Методичні поради для студентів природн. ф-тів та вчителів шкіл. Харків: ХДПІ, 1992.

20 с. /у співавторстві/.

4. В кружке юных шелководов // Биология в шк. 1993. № 7. С. 67-68 /у співавторстві/.

5. Розведення комах у школі та робота з ними. Харків: РВП "Оригінал", 1993. 116 с. /у співавторстві/.

6. Безопасность при работе с насекомыми // Изв. Харьк. энто-молог. об-ва. 1994. Т. 2. № 1. С. 155-163 /у співавторстві/.

7. Шовківництво: Методичні рекомендації і короткий зміст курсу. Харків: ХДПУ, 1995. 84 с. /у співавторстві/.

8. Ентомоіндикація стану навколишнього середовища в системі комплексного екологічного моніторингу // Зб. наук. праць природн. ф-ту ХДПУ ім.Г.С.Сковороди. 1995. Вип. 1. С. 57-60 /у співавторстві/.

9. Програма гуртків юних шовководів: Методичні поради для студентів природн. і сільськогосп. ф-тів та вчителів шкіл. Харків: РВП "Оригінал", 1995. 30 с. /у співавторстві/.

10. Техническая энтомология: задачи и перспективы развития // Биология в шк. 1996. № 1. С. 5-7 /у співавторстві/.

11. Связь между жизнеспособностью и активностью дыхания сперматозоидов у тутового шелкопряда // Матер. Междунар. науч. конф., посвящ. 150-летию со дня рожд. И.И.Мечникова /Харьков, ноябрь 1995 г./ Харьков, 1996. С. 132-134 /у співавторстві/.

12. Состояние природных популяций насекомых как показатель общего состояния окружающей среды // Тез. докл. науч.-практ. конф. "Экологические проблемы Харьковской области" /Харьков, декабрь 1995 г./ Харьков, 1996. С. 35-36 /у співавторстві/.

Бойчук Ю.Д. Отбор исходного материала для культивирования насекомых: Диссертация на соискание ученой степени кандидата

біологічних наук. Спеціальність 03.00.09 – Ентомологія.
Харківський державний педагогічний університет імені
Г.С.Сковороди. Харків, 1996. Рукопись.

В роботі містяться теоретичні та експериментальні дослідження принципів і методів відбору вихідного біоматеріалу з природи та інсектаріїв для створення культур комах. Вперше на основі теоретичного узагальнення та результатів експериментів сформульовані біологічні основи відбору вихідного біоматеріалу для культивування комах. Осуществлено впровадження запропонованих методів відбору в виробництво.

Ключові слова: культура комах, добір вихідного біоматеріалу, життєздатність комах, фізіологічний стан популяції, якість біоматеріалу.

Boichuk Yu.D. Initial material selection for insects cultivation. Thesis for Candidate Degree of Biology. Speciality 03.00.09 – Entomology. Kharkov State Teachers University named after G.S.Skovoroda, 1996. Handwriting copy.

The work deals with theoretical and experimental investigations about principles and methods of initial material selection, in the nature and insectarium, for creating insects cultures. For the first time on the basis of theoretical generalization of data and experimental outcomes biological ground of initial material selection for insects cultivation was formulated. Above mentioned methods of selection were introduced in production.

Підписано до друку 09.07.96 р. Папір писальний. Формат 60x84 I/16.
Умовн.-друк.арк. I,0. Обл.-вид.арк. I,0. Тираж 100 прим. Зам.№ 498

Друкарня ХарДАЗТу, ЗІ0050, Харків-50, пл. Фейербаха, 7.

Ab 22.00A

439237

AB 35.664 4