

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
«Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского  
отделения Российской академии наук»

А. С. Осокина, Л. М. Колбина, А. В. Гуцин

## МОНОГРАФИЯ

Биологические основы разведения большой восковой  
моли (*Galleria mellonella* L.) как источника биологически  
активных веществ

Ижевск 2019

УДК 595  
ББК 28. 691  
075

Рецензенты:

С.Л. Воробьева – профессор кафедры кормления и разведения  
ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА, доктор с.-х наук;

И.М. Хаертдинов – старший научный сотрудник ФГБУН  
Удмуртского ФИЦ УрО РАН, кандидат с.-х. наук.

**Осокина А. С.**

075 Биологические основы разведения большой восковой  
моли (*Galleria mellonella* L.) как источника биологически  
активных веществ: [монография] / А. С. Осокина, Л. М. Колбина,  
А. В. Гуцин. – Ижевск: Издательство Анны Зелениной, 2019. – 166 с.

ISBN 978-5-6042106-5-9

В монографии на основе обобщения литературных и собственных исследований авторами предложена технология выращивания большой восковой моли в лабораторных условиях при контролируемых факторах, как источника биологически активных компонентов.

Предназначена для научных сотрудников, специалистов биологических и сельскохозяйственных профессий, научных сотрудников, преподавателей, аспирантов и студентов.

**УДК 595**  
**ББК 28. 691**

ISBN 978-5-6042106-5-9

© Осокина А. С., Колбина Л. М.,  
Гуцин А. В.

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	5
ГЛАВА 1. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬШОЙ ВОСКОВОЙ МОЛИ ( <i>GALLERIA MELLONELLA L.</i> ) .....	10
ГЛАВА 2. ПИТАНИЕ И УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ <i>G. MELLONELLA</i> .....	19
2.1. Компоненты питательных сред.....	19
2.2. Влияние естественных питательных сред на морфофизиологические показатели <i>G. mellonella</i> .....	26
2.3. Действие естественного корма с добавлением лекарственных растений на морфофизиологические особенности <i>G. mellonella</i> .....	29
2.4. Влияние искусственной питательной среды на морфофизиологические показатели <i>G. mellonella</i> .....	34
2.5. Взаимосвязь искусственных питательных сред с добавлением лекарственных сред и морфофизиологических параметров <i>G. mellonella</i> .....	42
2.6. Математическое планирование эксперимента .....	44
2.7. Химический анализ питательных сред и <i>Galleria mellonella</i> .....	64
2.8. Определение степени плетения паутины и консистенции питательной среды для жизнедеятельности личинок <i>G. mellonella</i> .....	69
ГЛАВА 3. ЛАБОРАТОРНОЕ СОДЕРЖАНИЕ И ВЫРАЩИВАНИЕ <i>G. MELLONELLA</i> .....	74
3.1. Температурный режим .....	74
3.2. Относительная влажность.....	75

3.3. Динамика влияния абиотических условий на морфофизиологические показатели личинок <i>G.mellonella</i> , выращенные на старых пчелиных сотах .....	76
3.4. Динамика влияния абиотических условий на морфофизиологические показатели личинок, выращиваемые на ЕПС с добавлением листьев смородины.....	79
3.5. Динамика влияния абиотических условий на морфофизиологические показатели личинок, выращиваемые на ИПС по рецепту Е.М. Шагова и др. ....	80
3.6. Динамика влияния абиотических условий на морфофизиологические показатели личинок, выращиваемые на ИПС с добавлением травы пустырника.....	81
3.7. Условия содержания большой восковой моли в лаборатории .....	83
3.8. Конструкция «Молярий».....	87
ГЛАВА 4. ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ ЭКСТРАКТА <i>GALLERIA MELLONELLA</i> КАК ИСТОЧНИКА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ.....	91
4.1. Влияние <i>G. mellonella</i> на продуктивность сельскохозяйственных животных.....	91
4.2. Изучение адаптогенных свойств организма при применении экстракта <i>Galleria mellonella</i> .....	99
4.3. Изучение влияния экстракта личинок <i>G.mellonella</i> на поведенческие реакции лабораторных мышей методом «Открытое поле» и «Суок-тест».....	114
ГЛАВА 5. РАСЧЕТ ЭКОНОМИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОВЕДЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ .....	120
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	127
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	129
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	130
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	149

## ВВЕДЕНИЕ

Важной задачей в современном обществе является необходимость получения новых научных знаний об использовании биологических ресурсов. В последние годы возрос интерес к массовому разведению насекомых в связи разработкой интегрированных систем защиты растений, животных и здоровья человека от вредных членистоногих [Тамарина Н.А., 1987; Злотин А.З. 1989; Чернышев Б.В., 1996].

На сегодняшний день перед обществом в современных условиях урбанизации остро стоят вопросы стрессоустойчивости, резистентности организма к существующим медикаментозным формам лекарственных средств и поиска альтернативной, доступной формы аминокислот, доступной для всех слоев населения. Решением всех этих важных аспектов может служить функциональные продукты питания.

В соответствии с мировой практикой продукт считается функциональным, если регламентируемое содержание микронутриентов в нем достаточно для удовлетворения (при обычном уровне потребления) 25–50% от среднесуточной потребности в этих компонентах [Глухова А.И., Шичкина Е.В., 2012]. Одним из значимых биологических ресурсов среди насекомых является большая восковая моль *Galleria mellonella* L. (БВМ). Однако ее изучение и практическое применение полученных на ее основе результатов уделяется недостаточное внимание.

*Galleria mellonella* L. уникальна своей способностью существовать в пчелиной семье и переваривать пчелиный воск [Смирнов А.М., 1972]. Она служит сырьем для приготовления косметических средств и медицинских препаратов. Доказано, что вытяжка из личинок БВМ имеет кардиотропное и кардиопротекторное, антистрессорное и противотуберкулезное действие [Спиридонов Н.А. и др., 1995; Баканева В.Ф., 2002]. В своей работе Е.С. Останина (2007) доказала, что хитозан личинок *G. mellonella* обладает противотуберкулезной активностью.

Российские учёные П.П. Пурыгин и др. (2007), О.С. Срибная (2010), Д.А. Костина и др. (2013) отмечают, что наряду с большим

количеством антимикробных пептидов, выделяемых из насекомых, в гемолимфе личинок *G. mellonella* обнаружен антимикробный пептид, угнетающий рост *E. coli* и оказывающий влияние на скорость метаболических процессов клеток *E. coli*.

Большая восковая моль является универсальной моделью для изучения иммунного ответа насекомых и факторов вирулентности многих патогенов, включая патогены человека, такие как *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum* и *Aspergillus fumigatus* [Gibreel & Upton, 2013; Gomez-Lopez et al., 2014; Koch et al., 2014; Munoz-Gomez et al., 2014; Vaz et al., 2015; Maekawa et al., 2015].

С другой стороны, *G. mellonella* – хорошая модель для изучения ее взаимодействия с природными патогенами насекомых, такими как *Bacillus thuringiensis*, *Beauveria bassiana*, которые не являются патогенными для здоровых людей, и по этой причине, могут использоваться в сельском хозяйстве для производства биоинсектицидов [Ortiz-Urquiza et al., 2015; Ruiu, 2015]. *G. mellonella* – дешевое и относительно легко культивируемое насекомое в лабораторных условиях.

*G. mellonella* широко применяется в научно-производственных целях, например ее используют в лабораторных опытах по изучению биологии развития, физиологии, токсикологии насекомых; применяют как хозяина паразитов-энтомофагов (хальцид, ихневмонид, браконид, тахин) используемых в биологической борьбе. На севере США и в Европе занимаются коммерческим выращиванием личинок *G. mellonella* в качестве рыболовной наживки [Коновалова Т.В., 2011].

Большой интерес к данному насекомому рассматривается с точки зрения альтернативного источника питания для животных и человека. В личинках *G. mellonella* содержится большой процент жирных кислот – 22%, 34,5% незаменимых аминокислот, энергетическая ценность которых составляет 2658 Ккал/ кг [Bednářová M., Borkovcová M., Fišer V., 2012].

Следует отметить актуальность изучения *G. mellonella* и расширить возможности его использования в разных сферах деятельности человека.

Российские и зарубежные ученые-исследователи проводили эксперименты по изучению питательных сред личинок *G. mellonella*, технологии массового выращивания, усвоению влияния экстракта личинок большой восковой моли на организм животного, но имеют малую информативность. Кроме того, биологический потенциал применения *G. mellonella* до конца не раскрыт и требует детального рассмотрения всех аспектов применения насекомого в современном обществе.

В данной монографии на основе обобщения литературных и собственных исследований авторами предложена технология выращивания большой восковой моли в лабораторных условиях при контролируемых факторах, как источника биологически активных компонентов.

Подтверждены выводы ряда исследователей о том, что лекарственные травы в составе искусственных питательных сред значительно влияют на биологические параметры *G. mellonella*, в сравнении с естественными питательными средами. Установлено, наиболее сильное влияние на рост и развитие личинок оказала трава пустырника, повышая массу личинок (171,17 мг) и выживаемость – 90%. Срок развития 23,67 суток, средняя масса куколок имеет высокий показатель ( $167,26 \pm 7,08$  мг, при  $P < 0,05$ ). Из искусственных питательных сред значительное влияние на развитие личинок оказывает рецепт, рекомендованный Е.В. Шаговым и др. (1986).

Используемые ингредиенты естественных и искусственных питательных сред: пчелиный воск, мед, пасечные вытопки соответствуют ГОСТам.

Установлена корреляционная зависимость содержания сырого протеина в питательных средах на содержание сырого протеина в личинках равная +0,64.

Впервые сконструирован, испытан и запатентован «Молярый». Конструкция «Молярый», разработанная нами предназначена

для содержания и разведения большой восковой моли с учетом ее биологических особенностей, увеличивает производительность и удешевление данной конструкции, а также представляет большие возможности для научно-производственных экспериментов.

Подкормка куколками *G. mellonella* оказывает значительное влияние на биологическое состояние и продуктивность японских перепелов. Доказано увеличение яйценоскости на 9,8% и массы яйца на 3,9%, живой массы птицы на 11,2 г, что позволяет применять ее как перспективную биологическую добавку сельскохозяйственным птицам.

При выпаивании 40% экстракта личинок *G. mellonella* различной концентрации выявлено отсутствие токсического воздействия и сохранность клеточных структур внутренних органов экспериментальных животных, наиболее выражен адаптогенный эффект при дозе 0,3%.

Установлено, при оценке экономической эффективности выхода биомассы личинок выявлено, что максимальная масса личинок, выращенных на искусственной питательной среде с добавлением травы пустырника, составила 153,15 г на 1 кг корма. Минимальная себестоимость за 1 кг личинок, выращенных на ЕПС с добавлением цветков липы, составила 842,44 руб.

Применение личинок *G. mellonella* в качестве кормовой добавки в основной корм японских перепелов повышает рентабельность производства перепелиных яиц на 5,24%, использование куколок увеличивает рентабельность на 5,79%.

Авторы монографии выражают искреннюю благодарность главе КФХ «Медонос» Шарканского района Ю. В. Шкляеву, как генератору идеи заниматься большой восковой молью с научной точки зрения. Огромную благодарность выражаем И. В. Ермолаеву – к.б.н., доценту, заведующему кафедры экологии животных (ФГБОУ ВПО «Удмуртский государственный университет») за помощь в проведении экспериментов и в обсуждении работы. Благодарность д.м.н., профессору, заведующему кафедры анатомии и физиологии Ю. Г. Васильеву ФГБОУ ВО «Ижевская государственная сельскохозяйственная академия» за предоставление аппаратуры для



---

съемок гистологических срезов, ценные замечания и за консультации. Благодарность д.м.н., профессору кафедры нормальной физиологии С. Б. Егоркиной (ФГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия») за консультации и ценные замечания.

Также признательны к.с.-х. наук С.Н. Непейвода за помощь при проведении математической и статистической обработки данных; И.М. Хаертдинову, канд. с.-х. наук, старшему научному сотруднику Удмуртский НИИСХ – структурное подразделение ФГБУН Удмуртский ФИЦ УрО РАН за ценные советы.

# ГЛАВА 1

## БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬШОЙ ВОСКОВОЙ МОЛИ (*GALLERIA MELLONELLA* L.)

Большая восковая моль, или пчелиная огнёвка, клочень, мотылица, шашень, шашел (*Galleria mellonella* L.) относится к отряду Lepidoptera и в настоящее время выделена в семейство огневок Pyralidae [Мамаев Б.М., Медведев Л.Н. и др., 1976]. Поскольку *G. mellonella* эволюционно приспособлена обитать в пчелиной семье, то кормовой субстрат для неё находится в пчелином улье, поэтому личинка способна вырабатывать фермент церраза, расщепляющий пчелиный воск [Смирнов А.М., 1972; Литвинова Е.Г., 2010]. Наибольший ущерб личинка *G. mellonella* наносит пчеловодству, разрушая и поедая соты с расплодом, пергой и медом, распространяя заразные болезни пчёл. Поражённые восковой молью пчелиные семьи слабеют и снижают продуктивность [Буренин Н.Л., Котова Г.Н., 1984].

Первое упоминание об этом насекомом было сделано Аристотелем (384–322 до н.э.), позже – в трудах Вергилия (70–19 до н.э.). В первые века нашей эры Колумелла, писатель по сельскохозяйственным темам, упоминает о «пчелиной бабочке», Реамур (1685–1757 гг.) рассказывал об уроне пчелам от восковой моли, Свамерданн (1637–1680 гг.) в Голландии, Карл Линней (1707–1778 гг.) в своих трудах упоминает о вредителе пчеловодства. Завоз вредителя на территорию Америки произошел в начале XX века [F.V. Paddock, 1918].

Долгое время изучение большой восковой моли в России оставалось на уровне наблюдений. Н.Л. Карасевич (1867) описывает два вида восковой моли (*Tinea cerella seu cereana* и *Tinea mellonella*) как два самых изнурительных и вредных врага пчел. Позднее, другой автор Т. Кована (1898), описывает поведение бабочек *G. mellonella* в улье следующим образом: «Бабочку можно увидеть поздним вечером, порхающую вокруг летка. Днём она скрывается где-нибудь по соседству. Если же она попадает в улей, то кладет множество яиц в трещины и сор». В начале XX века И.И. Кораблев (1934) относит мотылицу или восковую моль к семейству хоботковых

(Pyralidae). В это время большая восковая моль еще имела разные латинские названия: *Tinea mellonella*, *Tinea grisella*, *Galleria avearia*, *Galleria cereana*.

*Galleria mellonella* – распространена по всему земному шару, где есть пчелы, за исключением районов с суровым климатом или расположенных на высоте свыше 1500–2000 м над уровнем моря. Особенно сильно этот вредитель размножается в местностях с теплым климатом [Гробов О.Ф., Лихотин А.К., 1987; Коновалова Т.В., 2009, 2011].

Интерес к *G. mellonella* растет с каждым годом, а значит, увеличивается объем информации об её биологии. Цикл развития *G. mellonella* включает следующие стадии: яйцо, личинка (гусеница), предкуколка, куколка (хризалида), взрослая особь (имаго) [Котова А.А. и др. 1984, Ключко Р.Т., Луганский С.Н. и др., 2012].

Яйца БВМ стекловидные, эллиптической формы, жемчужно-белого или светло-кремового цвета, величиной 0,35-0,5 мм [Рут А.И. и др., 1993; Поль Ф., 2004; Кокарев Н., Чернов Б., 2005; Коновалова Т.В., 2009]. Цвет яйца постепенно меняется от белого до желтого. За четыре дня до вылупления, на яйце появляется темное кольцо внутри оболочки корпуса. Отлично сформированные личинки могут быть отчетливо видны, по крайней мере, за 20 часов до разрыва оболочки. В течение этого времени личинка окончательно разрезает оболочку и проделывает отверстие в верхней части яйца, и выходит из рваного отверстия [Paddock F.V., 1918]. Т.В. Коновалова (2009) отмечает, что кладка яиц происходит в щелях, углублениях стенок и потолка улья, рамок или ячейки сотов, на дне улья, редко встречаются яйца на открытой поверхности.

Продолжительность откладки партии яиц (в среднем 54 штуки) происходит примерно за 2 минуты (1–3 минуты), после чего самка остаётся на соте до 1 часа [Paddock F.V., 1918; Гробов О.Ф. и др., 1987]. Многие ученые в своих работах указывают приблизительную цифру инкубационного периода яйца в 8–10 дней [Максимов П.П., 1962; Писковой Ф.Р., 1973; Бондарева О.Б., 2007; Солоденко Ю.Н., Солоденко И.В., 2012]. По данным F.V. Paddock (1918) стадия яйца продолжается в среднем 7–9 дней. В исследовании В. С. Hanumantha Swamy (2008) отмечено, что инкубационный

период яйца составляет 8,6 дней. Ряд зарубежных ученых [El-Sawaf S.K., 1950; Sehnal F., 1966] указывают, что инкубационный период зависит от множества экологических условий и составляет 5–17 дней.

При вылуплении из яйца личинка имеет грязно-белый цвет. Длина личинки в среднем 1–3 мм. Личинка имеет голову, грудь, брюшко. Передняя часть её тела несколько утолщена, голова имеет мощный склеротизированный покров. У личинки три пары ног, а на заднем конце две щетинки. В первые 10–20 минут после вылупления она неподвижна, затем личинка продвигается вниз по соту, через 15–30 минут становится более активной, в течение 10–30 минут питается мёдом из открытых ячеек, иногда останавливается у ячеек с пергой. Через два часа личинка вновь потребляет мед, а затем начинает поедать пчелиный воск, проделывать ходы в средостении сотов, затягивая их паутиной, повреждая личинки и куколки пчёл [Paddock F.V., 1918; Алексеенко Ф.М., Ревенюк В.А., и др., 1991; Киреевский И.Р., 2006]. После стадии личинки, прежде чем спрятать кокон, личинка проделывает неглубокую канавку в планке рамки или в другом месте улья [Рут А.И. и др., 1993]. В это время личинка неподвижна, не реагирует на раздражение и только может слегка повернуться, сильно уменьшается в длину, голова направлена вперед. Эта стадия предкуколки. Срок развития предкуколки в среднем составляет 2 дня. По данным В.С. Hanumantha Swamy (2008) – 2,1 дней.

S.D. Beck (1960) в своих исследованиях установил, что личинки достигают своего максимального среднего веса на 15 день после вылупления. Изменение интенсивности роста происходит примерно на 10 день, ежедневно происходит удвоение массы тела. Уровень метаболизма и роста личинки БВМ достаточно высокий, по сравнению с быстрорастущими насекомыми, достигая максимума на 10–11 день развития, и в конце вес личинки приближается в среднем к 200 мг.

Литературные источники указывают достаточно большие диапазоны сроков развития личинок в среднем от 20 до 140 дней [Щербина П.С., 1956]. По данным зарубежных авторов S.K. El-Sawaf (1950), L.O. Warren, P. Huddleston (1962),

S. Hutton (2010) этот период составляет 22–62 дней. Но необходимо понимать, что это зависит от условий обитания и кормления [Coskun M. et al., 2006].

Известно, что личинка проходит определенное число линек головной капсулы. Увеличение головной капсулы происходит постоянно в каждой линьке личинки. На этой особенности биологии чешуекрылых основывается методика H.G. Dyar (1890), определяющая стадию (возраст) личинки по размеру головной капсулы. Корректировку данной методики провел S.D. Beck (1960).

У личинки БВМ различают семь возрастных стадий, дифференцированных по ширине головной капсулы, каждая стадия представлена продолжительностью в среднем 2–3 дня [Beck S.D., 1960]. В разные годы ученые [Chase R., 1921; El-Sawaf S.K., 1950] отмечали, что в зависимости от условий при нормальном жизненном цикле у личинок 7–9 возрастных стадий.

В возрасте одного дня личинки способны к активной миграции из поражённых пчелиных семей в другие пчелиные семьи, проходя на отдельных участках до 25–50 м со скоростью до 90 см/мин. В естественных условиях продвижение личинок прекращается при сильной росе, дожде, высокой температуре [Гробов О.Ф., Лихотин А.К., 1989; Кокарев Н., Чернов Б., 2005; Солоденко Ю.Н., Солоденко И.В., 2012].

По данным К.П. Цветковой (1949) развитие одного поколения длится 45–58 дней, а при низкой температуре задерживается до 3–4 месяцев и более.

Полный цикл развития при 30–32°C длится 47 дней (яйцо – 8 дней, личинка 30 дней; куколка – 9 дней), в условиях улья чаще 5–8 недель (57–63 дня); при 20°C развитие затягивается, а при 10°C и ниже прекращается. Зимуют в пчелином улье только личинки, иногда куколки в состоянии оцепенения [Смирнов А.М., 1972; Гробов О.Ф., Смирнов А.М., Попов Е.Т., 1987; Солоденко Ю.Н., Солоденко И.В., 2012]. В работах И.И. Кораблев (1934) указывает 40–45 дней полного жизненного цикла *G. mellonella*.

При температуре 8°C и ниже развитие личинки приостанавливается, она перестает двигаться и впадает в анабиоз. В таком состоянии личинка может находиться до нескольких месяцев. Как только

температура поднимается выше  $8^{\circ}\text{C}$ , личинка возвращается к жизни, окукливается и превращается в бабочку [Кокарев Н., Чернов Б., 2005]. В своей работе В.С. Hanumantha Swamy et al. (2009) проводили сравнительный анализ биологии *G. mellonella* на медовых сотах различных пород пчёл (*Apis cerane*, *dorsata*, *florae*, *mellifera*). Выявили, что на сотах пчёл пород *A. cerane*, *dorsata* численность личинок значительно выше и лучше развитие, хотя на сотах *Apis mellifera* численность личинок меньше, но продолжительность развития личинок и куколок дольше.

Следовательно, период личинки в жизненном цикле *G. mellonella* играет роль дальнейшего развития насекомого, поскольку именно в этот период происходит накопление питательных веществ.

Следующий этап развития *G. mellonella* – куколка (хризалида). Средняя длина куколки у самок 16 мм, у самцов 14 мм, первоначально имеют белую окраску, но могут быть покрыты частичками экскрементов гусениц. К концу срока развития куколка приобретает темно-бурый цвет. Часто коконы размещаются рядами или ярусами. Масса куколок самок 188–212 мг, самцов – 125–138 мг [Шагов Е.М. и др., 1986]. По массе куколок мы можем судить о скорости развития личинок и запасах питательных веществ, с которыми личинка переходит в стадию куколки.

Наши исследования включали изучение питательных сред на развитие разных форм *G. mellonella*, в том числе и на куколок. Основными питательными средами являлись: естественная и искусственная питательная среда, а также лекарственные добавки к ним. В опытах на ЕПС контролем служили старые пчелиные соты, для ИПС контроль – рецепт по Ю.И. Кузнецовой.

По полученным результатам, средняя масса куколок, выращенных на ИПС, составила 128,00 мг (при  $P < 0,05$ ). Высокие значения масс куколок *G. mellonella* на ИПС по рецептам Т.В. Коновой и N. Marston, составила 144,76 и 144,27 мг соответственно, при  $P < 0,05$ .

Сравнительный анализ масс куколок, выращенных на ЕПС и ИПС с добавлением лекарственных растений, представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Средняя масса куколок, выращенных на ЕПС и ИПС с добавлением лекарственных растений, мг (n=30)

Лекарственные травы / Питательная среда	Средняя масса куколок, мг	
	ЕПС	ИПС
Контроль	64,00±7,90	128,00±7,19
цветки липы	160,75±9,66	144,75±8,9
листья березы	45,65±5,91	166,06±5,80*
трава пустырника	144,29±11,35	167,26±7,08*
цветки ромашки	137,50±9,99	148,30±5,17*
листья смородины	161,15±10,86	109,14±6,29
листья сельдерея	103,98±11,47	155,40±11,38
трава мяты	182,69±15,61	165,15±5,16
слоевница ламинарии	163,26±11,77	104,48±4,58*

Примечание: \* $P \leq 0,05$  при разнице с контрольной группой

Из таблицы видно, что средние значения контрольных групп отличаются в 2 раза. Разница между группами незначительна, более высокие показатели куколок, выращенные на ИПС с добавлением лекарственных растений. В дальнейшем репродуктивный потенциал куколок, имеющих большую массу, будет выше в сравнении с другими группами.

По наблюдениям Г.Ф. Таранова и др. (1984) срок развития куколки в естественных условиях 16 дней. Но срок развития может сокращаться при повышении температуры от 7,20 дней [Chase R., 1921] до 8,05 дня [Plantevin G., 1975]. Индийские ученые во главе В.С. Hanumantha Swamy et al. (2009) установили, что продолжительность развития куколки в среднем составляет 8,60–10,05 дней. Однако, в работах А.М. Adomson (1943), S.K. El-Sawaf (1950), S.D. Beck (1960) период развития куколки равен 10–12 дней. Вариации продолжительности жизни куколки, как и личинки, зависят от температурного режима и относительной влажности.

Наши исследования показали, что продолжительность развития куколок на ЕПС с добавлением лекарственных растений в среднем составила 11,33 суток, а минимальный срок – 8,5 суток отмечен у куколок, выращенные на ЕПС с листьями смородины. По результатам исследований, добавление лекарственных растений в ИПС увеличивает продолжительность их развития.

Исходя из полученных результатов, продолжительность развития стадии куколок *G. mellonella* варьировалась. В группе ЕПС с добавлением лекарственных растений продолжительность развития в среднем происходила быстрее, чем на ИПС с лекарственными растениями. Дольше всех развивались куколки из опытной группы ИПС. При этом масса куколок выше на ИПС с лекарственными растениями.

Самка имаго БВМ имеет 15–20 мм в длину, размах крыльев в среднем 15–35 мм [Тименский П.И., 1988; Кокарев Н., Чернов Б., 2005; Коновалова Т.В., 2009; Ellis J.D., 2013]. Крылья и тело покрыто чешуйками, содержащими пигмент. Передние крылья фиолетово-серые со светлыми и темными пятнами; задние – серые с темными штрихами. Задний край передних крыльев ровный, задних крыльев – закруглённый. В спокойном состоянии самка держит крылья сложенными крышеобразно [Гробов О.Ф., Лихотин А.К. 1989; Коновалова Т.В., 2009]. По данным американского пчеловода А.И. Рут (1993) у взрослых особей крылья своей формой напоминают лодочку. Под крыльями тело бабочки кремового цвета. Цвет и размер имаго зависит от качества сот, которыми питалась моль на стадии личинки [Солоденко Ю.Н., Солоденко И.В., 2012]. Окраска имаго, выращенных на питательной среде из пчелиного воска, серебристо-белая, а тех, которые выращиваются на питательной среде из сотов от расплода – преимущественно от коричневого до темно-серого и почти черного цвета [Коновалова Т.В., 2009]. Голова самки удлинённая и суживается вследствие направленных вперед щупиков, по которым легко дифференцировать половое различие. Самка имеет опущение и короткий хоботок, большие фасетчатые глаза, подвижные тонкие усики, состоящие из 60 члеников, брюшко состоит из 10 члеников, при надавливании из него выступает длинный яйцеклад.

Самцы меньше самок, голова круглая, длина их тела в среднем составляет 11,3 мм. Передние крылья бурые, с глубокой полулунной выемкой на заднем крае [Гробов О.Ф., Лихотин А.К., 1989; Кокарев Н., Чернов Б., 2005; Коновалова Т.В., 2009]. По сообщению А.И. Рут и др.(1993), концы передних крыльев самца имеют глубокие зубцы и бахрому, в спокойном состоянии сидит с расправленными крыльями.



В естественной среде обитания из коконов имаго выходит ранним утром между 6 и 11 часом, но чаще – вечером около 17 часов. Взрослое насекомое, появившееся вечером, выходит из леткового отверстия и прикрепляется к горизонтальным поверхностям снаружи улья, либо улетает в листву [Nielsen Ross A., Brister D., 1977]. Наиболее имаго активны в вечернее и ночное время. E. Oertel (1962) отмечает, что при внезапном растревоживании бабочек светом в закрытом помещении, они летят на стену или потолок, другие на свет. Ротовой аппарат и пищеварительная система имаго недоразвиты. Взрослая бабочка не питается, а живёт за счёт тех питательных веществ, которые она накопила на стадии личинки.

Продолжительность жизни бабочек БВМ – 3–30 дней и более. Самцы живут дольше. По наблюдениям В.С. Hanumantha Swamy (2008), продолжительность жизни самца 16,4 дня. По данным О.Ф. Грובה, А.К. Лихотина (1989), продолжительность жизни самца 10–26 дней, при этом давая 2–4 поколения в год [Огурцова А.Ф., 2005].

В литературе встречаются указания на то, что самки бабочек *G. mellonella* несколько крупнее самцов, но этот признак не может играть решающей роли, так как на размеры имаго могут оказать влияние условия развития насекомого, и в первую очередь – питание на личиночной стадии. Есть сведения о том, что у самки передние крылья фиолетово-серые, а у самца буроватые [Акимушкин И.И., 1993]. Однако такие цветовые нюансы окраски трудно различимы. В работах начала XX века [Кораблев И.И., 1934] указывается, что основным отличительным признаком самок от самцов является так называемый «клюв» (хоботок). Клюв самки длиннее, чем у самца. Кроме того, большинство самок крупнее самцов и темнее цветом.

Спаривание происходит через несколько часов после выхода их из коконов. Оплодотворенные самки начинают откладывать яйца через 24 часа после спаривания. Через 2–3 дня самка способна откладывать в среднем 80–100 яиц [Мегедь А.Г., Полищук В.П., 1990, Коновалова Т.В., 2009].

Как отмечают Н.М. Селиванова, А.Е. Блинушов (2001), все отличительные признаки самцов и самок видны невооруженным глазом. Это антенны с короткими сенсиллами у самцов и длинными у самок, а также срединная ячейка переднего крыла самца и радиальные жилки  $R_3$ - $R_5$  на общем стебельке сильно расширенные на передних крыльях, которые можно рассмотреть под биноклярным микроскопом.

По информации S.K. El-Sawaf (1950), Nielsen R. A. (1979) при температуре 30–32°C большая часть оплодотворенных бабочек погибает через 7 дней. По мнению большинства исследователей, самка живет до 26 дней и откладывает 1500–2000 яиц [Миронюк С.М., 1957; Шевчук М.К., 1974; Гробов О.Ф., Лихотин А.К., 1989; Шеметков М.Ф., 1991; Забоенко А.С., 1999; Кокарев Н., Чернов Б., 2005; Котова Г.Н., Воробьев Б.Л., 2005; Солоденко Ю.Н., Солоденко И.В., 2012; и др.].

Другие исследователи установили, что самка живет 6,9 дней, откладывая всего 750,90 яиц [Щербина П.С., 1956; Swamy Hanumantha V.S., 2008; Харчук Ю., 2009; Коноваловой Т.В., 2009]. В.К. Пельменев (1969) отмечает, что продолжительность жизни самок 7–12 дней. Хотя имеется информация, что самки живут 8–26 дней [Бондарева О.Б., 2007].

А.И. Рут (1993), А.М. Смирнов (1972) пишут, что за 15 дней самка откладывает 400–18 тыс. яиц. М.Ф. Шеметков (1969), Ф.Р. Писковой (1973), В.С. Коптев (1979) указывает цифру 2000–3000 яиц за всю жизнь.

Резюмируя изложенное, следует констатировать, что жизненный цикл *G.mellonella* сильно зависит от абиотических факторов, что является лимитирующим фактором для ее развития.

## ГЛАВА 2

### ПИТАНИЕ И УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ *G. MELLONELLA*

#### 2.1 Компоненты питательных сред

Питательная среда значительно влияет на процессы жизнедеятельности живого организма. Так российские ученые Н.В. Вендило и др. (1993) выявили, что состав феромонов, выделяемых самцом, зависит от состава питательной среды, предлагаемой насекомым. При этом исследователи указывают, что насекомое следует содержать в условиях, максимально приближенных к природным, и на природном корме. При лабораторном выращивании личинок *G. mellonella*, в качестве контрольного субстрата чаще используют старые пчелиные соты, поскольку в природных условиях они являются естественным кормом [Paddock F.B., 1918; Frank A. E., Dietz A., 1987; Swamy Hanumantha D.C. et al., 2013 и др.].

Но в лабораторных условиях естественный корм не всегда удается правильно хранить. Кроме того, природное сырье дороже искусственной питательной среды. Поэтому ученые вывели ряд искусственных питательных сред сбалансированных по белкам, жирам и углеводам.

Старые пчелиные соты – выбракованные из-за старости, механических повреждений и других причин, по которым они стали непригодными для выведения расплода и складывания мёда. Только отстроенные пчёлами соты почти полностью состоят из чистого воска. Общее содержание воска в сотах не превышает 97–98%. Чем темнее пчелиные соты, тем меньше её восковитость. Особенно восковитость сильно падает (до 40% и ниже), если старые пчелиные соты содержат пергу или мёд, крышечки от расплода, сам расплод, что значительно утяжеляет пчелиные соты, уменьшая их восковитость.

Основными признаками, по которым производится сортировка старых пчелиных сотов являются цвет, просвечиваемость доньшек ячеек и однородность. Существует три вида старых пчелиных сотов [Темнов В.А., 1966; Позняковский В.М., 2007]:

1. Первый сорт – белые, жёлтые или янтарные, хорошо просвечивающие со всех сторон, сухие, без перги, мёда и моли, плесени и других посторонних примесей. Восковитость составляет 70 % и выше;

2. Второй сорт – темно-коричневые или тёмные, просвечивающие в донышках, сухие, без перги, без мёда и других посторонних примесей. Сюда же относятся соты первого сорта светло-жёлтые с примесью перги до 15% по объему несмятого сота. Восковитость 55-70%;

3. Третий сорт – тёмно-бурые, совершенно не просвечивающие, но сухие, лёгкие, без мёда, моли и плесени, содержащие пергу. Сюда же относятся светлые пчелиные соты, содержащие пергу. Восковитость 40–55%.

Еще в начале XX века А.С. Буткевич (1926) определил, что личинки лучше питаются старой вощиной, поскольку пчелиный воск содержит мало питательных веществ. Э. Бертран (1914) отмечает, что личинки питаются азотистым веществом, содержащимся в сотах. Н.А. Спиридонов, А.К. Рачков, М.Н. Кондрашова (1989) пишут, что личинки *G.mellonella* предпочитают старые пчелиные соты, поскольку они являются продуктом многолетней активности пчелиной семьи. Данные соты создаются после выращивания нескольких поколений расплода пчел в течение 3–4 лет. По химическому составу они существенно отличаются от пчелиных сот, светлой восковой сушки и очищенного воска, традиционно используемых для выращивания восковой моли. Установлено, что соты содержат продукты жизнедеятельности пчел (остатки маточного молочка, личиночные оболочки, покровы пчелиного расплода, углеводы, пептиды, азотсодержащие вещества, серотонин), а также – флаваноиды и ароматические кислоты растительного происхождения. Присутствие этих компонентов позволяет обходиться без использования цветочной пыльцы, меда и других дорогостоящих пищевых добавок. Также определено, что темные соты не обладают сами по себе существенной биологической активностью, подвергаются метаболической трансформации личинками БВМ и превращаются в биологически активный продукт, обладающий широким спектром действия.

Соты, не отвечающие кондициям третьего сорта, приравниваются к пасечным вытопкам. Пасечные вытопки – вторичное восковое сырье, оставшееся после перетопки суши в пасечных условиях сухим способом.

Ряд исследователей проводили лабораторные опыты с личинками БВМ на пчелином воске. С.И. Метальников (1907) показал, что личинки, выращенных на чистом пчелином воске, не выделяют нити, не строят туннелей и не окукливаются.

Сравнительный анализ физико-химических показателей пасечных вытопок и заводской мервы представлен в таблице 2.

Таблица 2 – Органолептические и физико-химические показатели воскового сырья ГОСТ Р53407-2009 (пасечные вытопки и заводская мерва)

Наименование показателя	Характеристика и норма для воскового сырья	
	пасечные вытопки	заводская мерва
Цвет	От светло-коричневого до темно-коричневого	От темно-коричневого до бурого
Структура	Рассыпчатая, с комочками, сохранившими форму ячеек, размером не более 75 мм	
Посторонние примеси (комки земли, камни, деревянные стружки, щепки и др.)	Не допускаются	
Массовая доля воды, %, не более	10,0	
Массовая доля воска, %	От 36,0 до 60,0	От 18 до 35,0
Пораженность восковой молью	Не допускается	

В своих экспериментах D.N. Roy и др. (1937) выращивал личинок на парафине, при этом личинки не развивались около месяца и оставались без изменений параметров роста. Большой процент гибели личинок происходил на стадии куколки. Автор сделал заключение, что личинки, питавшиеся лишь парафином, не достигают полноценного развития, но, тем не менее, азотистые вещества необходимы для роста. Подробно изучал вопрос влияния

пчелиного воска на рост и развитие личинок БВМ американский ученый R.G. Young (1961). Автор сделал заключение, что влияние пчелиного воска комплексно и важно в рационе личинок. По мнению В.П. Тыщенко (1986), личинки *G. mellonella* усваивают до 50% продуктов, содержащихся в воске. Они могут переваривать мирициловый эфир пальмитиновой кислоты, а значит, имеют такие специфические липазы, которых нет у других насекомых.

Таким образом, пчелиный воск в составе искусственной питательной среды является важным ингредиентом. Главную роль в жизнедеятельности личинок играет количество воска.

По вопросу количества поедаемого корма личинками в литературных источниках информация противоречива.

Для определения количества поедаемого пчелиного воска в своей книге В.А. Темнов (1966) описывает следующий опыт. В банку поместили 10 г старых пчелиных сот восковитостью 72% и 6 личинок моли 2–3-дневного возраста. После того, как они окуклились и превратились в бабочек, пчелиной суши оставалось 8,12 г, а восковитость снизилась до 58%. В.А. Темнов вычислил, что в перерасчете на чистый воск одна личинка съела за всю жизнь 0,4 г воска. Эту цифру стали указывать в последующем многие авторы: С. Недялков и др. (1985), Ю.И. Хупавый (1985), М.Ф. Шеметков, (1991), А.С. Забоенко, (1999), Н. Кокарев, Б. Чернов (2005), И.Р. Киреевский (2006), Ю.Н. Солоденко, И.В. Солоденко (2012). Однако, по данным других авторов (В.К. Пельменев, 1969, М.Ф. Шеметков, 1969, В.А. Соломка, 2012) одна личинка БВМ пожирает в среднем за свою жизнь 1,246 г воска. А.М. Смирнов (1972) указывает на цифру около 0,5 г воска и называет более 50 ячеек, которые портит личинка *G. mellonella*.

Для определения зависимости влияния питательной среды на процессы жизнедеятельности личинок *G. mellonella* необходимо определить их качественный и количественный состав. Для установления корреляционной связи влияния питательной среды на развитие личинок, а также определения качества сырья нами проведен химический анализ основных компонентов естественной питательной среды: пчелиного воска и меда, пчелиных сот и пасечных вытопок.

По органолептическим показателям нами установлено, что аромат исследуемых мёдов изменяется от приятно слабого до сильного (таблица 3). Вкус мёда у большинства исследуемых образцов сладкий и приятный; большая часть образцов имеют белый экстра и белые цвета; консистенция мёда зависит от его химического состава, температуры и сроков хранения.

Таблица 3 – Органолептические и физико-химические показатели исследуемых мёдов

Наименование показателя	Характеристика и значения показателя	
	ГОСТ 56644-2011 «Мед натуральный. Технические условия»	Исследуемые пробы, средние значения
Аромат	Приятный, от слабого до сильного, без постороннего запаха	Аромат мёдов изменяется от приятно слабого до сильного, без постороннего запаха
Вкус	Сладкий, приятный, без постороннего вкуса	Сладкий, приятный, без постороннего вкуса
Консистенция	Жидкий, частично или полностью закристаллизованный	Жидкая консистенция, реже – вязкая и очень вязкая
Массовая доля воды, % не более	20	16,2
Массовая доля редуцирующих сахаров, % не менее	65	75
Диастазное число, ед. Готе, не менее	8	13,5
pH	3,2 – 5,8*	4,41

\* По Чудакову В.Г., 1979

Свежеоткаченный мёд в большинстве образцов представлял собой вязкую сиропобразную жидкость. При дальнейшем хранении кристаллизовался в мелкозернистую и салообразную садку. Физико-химические показатели качества мёда дают более точную характеристику его состава и свойств. Установлено большое разнообразие диастазной активности от 12 до 18,2 ед. Готе, среднее

содержание диастазы составляет 13,5 ед. Готе. Среднее значение влажности меда 16,2%, кислотность медов (рН) имеет предел колебаний от 3,76 до 5,43, в среднем показатель составляет 4,41. Массовая доля редуцирующих сахаров по ГОСТ 56644-2011 «Мед натуральный. Технические условия» должен быть не менее 65%, по нашим результатам данный показатель составляет 75%.

Таким образом, органолептические и физико-химические показатели исследуемых медов соответствуют ГОСТ Р 56644-2011 «Мед натуральный. Технические условия».

Для определения натуральности пчелиного воска проводился анализ по органолептическим и физико-химическим показателям ГОСТ 21179-2000 (таблица 4).

Таблица 4 – Сравнительный анализ показателей исследуемых проб пчелиного воска

Показатель	ГОСТ 21179-2000	Проба №1	Проба №2	Проба №3
Органолептический анализ				
Цвет	Белый, светло-желтый, желтый, темно-желтый, серый	Светло-желтый	Желтый	Светло-желтый
Запах	Естественный восковой	Естественный восковой	Естественный восковой	Естественный восковой
Структура	Однородная, мелкозернистая	Однородная, мелкозер.	Однородная, мелкозер.	Однородная, мелкозер.
Физико-химический состав				
Кислотное число, мг КОН/г	16,0-20,0	16,6	17,4	16,2
Число омыления, мг КОН/г	85,0-101,0	92,5	88,9	89,6
Эфирное число, мг КОН/г	67,0-84,0	75,9	71,0	73,4
Йодное число, г йода/100 г	7,0-15,0	12,4	12,7	16,2



По результатам исследований выявилось, что кислотное число всех трех образцов соответствует допустимому значению 16,0–20,0 мг КОН/г. Результаты по эфирному числу в трех образцах имеет средние значения, входящие в допустимые нормы (67,0–84,0 мг КОН/г). Фактические значения показателей качества по йодному числу образца № 1,2 соответствует допустимым показателям, в образце №3 йодное число на 1,2 мг КОН/г выше допустимого значения, что говорит о незначительной примеси ненасыщенных соединений и высоком качестве сырья.

Все образцы пчелиного воска, применяемые в постановке опытов для кормления личинок *G. mellonella*, соответствуют ГОСТ 21179-2000 «Воск пчелиный. Технические условия». Экспериментальные образцы пасечных вытопок имеют темно-коричневый цвет (таблица 5).

Таблица 5 – Органолептические и физико-химические показатели исследуемых проб воскового сырья

Наименование показателя	Характеристика и норма для воскового сырья	
	ГОСТ Р 31775-2012	пасечные вытопки
Цвет	От светло-коричневого до темно-коричневого	Темно-коричневые
Структура	Рассыпчатая, с комочками, сохранившими форму ячеек, размером не более 75 мм	Рассыпчатая, с комочками, сохранившими форму ячеек, размером не более 75 мм
Посторонние примеси (комки земли, камни, деревянные стружки, щепки и др.)	Не допускаются	Нет
Массовая доля воды, %, не более	10,0	9,1
Массовая доля воска, %	От 36,0 до 60,0	41,2
Пораженность восковой молью	Не допускается	Нет

По результатам исследований, используемые в качестве ингредиентов питательной среды – пасечные вытопки имеют восковитость от 27,1% до 43,3%. Применяемое восковое сырье (пасечные вытопки, старые пчелиные соты) соответствуют третьему сорту воскового сырья.

Таким образом, все исследуемые образцы естественных компонентов питательных сред по органолептическим, физико-химическим показателям обладают высоким качеством.

## **2.2 Влияние естественных питательных сред на морфологические показатели *G. mellonella***

Кормление личинок *G. mellonella* рассматривалось в двух вариантах: естественные и искусственные питательные среды. Добавление лекарственных растений в основную корм является источником повышения биологической активности питательной среды, увеличивая биологическую продуктивность исследуемого биологического объекта. Первоначально исследования проводили на трех основных естественных питательных средах: старые пчелиные соты, пасечные вытопки и мед, пчелиный воск и мед.

Старые пчелиные соты мы брали в естественном виде, разламывая на части, удобные для размещения в садки.

При использовании пасечных вытопок перекручивали через мясорубку (желательно без ножа) с целью приобретения червеобразной структуры и обеспечения равномерной аэрации и лучшего доступа личинок большой восковой моли к пищевой среде. В отдельной посуде смешивали мед с водой из расчета 10 мл воды и 25 г меда на каждые 100 г пасечных вытопок (при расчете на 20 г пасечных вытопок следует брать 2 мл воды и 5 г меда). Если мед закристаллизован, его предварительно нагревали на водяной бане при 60°C до полного растворения кристаллов. После этого смесь воды с медом добавляли к подготовленным пасечным вытопкам и тщательно перемешивали, не разрушая червеобразную структуру – так, чтобы мед покрыл поверхность пасечных вытопок.

Полученную смесь оставляли на двое суток в открытой емкости, для испарения излишков воды и пропитывания пасечных вытопок медом. После этого смесь хранили в прохладном сухом месте не более двух недель.

Пчелиный воск (15 г) и мед (5 г) смешивали в естественном виде, после чего применяли для эксперимента.

В результате проведения опытов выяснилось, что ОСП старых пчелиных сот равна  $0,0046 \text{ мг} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{сутки}^{-1}$ , ОСП пасечных вытопок и меда  $0,0067 \text{ мг} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{сутки}^{-1}$ , смесь пчелиного воска с добавлением меда личинки игнорировали, из-за низкого содержания протеинов в корме (рисунок 1).

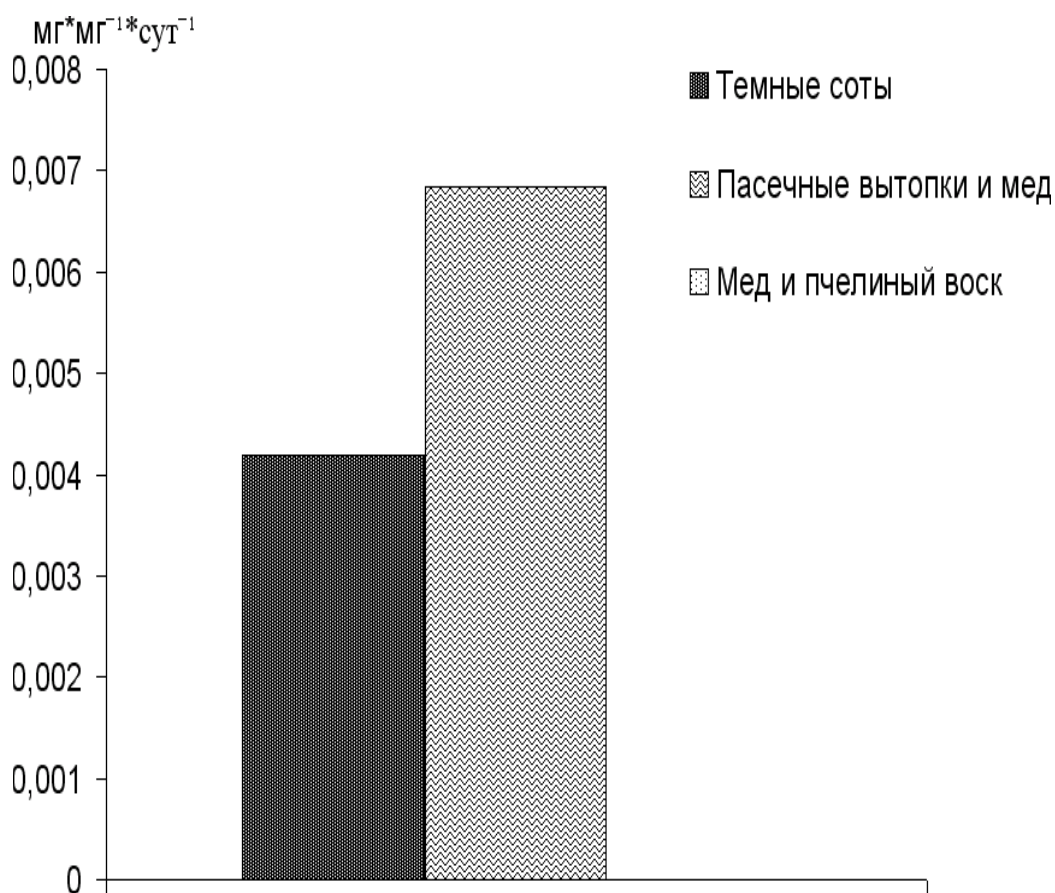


Рисунок 1 — Относительная скорость потребления личинками трех базовых типов естественных кормов,  $\text{мг} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{сутки}^{-1}$

Время развития от яйца до стадии куколки в опытной группе пасечные вытопки с медом достоверно на 2,9 суток дольше, выживаемость личинок значительно ниже на пасечных вытопках с добавлением меда (на 22,42%), чем на старых пчелиных сотах (таблица 6).

Таблица 6 – Сравнительный анализ физиологических параметров на трёх основных типах естественных кормов

Питательная среда	Контроль (старые пчелиные соты)	Cv,%	Пасечные вытопки и мёд	Cv,%	Чистый пчелиный воск и мёд	Cv,%
	(n =60)					
Показатель						
Средняя масса личинок, мг	170,81±7,62*	47	118,77±5,51*	41	83,64±4,53*	35
Выживаемость личинок, %	72,73±4,34	20	50,31±5,11	39	35±8,13	45
Продолжительность развития личинок от яйца до стадии куколки, сут.	23,67±0,88*	6,46	26,60±1,05*	12,44	--	
Возраст личинки, стадия,	6,83±0,05**	7	6,43±0,09**	9	--	--

Примечание: \*P<0,05, \*\*P≤0,01 при разнице с контрольной группой

По показателю возраста развитие личинок в опытной группе пасечные вытопки с пчелиным медом проходило быстрее, чем на старых пчелиных сотах. Масса личинок БВМ, выращенных на пасечных вытопках с медом, зарегистрирована ниже контрольных значений на 52,04 мг.

Для проверки возможности компенсировать нехватку питательных веществ в питательной среде – чистый пчелиный воск и мёд, в качестве дополнительного субстрата использовали лекарственное растение (цветки липы). Данная питательная среда незначительно повлияла на продолжительность жизни и уровень развития личинок, которые также погибали, не достигая стадии куколок. Полученные результаты достоверны при P<0,05.

В связи со 100% гибелью личинок на субстратах из чистого пчелиного воска с мёдом, а также с добавлением цветков липы, их использование было признано нерациональным. В дальнейших исследованиях от данной питательной среды отказались.

На основе полученных результатов, питательная среда из пасечных вытопок и мёда (естественная питательная среда – ЕПС) была признана потенциально перспективной и использовалась в дальнейших исследованиях.

### **2.3 Действие естественного корма с добавлением лекарственных растений на морфофизиологические особенности *G. mellonella***

На сегодняшний день насчитывается более 12 тыс. лекарственных растений. Например, цветочные корзинки ромашки аптечной (*Marticaria perforate L.*) обладают лечебными свойствами, которые обусловлены в основном присутствием 0,3–1,0% эфирного масла. Кроме того в цветочных корзинках содержится горечь, слизь, камеди, каротин. Ромашка аптечная обладает противовоспалительным и седативным, противосудорожным и антисептическим действием [Минаева В.Г., 1991].

У пустырника обыкновенного, пятилопастного (*Leonurus quinquelobatus Gilib.*) применяется наземная часть растения, в состав которой входят флаваноиды, эфирное масло, дубильные и красящиеся вещества, витамин С.

Трава пустырника и препараты из нее обладают успокаивающим действием на центральную нервную систему, понижают артериальное давление (по характеру действия близки к препаратам из корня валерианы) [Полуденный Л.В., Сотник В.Ф. и др., 1979].

В надземной части Melissa лекарственной (*Melissa officinalis L.*), преимущественно в листьях, содержится до 0,33% эфирного масла от массы свежего сырья. Листья Melissa содержат каротин (7 мг%), аскорбиновую кислоту (до 150 мг%), смолы, горечь, слизи. Препараты Melissa используются как седативное анальгезирующее, противосудорожное, болеутоляющее противогриппозное и сердечное средство.

С лечебной целью используются цветки липы мелколистной (*Tilia cordata*), содержащие полисахариды (слизи), сапонины, дубильные вещества, эфирное масло, фенолкарбоновые кислоты, витамин С и каротин. С древних времен цветки липы известны в качестве потогонного средства при простуде [Полуденный Л.В., Сотник В.Ф. и др., 1979]. Обстоятельное исследование показало, что их препараты обладают противовоспалительным и жаропонижающим действием [Журавлева Г.Г., 1979].

В листьях смородины черной (*Ribes nigrum* L.) содержится большое количество С- и Р-витаминных веществ, а также эфирное масло, фитонциды и другие соединения. Ее применяют для стимуляции иммунитета за счет большого количества витаминов, при нарушении обмена веществ.

Слоевница ламинарии (*Laminariae thalli*) содержит высокомолекулярные полисахариды, значительное количество йода, большая часть которого находится в виде йодидов (40–90%) и йодорганических соединений (дийодтирозин – 2,7–3%), витамины В1, В2, В12, А, С, D, Е, бурый пигмент, минеральные соли. В народной медицине известен как препарат, обладающий слабительным действием, а также для восстановления йода в организме [Кароматов И.Д. и др., 2017].

В качестве лекарственного препарата используют листья березы (*Betula pendula* Roth.), содержащие кумарины, флаваноиды, эфирное масло, дубильные вещества, смолу, каротин, витамин С и повышенное содержание цинка и железа. Листья применяют как мочегонное, желчегонное средство, при расстройствах желудка [Минаева В.Г., 1991].

Листья сельдерея являются лекарственным средством для регулирования деятельности печени, усиления половой функции. Также используются как снотворное и болеутоляющее средство, от атеросклероза, нормализации обмена веществ и как противоаллергическое средство. В листьях содержатся аминокислоты, микроэлементы, эфирные масла (30 мг%), витамины группы В, К, Е, провитамин А и аскорбиновая кислота [<http://www.inmoment.ru/beauty/health-body/useful-properties-products-s2>].

Применение лекарственных трав в составе питательных сред объясняется наличием большого количества биологически

активных веществ, что является основой для роста и развития насекомого. Так, И.М. Дубовский (2004), добавлял в питательную среду экстракты лекарственных растений пижмы обыкновенной *Tanacetum vulgare*, багульника болотного *Ledum palustre*, оленего мха *Cladonia uncialis*, мха сфагнома *Sphagnum* и усниновую кислоту, обладающие антагонистическими свойствами. В своей работе И.М. Дубовский доказал, что применение данных экстрактов подавляет развитие личинок *G. mellonella*.

Исходя из биологической ценности рассмотренных лекарственных растений, нами выбраны следующие растения в качестве добавки в ЕПС: цветки липы, ромашки; трава пустырника и Melissa, листья смородины, сельдерея и березы; слоевища ламинарии. Навеска ЕПС – 15 г, лекарственных растений – 5 г. В качестве контроля был выбраны старые пчелиные соты.

По результатам наших исследований при проведении опыта на естественной питательной среде (ЕПС) с добавлением разных лекарственных растений установлено, что максимальный прирост массы и длины личинок в группе со старыми пчелиными сотами, равный 170,81 мг и 20,33 мм ( $P < 0,05$ ), соответственно (рисунок 2).

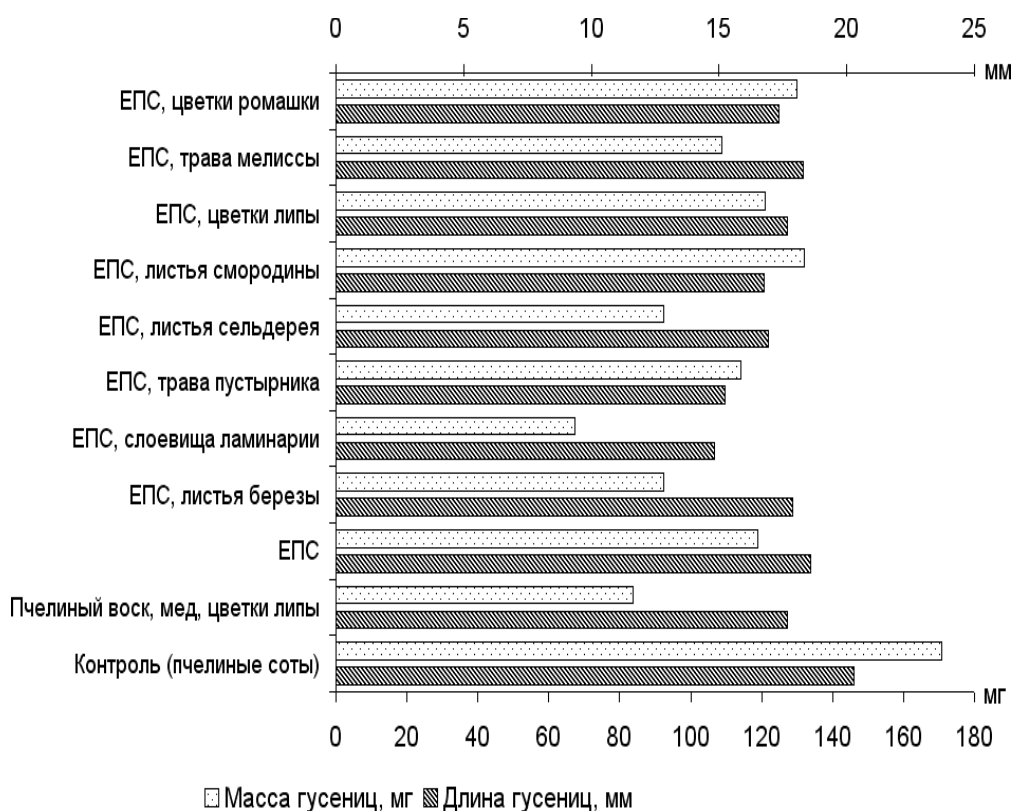


Рисунок 2 – Морфометрические показатели личинок, выращенных на естественном корме с добавлением лекарственных растений

Также высокий прирост массы отмечен у личинок, выращенных на пасечных вытопках с медом (ЕПС) и листьями смородины – 132,00 мг, (при  $P < 0,05$ ). Добавление цветков ромашки в ЕПС дали привес средней массы личинок в 129,98 мг ( $P < 0,05$ ), длиной 17,37 мм. Личинки, питавшиеся ЕПС с добавлением травы мелиссы, весили на 62,05 мг меньше, чем в контроле ( $108,76 \pm 4,79$  мг, при  $P < 0,05$ ). Длина личинок в данной группе на 1,98 мм меньше, чем на старых пчелиных сотах, при  $P < 0,05$ . Данный факт объясняется высоким содержанием в растении эфирных масел, что отрицательно влияет на развитие личинок. Известно, что с древних времен пчеловоды использовали мелиссу как средство борьбы против *G. mellonella*.

Установлено, что меньше 100 мг весят личинки, питавшиеся кормом с добавлением листьев березы (92,32 мг), листьев сельдерея (92,48 мг), цветков липы (83,64 мг, при  $P < 0,05$ ) и слоевища ламинарии (67,35 мг, при  $P < 0,05$ ). По показателю длины данные группы имеют вариацию значений от 16,95 мм до  $17,93 \pm 0,61$  мм, за исключением группы с добавкой слоевища ламинарии, где длина личинок составила 14,84 мм.

Питательная среда в зависимости от соотношения ингредиентов оказывает сильное воздействие на темпы роста и развития личинки, в том числе на их выживаемость. Показатели выживаемости в опытной группе ЕПС с добавлением лекарственных растений неоднородны (таблица 7).

Максимальное значение выживаемости в группе ЕПС с листьями березы, что на 22,27% выше, чем на старых пчелиных сотах. При этом продолжительность развития личинок этой группы на 1,41 суток дольше, чем на старых пчелиных сотах. Добавка слоевища ламинарии снизила выживаемость по сравнению со старыми пчелиными сотами на 2,73%. Выживаемость, составляющая 50% и ниже, отмечена в группах с добавлением цветков ромашки, листьями сельдерея.



Таблица 7 – Морфофизиологические показатели личинок *G. mellonella*, выращенные на естественной питательной среде с добавлением лекарственных растений (n=60)

Опытная группа	Возраст	Выживаемость, %	Продолжительность развития, сут.
Контроль ЕПС	6,83±0,05	72,73±4,34	23,67±0,88
ЕПС	6,43±0,09*	50,31±5,11	26,59±0,95*
ЕПС + цветки липы	6,38±0,08*	77,50±6,16	24,00±0,41*
ЕПС + листья березы	6,53±0,11*	95,00±5,0*	25,08±1,09*
ЕПС + цветки ромашки	6,23±0,11*	47,94±4,5	26,38±1,15*
ЕПС + трава пустырника	6,00±0,08*	50,88±4,03	25,00±0,70*
ЕПС + листья смородины	6,08±0,07*	62,00±4,44	26,00±0,87*
ЕПС + листья сельдерея	6,23±0,08*	46,82±6,51	26,22±0,98*
ЕПС + трава мяты	6,40±0,09*	75,00±2,44*	26,33±0,56*
ЕПС + слоевища ламинарии	5,98±0,07*	70,00±11,33	29,33±1,33*

Примечание: \* $P \leq 0,05$  при разнице с контрольной группой

На старых пчелиных сотах возраст личинок на период завершения опыта составил 6,83. В группах с добавлением цветков липы и ромашки, листьев сельдерея, смородины, березы, травы мяты возраст личинок в среднем составляет 6,08-6,53.

Необходимо отметить сильную положительную взаимосвязь между стадией развития и массой личинок во всех группах, равная по шкале Чеддока +0,85, поэтому в дальнейших исследованиях указывается лишь масса личинок. Выявлена сильная положительная взаимосвязь между стадией развития личинки и длиной, равная +0,94.

Таким образом, полученные морфометрические показатели личинок БВМ продемонстрировали, что, в целом, лекарственные растения в качестве добавки в естественный корм достоверно оказали положительное влияние на возраст, по сравнению со старыми пчелиными сотами. Средние показатели продолжительности развития, выживаемости и массы личинок БВМ ниже значений, выращенные на старых пчелиных сотах.

## 2.4 Влияние искусственной питательной среды на морфофизиологические показатели *G. mellonella*

Для полноценного развития на искусственной питательной среде (ИПС) корм должен включать основные компоненты, такие как белки, жиры и углеводы, находящиеся в балансе [Coskun M. et al., 2006].

Первым, кто выращивал личинки БВМ на ИПС, был американский ученый М.Н. Haydak (1936). Он переработал отдельные компоненты некоторых питательных сред, предположив, что сухое молоко и дрожжи дадут максимальный рост (как источник протеина). Поэтому, по мнению автора, пчелиный воск в составе питательной среды не обязателен. Однако, S.D. Beck (1960) и R.G. Young (1961) обнаружили, что при незначительном количестве пчелиного воска рост личинок улучшается. Американский исследователь А. Balazs (1958) представил модификацию корма М.Н. Haydak, включающий пчелиный воск и воду. R.L. Beard (1958) описал диету, в состав которой входил компонент корма для собак, питательная смесь для детей и мед. D.F. Waterhouse (1959) модифицировал корм, разработанный R.L. Beard, включающий равные части меда и глицерина. S.D. Beck (1960) опубликовал рецепт ИПС, включающий детское питание, смесь зерновых, пчелиный воск, дрожжи, мед, глицерин и воду.

С 1960 года диеты являлись лишь модификациями диеты S.D. Beck. R.H. Dadd (1966) изучал использование пчелиного воска и его состав в деталях (как и С. Метальников, 1908) и обнаружил, что пчелиный воск способствует росту личинок, а также является источником метаболической воды в искусственной питательной среде.

А. Balazs (1958) также доказал, что бабочки, выращенных на ИПС больше размерами и развитие идет быстрее, больше откладывают яиц, чем выращенных на естественном корме.

В своей статье N. Marston и В. Campbell (1973) сравнивали девять ИПС, и их влияние на ряд биологических параметров *G. mellonella*. Выявилось, что питательную среду следует выбирать в зависимости от цели использования личинок БВМ. Для физиологических и патологических исследований наиболее оптимален рецепт, разработанный S.D. Beck (1960). При выращивании в больших объемах (для выращивания паразитов и в качестве наживки в рыболовстве) важна стоимость питательной среды. Для этих целей наиболее оптимальна среда, модифицированная S.D. Beck.

В СССР разработкой искусственной питательной среды для выращивания личинок БВМ начали заниматься в 70-х годах XX века. Учеными Новосибирского медицинского центра Т.В. Перехвальской, Я.Д. Финкинштейн, Е.Б. Ивашевской (1977) разработана ИПС, включающая кукурузную и пшеничную муку, дрожжи, пчелиный воск и мед, глицерин, вода и сухое молоко. Позднее свой рецепт предложила Ю.И. Кузнецова (1981), который взят нами в качестве контроля для опытных групп с добавлением компонентов лекарственных растений в ИПС, а также для опытных групп по рецептам разных авторов.

Как отмечается в патенте СССР № 4938002/14 Н.А. Спиридонова, Н.А. Рачкова, С.А. Мухина и др. (1995), в качестве корма для личинок БВМ используют пчелиные соты, цветочную пыльцу, пыльцу с добавками пчелиного воска, а также ИПС различного состава. В патенте СССР №1192182 А «Искусственный корм для большой вощинной пчелиной огневки» Е.М. Шагова, Г.И. Улановой и Е.М. Асланян от 23.05.1986 г. подробно описывают способ приготовления корма.

Перед приготовлением корма кукурузную муку и пшеничные (ржаные) отруби стерилизуют в сушильном шкафу при температуре 80°C в течение 1–1,5 ч. Взвешенные с погрешностью не более 0,01 г пчелиный воск, глицерин и воду помещают в эмалированную посуду, которую ставят на водяную баню, нагретую до 80–90°C. При появлении первых признаков расплавления пчелиного воска

до образования однородной массы добавляют предварительно смешанные сухие ингредиенты, взвешенные с погрешностью до 0,01 г, кукурузную муку, отруби пшеничные (или ржаные) и дрожжи пивные. Смесь тщательно перемешивают до образования однородной массы, которую затем раскладывают по садкам для выращивания личинок БВМ.

Я.И. Жакаускене, Ю.М. Ширвинкас (1986) изобрели свою методику приготовления среды. Из-за того, что многие ИПС обладают свойством сыпучести, то нижний слой остается без аэрации и начинает плесневеть. Во избежание данного недостатка, авторы применили кухонную мясорубку без ножа, через которую пропускали приготовленную смесь. При этом смесь приобретала червеобразную форму толщиной 7 мм. Такой формы питательная среда обеспечивает равномерную аэрацию в сосуде. При проведении опытов авторы убедились, что применение кукурузной, манной и другой крупы как компонентов для искусственной пищи насекомым – нецелесообразно, так как она является наполнителем, а не съедобным веществом. По мнению Я.И. Жакаускене, Ю.М. Ширвинкас (1986) альтернативой может служить крахмал. Приготовленная смесь становится нежнее, лучше задерживает влагу, дольше сохраняет первоначальное свойство мягкости. Изменяя количество крахмала, можно приготовить среду разной консистенции. В сосуд с водой добавляют глицерин, крахмал и дрожжи. Все хорошо перемешивается, сосуд прикрывается для уменьшения испарения влаги и ставится в термостат на 15–17 часов при температуре 60°C. После этого добавляется мед, хорошо перемешивается и ставится в термостат ещё на 3–5 часов при 110°C. Овсяное толокно и пшеничные отруби также прогреваются в термостате при той же температуре. После этого жидкая часть приготавливаемой среды объединяется с заранее хорошо перемешанными овсяным толокном, пшеничными отрубями и сухим молоком. При постоянном перемешивании тонкой струей добавляется расплавленный в подсолнечном масле пчелиный воск. Полученная масса питательной среды светло-бежевого цвета в количестве 2,2–2,9 кг пропускается через мясорубку. Готовый продукт питательной среды расфасовывается в полиэтиленовые мешки и хранится в холодильнике. Авторы отмечают,

что показатели выживаемости и численности популяции насекомых в семи поколениях существенно не отличаются от выращенных на других искусственных средах и естественной пище.

С.Е. Штайн (1994) разработал четыре ИПС, где дорогостоящие и дефицитные компоненты заменены более простыми и дешевыми. В их состав были включены отходы, получаемые при переработке сельскохозяйственной продукции (свекловичный жим, патока, жмых подсолнечный). Для биологической оценки испытуемых питательных сред автор использовал следующие параметры – выживаемость, продолжительность развития личинок и количество вылетевших бабочек. При сравнении биологической оценки ИПС С.Е. Штайн (1994) определил, что самый высокий процент выживаемости личинок и количество вылетевших бабочек наблюдалось при питании средой, включающей в себя пшеницу и ячмень мелкого помола, пасечные вытопки, жмых подсолнечный, патоку, дрожжи и воду.

Схожий состав запатентованной питательной среды для личинок большой вошинной моли предлагают В.Я. Исмаилов, Ж.А. Ширинян, О.И. Квасенков (2003). В результате проведенных исследований выяснилось, что при сравнении естественного корма (старые пчелиные соты) и ИПС по рецепту авторов отклонений в различных показателях их жизнедеятельности зафиксировано не было. Детальное изучение числа линек путем индивидуального выращивания личинок показало, что у личинок 6-9 стадий развития, однако, основная масса личинок (95%) на ИПС линяет шесть раз, т.е. имеет семь возрастных стадий. На естественном корме у 20% личинок происходят дополнительные линьки из-за неоднородности корма.

Техническим результатом разработки рациона, по наблюдениям авторов В.Я. Исмаиловым, Ж.А. Ширинян, О.И. Квасенковым (2003), является снижение расхода продовольственных компонентов и повышение производительности. Этот результат достигается тем, что в способе разведения БВМ предусматривается выращивание личинок 1–2-дневного возраста на среде, дополнительно содержащая пчелиный мед; для старших возрастов в питательной среде мед исключается.

Российский исследователь Т.В. Коновалова (2009) за основу рецепта взяла ИПС, регламентированную ГОСТом на энтобактерин (ГОСТ 21108-75), состоящую из восьми компонентов. Для удешевления питательной среды из него исключили следующие компоненты: сухое цельное молоко, пивные дрожжи на кормовые, а также снижено содержание меда, пчелиного воска, глицерина, кукурузной муки.

Пчелиный воск, мед, глицерин, взвешенные с точностью до 0,01 г, и воду помещают в эмалированную посуду и ставят в сушильный шкаф при температуре 80°C до расплавления воска и образования однородной жидкости. Затем эту жидкость вливают в сухую, предварительно перемешанную смесь из кормовых дрожжей, пшеничных отрубей, кукурузной и пшеничной муки. Все перемешивают и готовую среду раскатывают в виде колбасок, которые помещают в стеклянные банки, плотно закрытые полиэтиленовыми крышками. Готовый корм необходимо хранить в холодильнике при температуре 5°C до трех месяцев. Застывший корм измельчают на терке и раскладывают гусеницам по садкам (банкам).

В лабораторных условиях нами проведен анализ действия 13 искусственных питательных сред на рост и развитие личинок *G. mellonella*, разработанные по рецептам российскими и зарубежными учеными. Состав изучаемых ИПС и навеска ингредиентов представлена в приложении А. Первоначально сравнивали биологические показатели личинок большой восковой моли, выращенные на естественном и искусственном кормах, взятые за контроль (таблица 8).

Средняя масса личинок, выращенных на ИПС, уступает показателю массы личинок, кормившиеся старыми пчелиными сотами на 38,11 мг (при достоверной разнице между группами  $P < 0,05$ ). При использовании ИПС, выживаемость личинок выше на 3,93%, чем в контрольной группе. Личинки на искусственном корме развиваются дольше в среднем на 1,33 суток (при  $P < 0,05$ ).

Таблица 8 – Сравнительный анализ биологических показателей личинок *G. mellonella*, выращенные на естественном и искусственном кормах (n=60)

Показатель	Старые пчелиные соты		Искусственный корм (по Ю.И. Кузнецовой)	
	$x \pm m$	$Cv, \%$	$x \pm m$	$Cv, \%$
Средняя масса личинок, мг	$170,81 \pm 7,62$		$132,70 \pm 13,69$	
Lim	10-313	47	32-330	40
Выживаемость, %	$72,73 \pm 4,34$		$76,67 \pm 4,41$	
Lim	50 – 90	20	70 – 85	10
Время развития от вылупления до стадии куколки, сут	$23,67 \pm 0,88$		$25,00 \pm 0,53$	
Lim	22 – 25	6	23 – 27	6

При анализе морфологических показателей личинок, выращенных на ИПС предложенные учеными, выделяется рецепт Е.М. Шагова и др. (1986), в котором средняя масса личинок составила 160,21 мг, при  $P < 0,05$ , хотя длина меньше чем в контроле на 5,14 мм (15,19 мм) (рисунок 3).

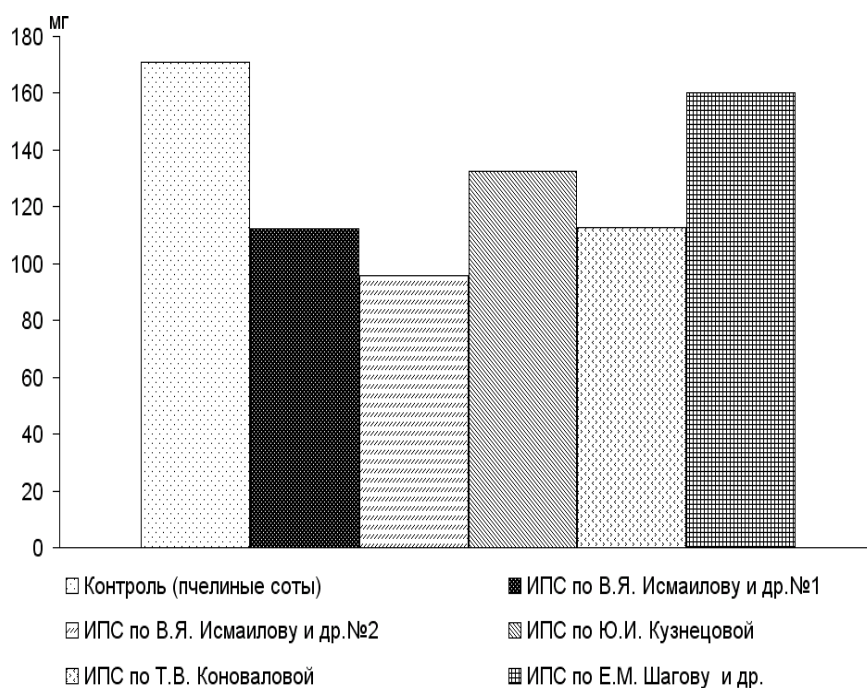


Рисунок 3 – Средняя масса личинок, выращенные на ИПС российских авторов, мг

Низкий привес массы личинок большой восковой моли в контрольной группе (ИПС по рецепту Ю.И. Кузнецовой) равный 132,70 мг.

По результатам исследований, высокие значения прироста средней массы и длины личинок БВМ получены в опытной группе ИПС американского ученого S.D. Beck (216,0 мг и 20,69 мм, соответственно), при этом в сравнении с контрольной группой увеличивается продолжительность развития на 7,33 суток. Выживаемость личинок на данной питательной среде составляет всего 40%, что на 36,67% меньше, чем в контрольной группе.

Из ИПС, разработанных иностранными учеными, наибольшую прибавку веса личинок дали питательные среды по рецептам N. Marston и A. Balazs (134,84 мг и 124,17 мг, соответственно). Минимальные значения средней массы личинок, выращенные на ИПС по рецепту R.L. Pira составляет 53,33 мг. В состав этого рецепта входили жидкие ингредиенты (мед, глицерин, вода) составляющие 58,2% от общей массы корма, что влечет за собой повышенную вязкость и липкость, а также не структурированность питательной среды. Данный фактор отражается на биологическом развитии насекомого.

Средняя масса личинок, культивированных на ИПС по рецепту M. Naydak, в 2,1 раза меньше контрольных значений (60,42 мг), выживаемость на 25% меньше, чем в контроле, на 2,4 суток медленнее происходило развитие личинок, чем в контрольной группе, при достоверной  $P < 0,05$ . В сравнении с контролем показатель выживаемости личинок *G.mellonella* в 2,8 раза меньше, чем по рецепту автора J.F. Bronskill (26,67%).

Возраст личинок, в опытных группах по рецептам В.Я. Исмаилова и др.(№2) (2003), Т.В. Коноваловой (2009) и Я. И. Жакаускене и др. (1986), колебался в пределах 5,77-5,94.

Из известных российских рецептов ИПС положительное влияние на показатель выживаемости оказал рецепт №1 по В.Я. Исмаилову и др., превысив значения контрольной группы на 7,5% (рисунок 4).



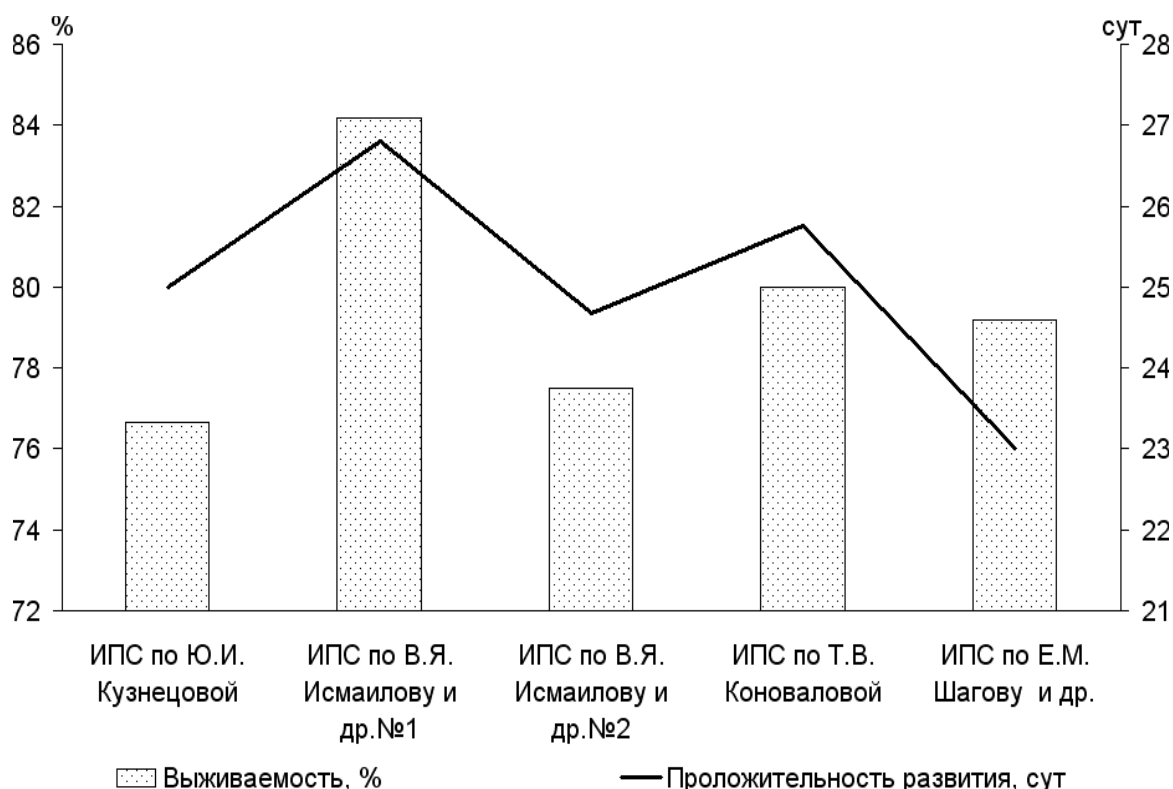


Рисунок 4 – Выживаемость и продолжительность развития личинок на искусственных питательных средах, разработанные российскими авторами

Значения выживаемости по рецепту №2, предложенному этими же авторами, ниже контрольных значений на 0,83%. Расхождение значений по продолжительности развития личинок между рецептами №1 и №2 на этих средах на 2,13 суток. На сутки дольше продолжительность развития личинок, выращенные на питательной среде по рецепту №2, разработанный В.Я. Исмаиловым и др. (при  $P < 0,05$ ), чем в контроле. Продолжительность развития стадии личинки на корме, приготовленном по рецепту №1 В.Я. Исмаилова и др. на 3,13 суток уменьшается, при  $P < 0,05$ .

Поскольку данные рецепты отличаются лишь наличием меда в рецепте №1, то можно сделать заключение, что данный ингредиент повышает уровень выживаемости, а также улучшает морфофизиологические показатели биологического объекта в сравнении с рецептом №2.

В опытных группах ИПС по рецептам Т.В. Коноваловой и А. Balazs, выжило 80% личинок. Разница в продолжительности развития личинок, питавшихся на данных питательных средах, составила 3,25 суток. Дольше развивались личинки, выращенные по рецепту А. Balazs.

На ИПС по рецепту Е.М. Шагова и др. выживаемость выше на 2,5 %, в сравнении с контролем. На данной среде развитие личинок БВМ происходило быстрее на 0,67 суток, в отличие от контрольной группы. Выжило около 70% личинок выращенных на ИПС по рецептам N. Marston, G.R. Stairs (73,33 и 70,00 %, соответственно). При такой выживаемости продолжительность развития личинок на этих ИПС неоднородна. На двое суток медленнее происходило развитие личинок из опытной группы ИПС по N. Marston, при  $P < 0,05$ . Разница в сроках развития личинки на ИПС по рецепту G.R. Stairs в сравнении с контрольными значениями, составило 4 суток, при  $P < 0,05$ .

Проведя анализ полученных результатов, искусственная питательная среда, сбалансированная по белкам, жирам и углеводам, значительно повышает биологический потенциал насекомого. Искусственную питательную среду по рецептам ученых Е.М. Шагова, Г.И. Улановой, Е.М. Асланян (1986) можно рассматривать как перспективным для личинок БВМ сразу по нескольким аспектам: морфологические показатели (160,21 мг, при  $P < 0,05$ ), продолжительность развития (23,00, при  $P < 0,05$ ), выживаемость – 79,17%. Близки к этой среде, по многим изученными нами биологическим показателям *G.mellonella*, рецепты Т.В. Коноваловой (2009) и рецепт В.Я. Исмаилова и др. (2003).

## **2.5 Взаимосвязь искусственных питательных сред с добавлением лекарственных сред и морфофизиологических параметров *G. mellonella***

Для сравнения действия лекарственных трав в составе разных кормов, в ИПС добавляли вышеназванные лекарственные растения с такой же навеской, что и в ЕПС. Из искусственных сред

с добавлением ингредиентов лекарственных растений выделились корма, на которых средняя масса опытных личинок превышает массу контрольных (таблица 9).

Таблица 9 – Биологические показатели личинок *G. mellonella* при выращивании на ИПС с добавлением лекарственных растений

Питательная среда	Средняя масса, мг	Выживаемость, %	Продолжительность развития, сутки
	(n =60)		
Контроль (ИПС по Ю.А. Кузнецовой)	132,7±13,69	76,67±4,41	25,00±0,53
ИПС + листья сельдерея	171,78±9,88	63,33±9,89	23,67±0,66*
ИПС + цветки липы	114,67±6,61*	85,00±5,77	25,67±0,66*
ИПС + листья березы	114,38±6,74*	88,33±1,67*	26,00±1,53*
ИПС + листья смородины	64,70±4,74*	66,67±1,67*	26,75±1,11*
ИПС + трава пустырника	170,17±8,47*	90,00±7,64	23,67±0,33*
ИПС + слоевища ламинарии	104,65±7,03	80,00±2,89*	25,17±0,31**

Примечание: \* $P \leq 0,05$ , \*\* $P \leq 0,01$  при разнице с контрольной группой

Так, максимальный прирост личинок отмечен на ИПС с добавлением листьев сельдерея, что на 39,08 мг больше, чем в контрольной группе. Высокий привес массы личинок БВМ достоверно отмечен на ИПС с травой пустырника (170,17 мг, при  $P < 0,05$ ). Минимальный прирост оказался на искусственном корме с листьями смородины, что на 68 мг меньше контрольных показателей (при  $P < 0,05$ ), хотя данная добавка в ИПС показала максимальный прирост массы личинки среди других лекарственных растений.

По показателю выживаемости личинок опытная группа с добавлением листьев березы имеет высокий результат (88,33%, при  $P < 0,05$ ) как и в случае в группе ИПС. Продолжительность развития личинки увеличилась в сравнении с контрольными значениями на 1 сутки.

Выживаемость на ИПС с цветками липы равна 85,00%, продолжительность развития 25,67 суток. Выживаемость в опытной группе с добавлением травы мелиссы составила 38,33%. В данной группе личинки развиваются значительно дольше, чем в контроле (34,00 суток), что объясняется высоким процентом содержания эфирных масел, что возможно препятствует развитию насекомого.

При сравнительном анализе компонентов лекарственных растений в ЕПС и ИПС отмечено сильное действие трав именно в ИПС. Вероятно, данный факт объясняется содержанием сбалансированных ингредиентов, повышающие резистентность к внешним факторам окружающей среды.

Из проведенных исследований видно положительное влияние лекарственных трав в составе ИПС на динамику развития личинок БВМ, особое внимание заслуживает добавка травы пустырника. Так, средняя масса личинок составила 170,17 мг, при  $P < 0,05$ , выживаемость 90,00%, продолжительность развития 23,67 суток, при  $P \leq 0,01$ .

## 2.6 Математическое планирование эксперимента

При разработке рецептов варьируются пропорции и соотношения ингредиентов, применяются разные типы ингредиентов (пивные и пекарские дрожжи, пшеничные и ржаные отруби), что в конечном итоге сказывается на биологическом развитии *G. mellonella*. Для определения четкой зависимости и влияния компонентов на жизнедеятельность личинок *G. mellonella* проведен их анализ методом планирования эксперимента. Математическое планирование эксперимента широко используется во многих отраслях - металлургии, на космических станциях, судоходстве, авиации, сельском хозяйстве и т.д.

В основе предлагаемой методики [Любченко Е.А., Чуднова О.А., 2010] лежит использование дробного факторного эксперимента, реализующей начальную матрицу планирования  $2^4$ , когда четвертные и тройные взаимодействия принимаются как незначимые и заменяются дополнительными факторами (компонентами корма). Таким образом, реализуется матрица планирования эксперимента для 9-и компонентного корма с использованием 16 опытов.

Анализируя современные литературные источники, математическое планирование эксперимента используется во многих областях биологии и медицины. Группа ученых во главе с А.В. Епифановой (2013) использовали математический метод планирования эксперимента при определении оптимальной мазевой композиции с продуктами пчеловодства, а точнее с экстрактами личинок большой восковой моли и прополиса.

Таким образом, использование математических методов планирования эксперимента дает возможность в десятки раз повысить эффективность и информативность проведения экспериментов за счет одновременного варьирования изменяемых факторов (компонентов корма) с использованием матрицы планирования. При этом возможно либо построение полного факторного эксперимента для небольшого количества варьируемых факторов, либо дробного факторного эксперимента, когда количество варьируемых факторов велико.

Для определения влияния каждого компонента ИПС на морфофизиологические показатели *G.mellonella* была проведена серия опытов.

Для проведения эксперимента использовали план  $2^{9-5}$ , то есть дробный факторный эксперимент, в котором варьировали девять факторов – кормов. За основу брали матрицу полного факторного эксперимента  $2^4$ , а коэффициенты при взаимодействии трех и более факторов считали малозначимыми и заменяли дополнительными факторами ( $X_5, X_6, X_7, X_8, X_9$ ). Центральная точка для значений факторов была выбрана на основе обобщенных литературных рекомендаций как наиболее близкая к оптимуму, интервал варьирования –  $\pm 10\%$ . Такое значение обосновано двумя соображениями. Во-первых, для обеспечения линейности модели шаг не должен быть большим, а для обеспечения чувствительности – слишком маленьким. Компромиссная величина примерно соответствует 10%. Во-вторых, изменение соотношения жидких и твердых компонентов больше выбранной величины приводит к уменьшению способности образцов корма сохранять целостность и геометрическую форму, а также к дополнительному усложнению эксперимента.

Соответственно в составе корма в граммах для конкретного опыта количество каждого ингредиента при варьировании принимало одно из двух значений (таблица 10).

Таблица 10 – Матрица планирования эксперимента плана  $2^{9-5}$  состава корма для личинок *G.mellonella*

Номера опытов	Варьируемые факторы								
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	$X_1X_2X_3$	$X_2X_3X_4$	$X_1X_2X_4$	$X_1X_3X_4$	$X_1X_2X_3X_4$
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	$X_5$	$X_6$	$X_7$	$X_8$	$X_9$
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	-	+	+	+	-	+	-	-	-
3	+	-	+	+	-	-	-	+	-
4	-	-	+	+	+	-	+	+	+
5	+	+	-	+	-	-	+	-	-
6	-	+	-	+	+	-	-	+	+
7	+	-	-	+	+	+	-	-	+
8	-	-	-	+	-	+	+	+	-
9	+	+	+	-	+	-	-	-	-
10	-	+	+	-	-	-	+	+	+
11	+	-	+	-	-	+	+	-	+
12	-	-	+	-	+	+	-	+	-
13	+	+	-	-	-	+	-	+	+
14	-	+	-	-	+	+	+	-	-
15	+	-	-	-	+	-	+	+	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	+

\*первая строка обозначений варьируемых факторов соответствует полному факторному эксперименту  $2^4$ , вторая – заменам для реализованного плана  $2^{9-5}$ ; (+) – верхнее и (-) – нижнее значения фактора относительно центральной точки.

В таблице 10 первая строка обозначений варьируемых факторов соответствует полному факторному эксперименту  $2^4$ , а вторая строка обозначений соответствует заменам для реализованного плана  $2^{9-5}$ .

Расшифровка обозначений таблицы 10 приведена в таблице 11.

Таблица 11 – Расшифровка обозначений Таблицы 10

Фактор	Наименование	Уровни варьирования	
		+	-
X <sub>1</sub>	Пшеничная мука	5,5	4,5
X <sub>2</sub>	Отруби	5,5	4,5
X <sub>3</sub>	Пасечные вытопки	16,5	13,5
X <sub>4</sub>	Глицерин	8,25	6,75
X <sub>5</sub>	Сухие дрожжи	2,75	2,25
X <sub>6</sub>	Сухое молоко	5,5	4,5
X <sub>7</sub>	Кукурузная мука	5,5	4,5
X <sub>8</sub>	Растительное масло	2,75	2,25
X <sub>9</sub>	Мед	1,1	0,9

В качестве несущих элементов для образцов использовались стальные решетки. На одну металлическую решетку, устанавливаемую в кассету, с двух сторон наклеивалось воском четыре пластинки-образца, по два с каждой стороны. Каждая пластинка-образец соответствовал одному эксперименту. При этом у крайних в кассете решеток образцы, которые были обращены наружу, в расчетах не участвовали. Местоположение каждой пластины корма в кассете рандомизировалось. Расстояние между решетками регулировалось при помощи металлических шайб, надеваемых вместе с решетками на металлические шпильки. Перед установкой в контейнер решетки с образцами в кассете фиксировались гайками, расположенными на краях шпилек. После этого кассета устанавливалась в 7 литровый полипропиленовый контейнер с боковыми вентиляционными отверстиями закрытыми стальной сеткой с мелкими ячейками и закрывалась крышкой.

Опыт проводился в темноте в течение 15 суток. После окончания опыта контейнер вынимался, для фиксации результатов

охлаждался быстро до  $-10^{\circ}\text{C}$  и разбирался. Каждый снятый с несущих решеток образец корма вместе с личинками и продуктами их жизнедеятельности хранился в морозильной камере холодильника в отдельном полиэтиленовом пакете в течение всего измерительного цикла. Внешний вид кассеты с образцами перед его установкой в «Молярый» (конструкция для содержания и разведения личинок БВМ) показан на рисунке 5.



Рисунок 5 – Кассета с образцами перед установкой в Молярый

Полученные данные подвергались статистической обработке с целью проверки достоверности результатов с использованием статистического критерия Кохрена для оценки воспроизводимости опыта и статистического критерия Стьюдента для оценки значимости результатов.



Усредненные значения масс личинок по образцам в граммах, как результат реализации матрицы планирования экспериментов  $Y_{э_{j,i}}$  показаны в таблице 12.

Таблица 12 – Результаты реализации матрицы планирования эксперимента по выращиванию личинок БВМ

Показатель	Номер повторности	Номера опытов							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Усредненная масса личинок $Y_{э_{j,i}}$	1	0,0614	0,0765	0,0707	0,0466	0,0614	0,0948	0,0683	0,0452
	2	0,0188	0,0323	0,0625	0,0498	0,0303	0,1046	0,036	0,05
	3	0,0456	0,0878	0	0,0748	0,0820	0,0172	0,0457	0,0692
Номер пластины	1	11	10	9	12	12	12	11	12
	2	7	5	7	8	6	7	8	8
	3	4	1	3	4	3	2	1	4
Показатель	Номер повторности	Номера опытов							
		9	10	11	12	13	14	15	16
Усредненная масса личинок $Y_{э_{j,i}}$	1	0,0840	0	0,0835	0,0526	0,0533	0,0871	0,0742	0,0625
	2	0,0355	0,013	0,0283	0,015	0,0754	0,0549	0,0595	0,0047
	3	0,0542	0	0,0654	0,0643	0,0889	0,0884	0,0691	0,0539
Номер пластины	1	9	10	9	10	11	11	10	9
	2	6	5	8	7	6	5	5	6
	3	3	3	1	2	4	2	1	2

Номер опыта в таблице 12 соответствует номеру серии опытов, а строка – номер повторности – номеру повторения опыта в серии. В таблице 9 также соответственно показаны номера решеток, где располагались опытные образцы, по которым можно судить об их пространственном расположении.

Оценка воспроизводимости опыта и пригодности результатов опыта для дальнейшего анализа производилась по статистическому критерию Кохрена.

$$G_{кр} \geq \frac{(So_{\max})^2}{\sum_{i=1}^{16} (So_i)^2} \quad (1)$$

где  $G_{кр}$  – табличное критическое значение критерия Кохрена. Для нашего случая с вероятностью риска ошибки 0,05, критическое значение коэффициента Кохрена составляет 0,33.  $So_{\max}$  – значение максимального квадрата отклонения для каждой серии повторных опытов выбранного из 16 опытов реализации матрицы.  $So_i$  – среднеквадратические отклонения повторных опытов.

Значение критерия Кохрена для масс личинок получилось  $0,22 \leq G_{кр}$ .

Результаты реализации эксперимента получают в виде уравнения регрессии

$$Y_p = b_0 + \sum_{i=1}^9 b_i x_i + \sum_{i=1}^9 \sum_{j=1}^9 b_{ij} x_i x_j \quad (2)$$

где  $Y_p$  – отклик, вычисляемый по уравнению регрессии,  $b_0$  – нулевой коэффициент уравнения регрессии,  $b_i$  – коэффициент уравнения регрессии характеризующий вклад  $i$ -го фактора в выходной параметр,  $b_{ij}$  – коэффициент характеризующий вклад парного взаимодействия  $i$ -го и  $j$ -го факторов.

$$b_i = \frac{\sum_{m=1}^{16} Y_{э.ср_m} X_{im}}{16} \quad (3)$$

$$b_{ij} = \frac{\sum_{m=1}^{16} Y_{э.ср_m} X_{jm} X_{im}}{16} \quad (4)$$

$$b_0 = \frac{\sum_{m=1}^{16} Y_{э.ср_m} X_{im}}{16} \quad (5)$$

$$Y_{э.ср_i} = \frac{\sum_{j=1}^3 Y_{э_{i,j}}}{3} \quad (6)$$



Проверка коэффициентов на значимость и отсеивание производилась по критерию Стьюдента.

$$b_i \geq t_{кр} Sb_i \qquad b_{i,j} \geq t_{кр} Sb_{i,j} \qquad (7)$$

где  $t_{кр}$  – критическое табличное значение критерия Стьюдента для значения риска 0,05 и числа степеней свободы  $f$ .

$$f = N(n-1) \qquad (8)$$

Для данного случая  $f = 32$ , поскольку  $N = 16$ , а  $n = 3$  (количество повторностей). Табличное значение критерия Стьюдента составит 2,0.

Дисперсия коэффициента регрессии, выражается зависимостью (9).

$$(Sb_{i,m})^2 = \sum_{i=1}^N \sum_{m=1}^n (Y_{i,m} - Y_{э.сп_i})^2 / Nn(n-1) \qquad (9)$$

Величины дисперсий и критических значений коэффициентов, рассчитанные по формулам (3)–(6), составили 0,015 и 0,03 соответственно.

Значимыми оказались только коэффициенты уравнения регрессии  $b_0$  (см. таблицу 13, столбец с индексом «0»). Все остальные коэффициенты, как одиночные, так и парные, не удовлетворяли статистическому критерию Стьюдента.

Увеличение разрешающей способности опыта, а вместе с этим и повышение значимости коэффициентов уравнения регрессии, возможно за счет снижения дисперсии опыта. Поскольку все опыты производились одновременно, в одном объеме, то факторы времени и неоднородности температуры можно исключить. Таким образом, необходимо проверить неоднородность результатов эксперимента в рабочем объеме, в котором содержались личинки *G. mellonella*. Для этой проверки построен график распределения средних масс личинок БВМ  $Y_{п.сп_\xi}$  в граммах по номерам решеток  $g$  (рисунок 6).

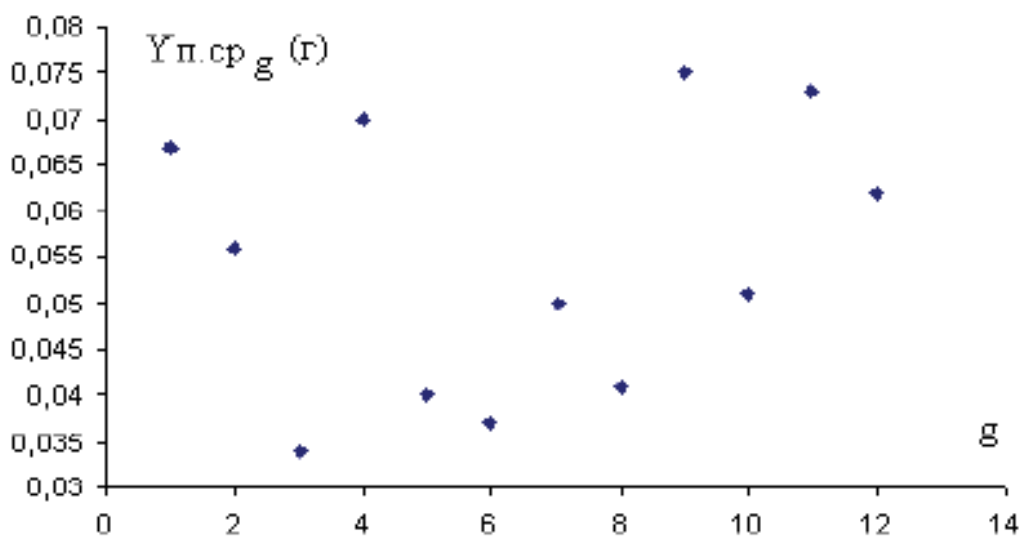


Рисунок 6 – График распределения усредненных масс личинок БВМ по решеткам в зависимости от номера решетки  $g$

На рисунке 6 видно, что в центральной части кассеты минимальная масса личинок почти в два раза меньше, чем максимальная по краям, то есть имеет место рассеивающий фактор, приводящий к повышенной дисперсии опыта.

Для того чтобы произвести компенсацию влияния рассеивающего фактора и уменьшить дисперсию опыта необходимо найти корректирующие коэффициенты для разных зон пространственного распределения. Для нахождения этих корректирующих коэффициентов место расположения решетчатых пластин разбивается на три равные зоны, и в пределах каждой из этих зон производится усреднение. После этого производится определение опорного уровня, относительно которого производится вычисление корректирующих коэффициентов.

Определение опорного уровня выбирается исходя из одной из следующих гипотез.

1. Гипотеза среднего уровня – усреднение по всем решеткам и относительно этого уровня находим компенсирующие коэффициенты.

2. Гипотеза медианного уровня. Медианный уровень – это уровень соответствующий середине между средней величиной масс личинок крайних зон и средней величины масс личинок центральной зоны.

3. Гипотеза существования фактора усиливающего биологический эффект на краях, то есть компенсационные коэффициенты должны уменьшать усредненные значения масс личинок до характерного значения этих масс для серединной зоны.

4. Гипотеза существования фактора ослабляющего биологический эффект в центре, то есть компенсационные коэффициенты должны увеличивать средние значения масс личинок до уровня характерного для крайних зон.

Поиск компенсирующих коэффициентов аналогичен поиску аппроксимирующей функции наиболее точно описывающей множество экспериментальных точек. В данном случае простейшей аппроксимирующей функцией будет ступенчатая функция. Высота крайних ступенек соответствует среднему значению массы личинок на краях, а высота центральной ступеньки соответствует среднему значению масс личинок в центре. Три выделенные зоны содержат по четыре решетки.

На рисунке 7 показана аппроксимирующая функция 1 для зон I, II и III.

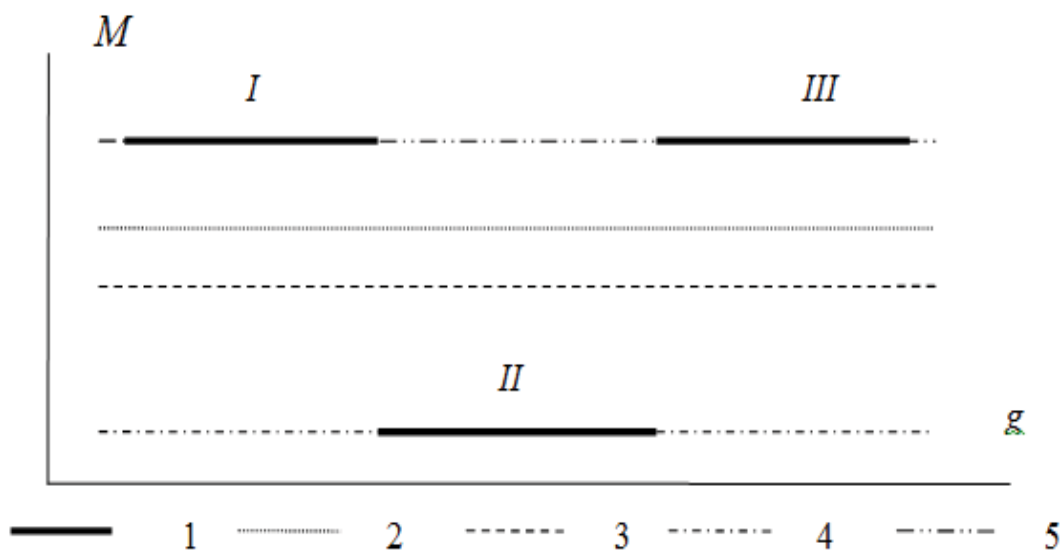


Рисунок 7 – Иллюстрация гипотез аппроксимации полученных результатов: 1 – аппроксимирующая функция для зон I, II и III; 2 – опорная линия для гипотезы о среднем, 3 – опорная линия для медианной гипотезы, 4 – опорная линия для гипотезы действия усиливающего фактора и 5 – опорная линия для гипотезы ослабляющего фактора; g – номер решетки; M – усредненные показатели массы личинок внутри зон.

В соответствии с рисунком 7 аппроксимирующие функции имеют следующий вид

$$Ya_g^q = \begin{cases} Yo_j^q K_1^q & \text{для } 4 \geq g \geq 1 \\ Yo_j^q K_2^q & \text{для } 8 \geq g \geq 5 \\ Yo_j^q K_3^q & \text{для } 12 \geq g \geq 9 \end{cases} \quad (10)$$

где  $Ya_g^q$  – аппроксимирующая функция для описания распределения личинок по массам;

$q$  – той гипотезы для области  $g$ . Нумерация гипотез совпадает с порядком перечисленных выше гипотез;

$Yo^q$  – опорный уровень для исследуемого фактора  $q$  – той гипотезы;

$K_1^q, K_2^q, K_3^q$  – поправочные коэффициенты, рассчитанные по усредненным результатам экспериментов для соответствующих  $q$ .

$Yo^q$  вычислялись по формулам (11) – (14)

$$Yo^1 = \sum_{i=1}^{16} \sum_{m=1}^3 Y_{i,m} / Nn = \sum_{g=1}^{12} Y_{п.ср.g} / 12 \quad (11)$$

$$Yo^2 = ((\sum_{g=1}^4 Y_{п.ср.g} + \sum_{g=9}^{12} Y_{п.ср.g}) / 8 + \sum_{g=5}^8 Y_{п.ср.g} / 4) / 2 \quad (12)$$

$$Yo^3 = (\sum_{g=1}^4 Y_{п.ср.g} + \sum_{g=9}^{12} Y_{п.ср.g}) / 8 \quad (13)$$

$$Yo^4 = \sum_{g=5}^8 Y_{п.ср.g} / 4 \quad (14)$$

Формулы расчета корректирующих коэффициентов даны в таблице 14.

Таблица 14 – Формулы расчета корректирующих коэффициентов  $K_1^q, K_2^q, K_3^q$

q	$4 \geq g \geq 1$	$8 \geq g \geq 5$	$9 \geq g \geq 12$
1	$K_1^1 = Yo^1 / Yo^3$	$K_2^1 = Yo^1 / Yo^4$	$K_3^1 = Yo^1 / Yo^3$
2	$K_1^2 = Yo^2 / Yo^3$	$K_2^2 = Yo^2 / Yo^4$	$K_3^2 = Yo^2 / Yo^3$
3	$K_1^3 = Yo^3 / Yo^3 = 1$	$K_2^3 = Yo^3 / Yo^4$	$K_3^3 = Yo^3 / Yo^3 = 1$
4	$K_1^4 = Yo^4 / Yo^3$	$K_2^4 = Yo^4 / Yo^4 = 1$	$K_3^4 = Yo^4 / Yo^3$

Чтобы определить наиболее справедливую гипотезу аппроксимации использовался метод наименьших квадратов. Там, где сумма квадратов отклонений экспериментальных данных с учетом корректирующих коэффициентов от опорных уровней для каждой из гипотез будет наименьшей, аппроксимация и, соответственно, гипотеза считается ближе к реальному положению вещей.

Для алгоритмизации расчетов выведем выражение, учитывающее поправочные коэффициенты. Для этого произведем формирование поправочной таблицы  $[K_{i,j}^q]$  из той части Таблицы 14, которая описывает  $Y_{j,i}$  путем заменой местами строк и столбцов, а также заменой номеров образцов в соответствующей части Таблицы 14 на значение поправочного коэффициента с учетом зоны рисунка 7 и номера гипотезы таблицы 14.

Мы получим таблицу поправочных зональных коэффициентов, которую можно представить в виде набора из четырех матриц  $[K_{i,j}^q]$  для каждой из четырех гипотез  $q$ , номера опыта  $i$ , и номера повторности  $j$ . Часть таблицы 9 – усредненные значения масс личинок  $Y_{j,i}$  тоже можно рассматривать в виде матрицы и применив к ним методы линейной алгебры, получить результирующую матрицу взаимодействия таблиц  $[K_{i,j}^q]$  и  $[Y_{j,i}]$ . Вычисление опорных уровней усредненных масс личинок для каждой из гипотез, можно рассматривать как определение следа произведения двух матриц: матрицы поправочных коэффициентов  $[K_{i,j}^q]$  и матрицы масс личинок  $[Y_{j,i}]$ . В справедливости проделанных манипуляций можно убедиться простой подстановкой элементов этих матриц в полученное произведение матриц. Это будет соответствовать сумме результатов опытов полученных в повторных опытах с учетом их расположения в соответствующей зоне. А их сумма, так называемый след матрицы, необходим для расчета средней величины, используемой в дальнейших расчетах величины суммы квадрата отклонений необходимой для выбора гипотезы.

Таким образом, итоговая формула расчета средних значений  $Ya^q$  для  $q$ -ой гипотезы, с учетом компенсационных коэффициентов имеет вид:

$$Ya^q = (Tr [K_{i,j}^q \parallel Y_{j,i}]) / Nn \quad (15)$$



На основании этого выражения можно вывести формулу для оптимизируемого фактора, при помощи которого происходит отсев гипотез.

$$(Sk_{i,j}^q)^2 = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^n (Ya^q - Y_{\text{э}_{i,j}} K_{j,i}^q)^2 \quad (16)$$

Чем меньше сумма квадрата отклонений  $(Sk_{i,j}^q)^2$ , тем ближе выбранная гипотеза соответствует множеству экспериментальных точек.

Результаты расчетов для усредненных значений массы личинок приведены в таблице 15.

Таблица 15 – Компенсация пространственного рассеивающего фактора показателя средних масс личинок для модели, описываемой уравнением регрессии

q	Гипотезы (q)	к1	к2	к3	сумма квадр. откл	дисп.	b <sub>0</sub>	Макс. откл. x10 <sup>-3</sup>	G	Gкр
	Исходное	1,000	1,000	1,000	0,0176	0,014	0,0557	4,6	0,26	0,33
1	Среднее	0,900	1,293	0,900	0,0092	0,010	0,0543	1,85	0,20	0,33
2	Медианное	0,847	1,219	0,847	0,0086	0,010	0,0544	1,7	0,20	0,33
3	Усиление краев	0,695	1,000	0,695	0,0051	0,007	0,0419	1,0	0,20	0,33
4	Подавление центра	1,000	1,439	1,000	0,013	0,012	0,0669	2,6	0,15	0,33

По результатам предварительным расчетов экспериментальные данные  $Y_{\text{э}_{3,3}}$ ,  $Y_{\text{э}_{3,6}}$ ,  $Y_{\text{э}_{3,10}}$  были признаны экспериментальным промахом и исключены из всех расчетов из-за аномально большого вклада в дисперсии.

Из таблицы 15 видно, что наименьшее значение суммы квадратов отклонений для гипотезы «усиление биологического эффекта на краях» и наибольшее «ослабление биологического эффекта в центре», соответственно при гипотезе «усиление биологического

эффекта на краях» и минимальная дисперсия. Все гипотезы удовлетворяют критерию Кохрена. Дисперсия значительно меньше, но, все коэффициенты при факторах, включая и парные, не становятся значимыми. Значимым, как и прежде остается только коэффициент  $b_0$ .

Другой критерий оценивания влияния ингредиентов питательной среды на развитие личинок – их заселенность на экспериментальных пластинах.

Усредненные значения распределения личинок БВМ по образцам как результат реализации матрицы планирования экспериментов  $Y_{э,ji}$  показаны в таблице 16.

Таблица 16 – Результаты реализации матрицы планирования эксперимента по заселенности пластин с питательной средой при выращивании личинок *Galleria mellonella*

Показатель	Номер повторности	Номер опыта							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Заселенность личинками $Y_{э,ji}$	1	25	24	15	7	13	5	63	21
	2	5	5	9	8	4	15	4	4
	3	2	41	0	12	22	5	7	42
Номер пластины	1	11	10	9	12	12	12	11	12
	2	7	5	7	8	6	7	8	8
	3	4	1	3	4	3	2	1	4
1	2	11	12	13	14	15	16	17	18
Заселенность личинками $Y_{э,ji}$	1	21	1	35	11	7	20	19	4
	2	4	5	4	5	21	17	22	3
	3	18	0	35	21	10	34	20	20
Номер пластины	1	9	10	9	10	11	11	10	9
	2	6	5	8	7	6	5	5	6
	3	3	3	1	2	4	2	1	2

Номер опыта в таблице 16 соответствует номеру серии опытов, а, номер повторности – номеру повторения опыта в серии. В таблице 16 также показаны номера решеток, где располагались опытные образцы, по которым можно судить об их пространственном расположении.

Значение критерия Кохрена, вычисленное по формуле (1), заселенности образцов личинками получилось  $0,38 \geq G_{кр}$ , т.е. по статистическому критерию Кохрена результаты не являются воспроизводимыми. В таком случае вычислять коэффициенты в уравнении регрессии не имеет смысла, поскольку модель статистически не достоверна. Для того, чтобы полученные результаты стали удовлетворять критерию Кохрена, необходимо уменьшить дисперсию опыта.

Как уже было отмечено – все опыты производились одновременно, в одном термостатированном объеме, поэтому факторы времени и неоднородности температуры внутри экспериментального объема можно исключить. Таким образом, снова возникает аналогично, как и в первом случае с распределением личинок по массам необходимо проверить неоднородность результатов эксперимента в рабочем объеме, в котором содержались личинки *G. mellonella*. Для этой проверки построен график распределения заселенности личинок БВМ по номерам решеток (рисунок 8).

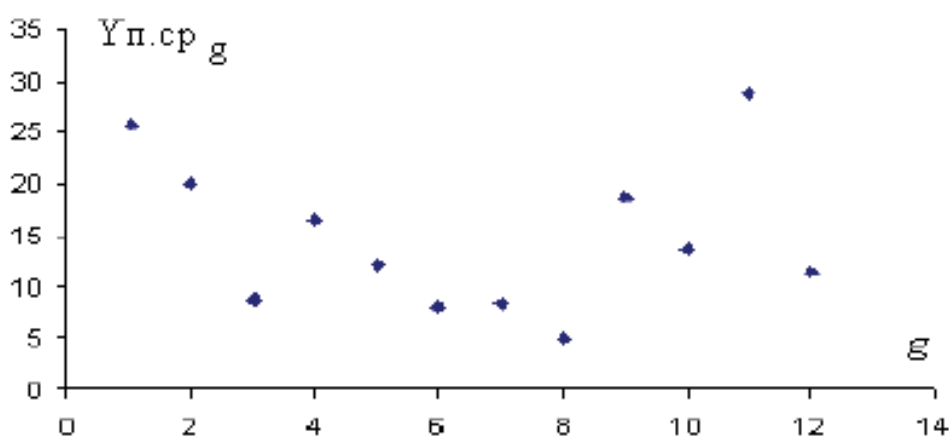


Рисунок 8 – График распределения усредненного заселения образцов личинок *G. mellonella*  $Y_{п.ср} g$  по решеткам в зависимости от номера решетки g

На рисунке 8, как и в предыдущем случае видно, что в центральной части кассеты заселенность образцов пластин личинками почти в три раза меньше, чем по краям, т.е. имеет место рассеивающий фактор, приводящий к повышенной дисперсии опыта.

Для того чтобы произвести компенсацию влияния рассеивающего пространственного фактора и уменьшить дисперсию опыта, как и в предыдущем анализе необходимо найти корректирующие коэффициенты, которые корректируют неоднородные свойства экспериментального объема, где выращивались личинки. Поэтому производим все действия совершенно аналогично.

Опорный уровень выбирается, как и в случае изучения критерия массы личинок, исходя из одной из четырех гипотез. В общем случае гипотезы, выбираемые для аппроксимации, не обязательно должны совпадать для случая роста личинок и привлекательности их расположения или корма.

Поиск компенсирующих коэффициентов аналогичен поиску аппроксимирующей функции, наиболее точно описывающей множество экспериментальных точек (рисунок 9). В данном случае простейшей аппроксимирующей функцией будет ступенчатая функция. Высота крайних ступенек соответствует среднему значению заселенности личинками пластин с питательной средой на краях, а высота центральной ступеньки соответствует среднему значению заселенности пластин с питательной средой личинками в центре. Каждая из трех выделенных зон содержит по четыре решетки.

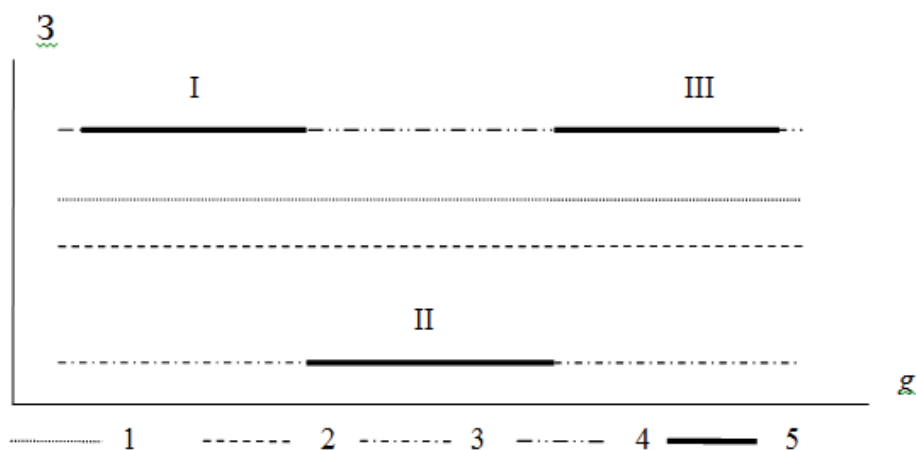


Рисунок 9 – Иллюстрация гипотез аппроксимации полученных результатов.

1 – опорная линия для гипотезы о среднем уровне; 2 – опорная линия для медианной гипотезы; 3 – опорная линия для гипотезы действия усиливающего фактора; 4 – опорная линия для гипотезы ослабляющего фактора; 5 – аппроксимирующая функция для зон I, II и III; g – номер решетки; z – усредненные показатели заселенности пластин с питательной средой

На рисунке 9 показана аппроксимирующая функция и положение опорных уровней. В соответствии с этим аппроксимирующие функции имеют вид описываемый выражением (10), в котором соответствующие опорные уровни вычисляются по формулам (11)-(14), а корректирующие коэффициенты приведены в таблице 11.

Все рассуждения, приведенные для определения и учета корректирующих коэффициентов, остаются справедливыми и для распределений по заселенности пластин.

Оптимизируемый фактор, при помощи которого происходит отсеивание гипотез, рассчитывается по формуле (16).

Чем меньше сумма квадрата отклонений  $(S_{k_{i,j}^q})^2$ , тем ближе выбранная гипотеза соответствует множеству экспериментальных точек.

По результатам предварительных расчетов для образцов  $Y_{\vartheta_{3,3}}$ ,  $Y_{\vartheta_{3,6}}$ ,  $Y_{\vartheta_{3,10}}$  они были признаны экспериментальным промахом и аннулированы из-за аномально большого вклада в дисперсии как для модели, описываемой уравнением регрессии, так и для модели, описывающей распределение свойств личинок по пластинам с образцами. Результаты расчетов для усредненных значений массы личинок приведены в таблице 17.

Таблица 17 – Компенсация пространственного рассеивающего фактора показателя заселенности личинками для модели, описываемой уравнением регрессии

q	Гипотеза (q)	$K_1^q$	$K_2^q$	$K_3^q$	Сумма квадратов отклонений	Дисперсия	$b_0$	Максимальное отклонение. x10-3	G	Gкр
	Исходное	1	1	1	5703	14,60	14,83	2208	0,38	0,33
1	Среднего уровня	0,82	1,77	0,83	4526	6,87	14,84	1363	0,30	0,33

Продолжение таблицы 17

q	Гипотеза (q)	$K_1^q$	$K_2^q$	$K_3^q$	Сумма квадратов отклонений	Дисперсия	$b_0$	Максимальное отклонение. x10-3	G	Gкр
2	Медианного уровня	0,73	1,57	0,74	3581	6,11	13,20	1081	0,30	0,33
3	Усиления краев	0,47	1	0,47	1462	3,90	8,42	449	0,31	0,33
4	Подавления центра	1	2,15	1	6664	8,33	19,44	2032	0,30	0,33

Из таблицы 17 видно, что наименьшее значение суммы квадратов отклонений для гипотезы «усиление краев» и наименьшее «подавление центра», соответственно при этой гипотезе и минимальная дисперсия при модели уравнения регрессии. Все гипотезы удовлетворяют критерию Кохрена. Дисперсия значительно уменьшается.

Но все коэффициенты при факторах, включая и парные, все равно не становятся значимыми. Значимым, как и прежде, остается только коэффициент  $b_0$ .

После компенсации рассеивающего фактора производился расчет коэффициентов уравнения регрессии для представления результатов эксперимента в виде уравнения регрессии (2).

Вычисленные по формулам (3)–(6) коэффициенты уравнения регрессии приведены в таблице 18.

Таблица 18 – Значения парных коэффициентов уравнения регрессии при входных факторах для массы *G. mellonella*  $b_{ij} \cdot 10^{-3}$ 

Одиночные коэффициенты	Входные факторы		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
				54,8	1,7	2,6	-6,8	0,76	3,7	3,4	-1,1	-3,3	-3,9
Парные коэффициенты	1	Пшеничная мука			-1,4	1,2	-8,6	-5,7	-3,9	1,4	3,6	3,4	
	2	Отруби				-5,7	1,4	1,2	3,6	-8,6	-3,9	-3,3	
	3	Выгопки					3,6	-1,4	-8,6	-3,9	-8,6	-1,1	
	4	Глицерин						-3,9	-5,7	-1,4	1,2	3,7	
	5	Сухие дрожжи							-8,6	3,6	1,4	0,8	
	6	Сухое молоко								1,2	-1,4	1,7	
	7	Кукурузная мука									-5,7	-6,8	
	8	Растительное масло											2,6
	9	Мед											

Величины дисперсий и критических значений коэффициентов, рассчитанные по формулам (7)–(9), составят 0,015 и 0,030 соответственно.

Из таблицы 17 и 18 следует, что значимыми являются только коэффициенты уравнения регрессии  $b_0$ . Все остальные коэффициенты уравнений, как одиночные, так и парные, являются незначимыми, так как они не удовлетворяют статистическому критерию Стьюдента.

Проделанные расчеты показывают, что фактор рассеяния имеет значительное влияние на результаты измерений и связан с геометрией пространства, где происходит рост личинок. Природа обнаруженной закономерности пространственного распределения как массы личинок БВМ так и распределения их в пространстве не ясна и требует дополнительных исследований. Возможно, это

связано, с биологией развития *G.melonella*, с использованием периодической стальной структурой несущих решеток для корма, вероятны и другие причины.

Таким образом, на рост личинок БВМ оказывает влияние геометрия пространства, в котором они выращиваются (размер, форма и материал молярия, наличие внутри него как металлических, так и неметаллических конструкций, и т.д.), т.е. конструкция молярия и его окружение. Это влияние, как показывает проведенный эксперимент, оказывает влияние больше, чем  $\pm 10\%$  изменения компонентов состава корма. Механизмы, объясняющие влияние конструкции молярия на рост личинок, неизвестны. Действие физических закономерностей, связывающих конструкцию молярия с ростом личинок БВМ для данных экспериментальных условий, оказалось более значимым, чем состав корма.

## 2.7 Химический анализ питательных сред и *Galleria mellonella*

Биохимические исследования живых объектов необходимы для выявления дисбаланса питательных веществ, что может предотвратить снижение потенциала насекомого. Важно установить взаимосвязь между содержанием веществ в питательной среде, личинках и продуктах жизнедеятельности изучаемого объекта, что обеспечит корректировку соотношения ингредиентов кормов, а также питательную ценность насекомого.

В своих исследованиях мы определяли четыре основных биохимических показателя питательной среды у личинок и куколок *G.mellonella* – первоначальная влага, содержание сырого жира, протеина и золы.

Влага, испаряющаяся из навески образца (питательная среда или живой объект) при температуре  $65^{\circ}\text{C}$ , называется первоначальной и выражается в процентах. Данный показатель определяет содержание воды в образце, который определяли по ГОСТ 27548-97 «Корма растительные. Методы определения содержания влаги».

Содержание первоначальной влаги зависит от состава и соотношения сухих и жидких ингредиентов. К сухим компонентам среды принадлежит мука пшеничная, кукурузная, сухое молоко, дрожжи



пивные, отруби, цельнозерновая мука и др. К жидким компонентам среды относится мед, глицерин, воду, масло подсолнечное. На ИПС по рецепту Кузнецовой (контроль) доля первоначальной влаги составила 7,62% (таблица 19).

Таблица 19 – Биохимический состав искусственных питательных сред, %

ИПС, по рецептам разных авторов	Перво-начальная влага	Содержание сырого протеина	Содержание сырого жира	Содержание сырой золы
Контроль ИПС	7,62	14,56	12,90	2,16
Beck S.D., 1960	18,90	11,31	6,50	1,49
Bronskill J.F., 1961	13,90	8,62	13,12	1,79
Pipa R.L., 1963	25,52	10,31	9,00	1,08
Stairs G.R., 1965	9,59	7,75	10,17	1,44
Жакаускене Я.И. и др., 1986	6,39	19,62	14,76	3,24
Шагов Е.М. и др., 1986	8,31	11,12	9,89	1,77
Исмаилов В.Я. и др. №1, 2003	9,32	16,31	20,93	2,21
Исмаилов В.Я. и др. №2, 2003	7,38	25,37	13,13	2,16
Коновалова Т.В., 2009	14,32	25,68	10,45	2,16

Высокий показатель первоначальной влаги ИПС по рецепту R.L. Pipa равный 25,52%, что объясняется высоким процентным соотношением жидких ингредиентов к сухим, составляющий 58,2%. В ИПС по рецепту S.D.Beck процент жидких ингредиентов составляет 53,8 % от общей массы среды. Остальные значения первоначальной влаги ИПС ниже 10%, при соотношении жидких ингредиентов менее 40%. При подборе ИПС следует учитывать соотношение жидких компонентов к сухим, так, чтобы содержание жидких компонентов не превышало 40%.

Наличие в корме общего количества азотистых веществ определяет содержание сырого протеина, в состав которых входят белки и амиды. В качестве источника протеинов в рецепте используют дрожжи, сухое молоко и др. Содержание сырого протеина осуществляли по методике ГОСТ 13496.4–93 «Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания азота и сырого протеина».

Анализ изучаемых питательных сред показал, что наибольший процент сырого протеина содержится в ИПС по рецептам Т.В. Коноваловой и В.Я. Исмаилова и др. № 2, что позволит повысить биомассу личинок *G.mellonella*.

Нами обнаружено, в кормах, содержащих шесть или более ингредиентов значения содержания сырого протеина выше, чем в ИПС включающие в себя меньшее количество ингредиентов по причине разных пропорций и сочетания питательных веществ.

Процент сырого протеина ЕПС с добавлением лекарственных растений колеблется в пределах 7,50–9,25%, что значительно ниже показателей ИПС. Так, ЕПС со слоевищами ламинарии содержит 9,25% сырого протеина, добавление цветков липы показало 8,56% сырого протеина. В естественных средах с травой мелиссы и листьями сельдерея 7,50 и 7,56 %, соответственно.

Показатель сырого жира включает в себя истинные жиры и жироподобные вещества. Показатель сырого жира также меняется в зависимости от состава корма, отражая уровень питательности корма. Определение сырого жира производили по ГОСТ 13496.15–97 «Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания сырого жира».

Средние значения сырого жира изучаемых питательных сред составляет 12,0%, что незначительно уступает контрольной среде.

Показатель сырой золы отражает содержание минеральных веществ. В пробах ее определяли по ГОСТ 26226-95 «Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения сырой золы». Значения содержания золы в ИПС варьируются в пределах 1,08–3,24 %.

Нами установлены корреляционные связи между составом корма и параметрами личинок. Выявлено, что имеется средняя отрицательная зависимость между стадией развития личинки БВМ

и содержанием сырого протеина и сырой золы, равная  $-0,60$  и  $+0,60$ , соответственно. Связь между массой личинок *G.mellonella* и содержанием сырой золы в корме равна по шкале Чеддока  $-0,66$ .

Из искусственных питательных сред по химическому анализу выделяются рецепты № 1,2 по В.Я. Исмаилову и др. (2003) и Т.В. Коноваловой (2009).

Для определения корреляционных связей между питательностью среды и содержания питательных веществ в личинках, нами проведен биохимический анализ самих личинок БВМ. Основные показатели представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Химический анализ личинок БВМ, выращенных на искусственных питательных сред разных авторов, %

ИПС	Перво-начальная влага	Сырой протеин	Сырой жир	Сырая зола
Контроль	59,94	42,56	21,67	4,44
Balazs A., 1958	61,54	31,63	23,45	4,34
Marston N., 1975	66,19	49,25	21,27	3,71
Шагов Е.М. и др., 1986	66,06	39,19	24,36	3,47
Жакаускене Я.И. и др., 1986	61,42	29,13	23,37	3,91
Исмаилов В.Я. и др.(1), 2003	68,05	54,56	24,15	5,71
Исмаилов В.Я. и др.(2), 2003	69,25	49,38	25,30	5,11
Коновалова Т.В., 2009	65,92	49,44	24,51	5,79

Согласно нашим исследованиям, первоначальная влага изучаемых сред в среднем выше контроля и варьируется от 61,54 до 69,25%. По данным чешских исследователей М. Vednářova, М. Borkovcova, V. Fišer (2012), содержание воды в личинках *G. mellonella* составляет 54,30%.

Протеин играет первостепенную роль в построении тела и жизнедеятельности животного организма.

Нами определено, что среднее значение сырого протеина в личинках составило 43,14%, что в среднем выше контроля. По биохимическому анализу M. Vednařova, M. Vorkovcova, V. Fiřer (2012) содержание сырого протеина личинок БВМ 43,47%, что идентично нашим полученным данным. Максимальное значение сырого протеина 54,56% обнаружилось в корме №1 В.Я. Исмаилова и др., Т.В. Коноваловой, что в среднем выше контроля на 9,44%.

Содержание сырого жира для любого животного играет большую роль в процессах его жизнедеятельности. Жир входит в качестве структурного материала в состав протоплазмы всех клеток, он необходим для нормальной работы пищеварительных желез и играет роль основного запасного вещества. Основная функция жира корма сводится к тому, что жир является главным аккумулятором энергии в организме, служит важным источником тепла. Среднее значение содержания сырого жира в личинках БВМ, выращенных на ИПС составило 23,8%. По данным M. Vednařova, M. Vorkovcova, V. Fiřer (2012) этот показатель равен 22,3%. Максимальное значение содержания сырого жира в опытной группе ИПС по рецепту №2 В.Я. Исмаилова и др. Минимальное значение содержания сырого жира отмечено в опытной группе ИПС по рецепту N. Marston.

Высокие значения сырой золы в ИПС по В.Я. Исмаилову и др., Т.В. Коноваловой, указывает на высокое содержание в личинках макроэлементов кальций, фосфор, соль, магний и микроэлементы, такие как железо, медь, цинк и селен.

Анализ полученных результатов показал, что имеется тесная корреляционная связь между содержанием влаги в личинках и ее выживаемостью, равная по шкале Чеддока +0,80. При этом выявлена умеренная обратная связь между стадией развития БВМ и содержанием в ней влаги, равная -0,53. Установлено положительное влияние содержания сырого протеина в питательных средах на содержание сырого протеина в личинках, составляющая +0,64.

## 2.8 Определение степени плетения паутины и консистенции питательной среды для жизнедеятельности личинок *G. mellonella*

Эволюционно сложилось так, что личинки БВМ приспособились проделывать туннели и ходы в поедаемом ими корме (сотах), защищаясь от нападения пчёл. Кроме того, количество паутины, сплетённое личинками БВМ, говорит о правильном развитии и обеспечении всеми питательными элементами, в том числе достатка азотистых веществ [Найдак М.Н., 1936].

При проведении опытов проводилась визуальная оценка плетения паутины и построения туннелей личинками *G. mellonella* и объема, занимаемого садка. Плетение паутины определялось визуально:

- нет паутины;
- + – незначительное количество туннелей и паутины на самом корме;
- ++ – значительное количество паутины возле корма и выше, туннелей и ходов проделано мало;
- +++ – паутиной оплетен весь корм, проделаны туннели до верхней части садка.

В результате наблюдений выяснилось, что наибольший объем паутины образовался на пчелиных сотах, а также на пчелиных пасечных вытопках с медом и листьями березы (таблица 21). Больше всего паутины отмечено на искусственных питательных средах по рецепту Е.М. Шагова, Г.И. Улановой, Е.М. Асланян (1986), а также в контроле ИПС.

Заслуживает внимания питательная среда, предложенная иностранным автором N. Marston. Личинки оплетали весь корм и заняли целый объем садка. Заслуживают внимания рецепты, разработанные российскими учеными Е.М. Шаговым и др. и Ю.И. Кузнецовой.

Лучше всего личинки оплетают корм, а также занимаемый садок на ИПС и на пчелиных сотах, что говорит о протекании нормальных физиологических процессов жизнедеятельности и достаточности азотистых веществ для плетения паутины.

Таблица 21 – Определение степени плетения паутины и построения туннелей, ходов личинками *G. mellonella*

Питательная среда	Степень плетения паутины и построения туннелей
Контроль ЕПС	+++
ЕПС	+
ЕПС + трава мелиссы	++
ЕПС + листья сельдерея	+
ЕПС+ цветки липы	+
ЕПС+ листья березы	+++
ЕПС + листья смородины	+
ЕПС + цветки ромашки	+
ЕПС + трава пустырника	++
ЕПС + слоевица ламинарии	+
Контроль ИПС	+++
по рецепту М.Н. Haydak (1936)	+
по рецепту A.Balazs (1958)	++
по рецепту S.D. Beck (1960)	++
по рецепту J.F. Bronskill (1961)	---
по рецепту R.L. Pira (1963)	+
по рецепту G.R. Stairs (1965)	+
по рецепту N. Marston (1975)	+++
по рецепту Е.М. Шагова, Г.И. Улановой, Е.М. Асланян (1986)	+++
по рецепту Я.И. Жакаускене, Ю.М. Ширвинскас (1986)	+
по рецепту В.Я. Исмаилова и др. рецепт №1 (2003)	+

## Продолжение таблицы 21

Питательная среда	Степень плетения паутины и построения туннелей
по рецепту В.Я. Исмаилова и др. рецепт №2 (2003)	++
по рецепту Т.В. Коноваловой (2009)	++
ИПС + трава мелиссы	++
ИПС + листья сельдерея	++
ИПС + цветки липы	+
ИПС + листья березы	++
ИПС + листья смородины	+
ИПС + цветки ромашки	++
ИПС + трава пустырника	++
ИПС + слоевища ламинарии	+

Личинки оплетают корм и занимаемый объем садка в опытной группе ИПС с лекарственными растениями. На ЕПС с лекарственными растениями оплетения паутины замечено лишь на корме.

Для насекомого, кроме плетения паутины и построения туннелей важно свободно двигаться по пищевому субстрату.

Критерий оценки консистенции определяли по классификации параметров консистенции пищевых продуктов (К. Помпеи) визуально:

– твердая, хрупкая консистенция – личинки обитают внутри и на поверхности питательной среды;

– мягкая, эластичная – личинки на поверхности и незначительно внутри;

– полужидкая – пастообразная консистенция – личинки легко проникают внутрь корма.

При оценке консистенции питательной среды и ее влияния на процессы жизнедеятельности БВМ отмечено, что старые пчелиные соты имеют твердую, влажную структуру, поскольку имеется большой объем как заполненных сот медом и пергой, так и пустые соты (приложение Ж).

Важным наблюдением является то, что в питательных средах со значительным количеством мёда личинки не могут свободно перемещаться в корме из-за повышенной вязкости мёда [Pira R.L., 1963]. Показатели личинок, выращенных на данной питательной среде, имеют низкие значения по массе, выживаемости и продолжительности развития до куколки значительно отличаются от контрольных показателей, определяющим фактором служит пропорции ингредиентов.

По консистенции корм ЕПС с добавлением компонентов лекарственных растений мягкий, эластичный, поскольку перед использованием пасечные вытопки пропускались через мясорубку. Частицы пасечных вытопок после обработки для личинок остаются большие по размеру, поэтому дополнительно измельчаем корм руками, что приводит к однородности корма.

Свежеприготовленная ИПС имеет мягкую и эластичную консистенцию, но после хранения в холодильнике (в закрытой ёмкости) они становятся твёрдыми, теряют свойство пластичности, а значит, доступность личинок в питательную среду значительно снижается.

Поэтому проанализировав полученные результаты о консистенции изучаемых питательных сред, выявилось, что пищевой субстрат должен быть пористым, мягким, эластичным, без признаков повышенной вязкости. При приготовлении питательной среды используются жидкие ингредиенты (вода, глицерин, мед) их соотношение должно быть сбалансированным. В процессе наблюдений в зависимости от соотношения этих ингредиентов корм становится твердым, либо сохраняет пластичность. В мягком и рассыпчатом



---

корме личинки достаточно легко и свободно могут перемещаться, легко поедая корм. В твердую питательную среду личинкам тяжело проникнуть и ею питаться.

Значит, для правильного роста и развития личинок важно сохранять свойство эластичности питательной среды, которое теряется при длительном хранении в холодильнике, а также при дисбалансе пропорций жидких и твердых компонентов питательной среды.

## ГЛАВА 3 ЛАБОРАТОРНОЕ СОДЕРЖАНИЕ И ВЫРАЩИВАНИЕ *G. MELLONELLA*

### 3.1 Температурный режим

Первая серьезная работа с большой восковой молью проводилась на базе Техасской сельскохозяйственной опытной станции F.V. Paddock, 1918.

Оптимальной температурой для выращивания *G. mellonella* L. является 30°C к такому мнению пришли: S.R. Dutky et al., 1962; N. Marston et al., 1975; G. Chauvin, J. Chauvin, 1985; M. Coskun et al. 2006. Кроме того, как выяснил В. Сymborowski (2000), что при поддержании постоянной и оптимальной температуры +30°C личинки БВМ становятся чувствительными к смене температурного режима. В лабораторных условиях повышенную температуру 32±1°C поддерживали М.Н. Haydak (1936), F.A. Eishen, A. Dietz (1990), М. М. Ashfad Nohad Kadhum et al. (2005), Aline C. Cardoso et al. (2007) указывая, что при данной температуре выживаемость личинок достигает 96,7%.

По данным В.К. Пельменева (1969) в естественных условиях, в гнезде пчел для развития яйца *G. mellonella* необходим температурный режим 25–30°C, через восемь дней из них выходит личинка, при 20°C – их развитие затягивается. Однако, G.R. Stairs (1978) считает, что оптимальная скорость развития личинок и куколок *G. mellonella* проходит в температурном диапазоне от 18 до 40°C.

По данным А.Ф. Огурцова (2005) при температуре 45°C при экспозиции 1 час погибает 80% личинок, 41,7% куколок, 100% бабочек, а яйца при указанной температуре не погибают. В. Сymborowski, M.I. Bogus (1976) установили, что снижение температуры до 0°C приводит к дополнительной линьке включающей в себя быстрое и постоянное увеличение титра ювенильного гормона. При недолгом замораживании при 0±1°C личинки дополнительно линяли [Pira R.L., 1976, Bogus I.M., 1977]. Согласно R.L. Pira (1976), пониженная температура воздуха сигнализирует о начале линьки.

### 3.2 Относительная влажность

Относительная влажность, как и температурный режим, играет важную роль при содержании насекомого в лабораторных условиях.

Так, исследователями G. Chauvin, J. Chauvin (1985), установлено, что при минимальной влажности воздуха (0 и 10%) личинки погибают в течение 48 часов. По данным G. Frankel (1944) рост личинок при высокой влажности, живущих на искусственной среде идет быстрее, чем при низкой относительной влажности.

При этом влажность воздуха, как и содержание воды в организме имеют важную роль для поддержания нормальной жизнедеятельности. Известно, содержание воды в насекомых составляет 60–70% от их веса. В личинках *G. mellonella* с увеличением возраста до стадии куколки возрастает дефицит воды [Beck S.D., 1960].

Количество линек (стадий) личинок *G. mellonella* зависит от процентного содержания относительной влажности воздуха, например, при 20% относительной влажности личинка проходит VII стадий, при 50% – от VI до VII стадий, а при 80% – только VI стадий. При 5% относительной влажности основная масса имаго имеет VI стадий развития, лишь небольшой процент имеет VII стадий развития.

Следовательно, рекомендуемый уровень относительной влажности при выращивании личинок *G. mellonella* составляет 70–80%.

Для контроля относительной влажности в лабораторных условиях применяют ряд методик.

1. *Метод контроля с помощью водно-глицеринового раствора.* Глицерин и вода, как раствор имеет несколько преимуществ в качестве контроля относительной влажности. Растворы от 0% до 100% в глицерине можно легко смешивать, их точный процентный состав может быть определен уточнением удельного веса раствора [Braun J.V., Braun J.D., 1958] или показателем преломления [ASTM, 1983]. Глицериновый раствор менее агрессивен, чем соль или сернокислые растворы кислоты, а сам глицерин относительно недорог.

## 2. Метод использования насыщенных растворов различных солей.

Для производства различных равновесных относительных влажностей могут использоваться ненасыщенные растворы в зависимости от концентрации растворенного вещества. Например, М.Е. Solomon, 1951, ASTM, 1983 предложили использовать раствор серной кислоты; М.Е. Solomon, 1951 – гидроксид калия, М.Е. Solomon, 1951; J.V. Braun, J.D. Braun, 1958 – раствор глицерина.

Индийские ученые D.C. Hanumantha Swamy et al. (2013) для выращивания БВМ применили азотнокислый свинец, нитрат натрия, ацетат магния, хлорид магния. В своей работе авторы доказали, что при минимальной относительной влажности 32–33% при температуре +35°C, а также максимальной относительной влажности 95% при +20°C самки не откладывают яйца.

На основании выше перечисленного, подчеркивается важность температурного режима и относительной влажности в жизнедеятельности БВМ на всех стадиях развития насекомого. Считаем, что оптимальным температурным диапазоном при выращивании *G.mellonella* – 28-32°C, при относительной влажности 70–80%.

### **3.3 Динамика влияния абиотических условий на морфофизиологические показатели личинок *G.mellonella*, выращенные на старых пчелиных сотах**

Учеными многих стран доказано, что абиотические условия содержания насекомого имеют прямую корреляционную зависимость с физиологическими процессами от стадии яйца до имаго. Изменяется количество отложенных яиц на одну самку, время развития каждой стадии, число выживших, масса яйца, личинки, куколки и имаго, соотношение самцов и самок [Kulkarni N., Kushwana D.K. et al. 2012]. Известно, что *G.mellonella* применяется при биологических исследованиях в лабораторных условиях, поэтому с целью поддержания оптимальных условий жизнедеятельности изучаемого вида возникает необходимость контролировать условия содержания.

Для определения степени воздействия абиотических условий мы рассматривали ряд физиологических показателей личинок большой восковой моли. В наших исследованиях изучали три варианта температуры и относительной влажности.

Контрольная группа личинок *G.mellonella* содержалась при условиях, рекомендованные литературными источниками, температура  $30\pm 1^\circ\text{C}$ , относительная влажность  $70\pm 5\%$ . В 1 опытной группе личинок *G.mellonella* содержали при  $27\pm 1^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $50\pm 5\%$ . Во 2 опытной группе условия содержания были  $32\pm 1^\circ\text{C}$  и  $60\pm 5\%$ . В 3 опытной группе личинок БВМ выращивали при  $35\pm 1^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $80\pm 5\%$ .

На рисунке 10 представлены результаты выращивания личинок БВМ на их естественном корме – старых пчелиных сотах.

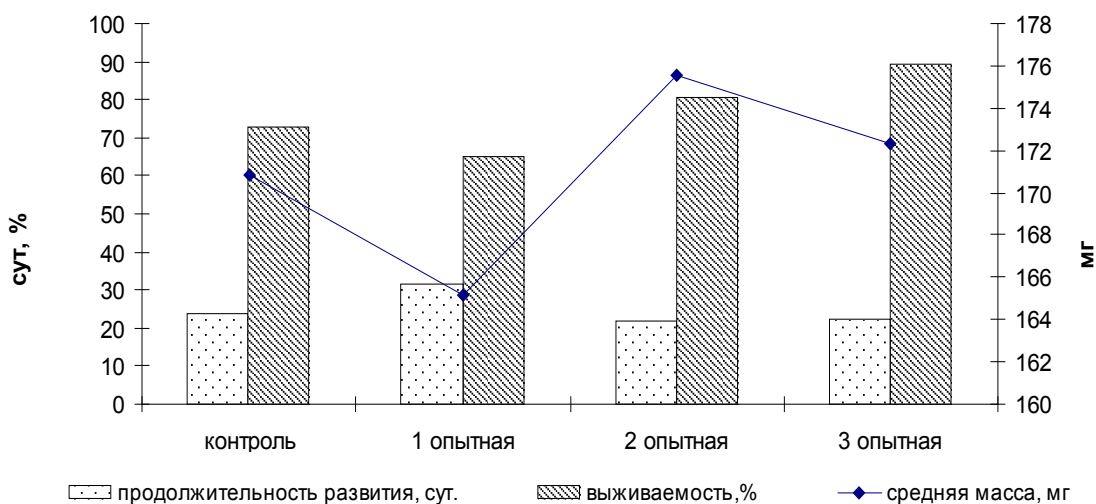


Рисунок 10 – Рост и развитие личинок *G.mellonella*, выращенных на старых пчелиных сотах при разных условиях содержания

Минимальный привес личинок БВМ в 1 опытной группе, продолжительность развития этих личинок на 7,84 суток больше контроля при  $P < 0,05$ . Выявлено, что максимальная масса личинок во 2 опытной группе – 175,51 мг, что достоверно на 4,70 г больше массы личинок контрольной группы, при этом продолжительность развития личинок этой группы, достоверно на 1,82 суток быстрее

контрольных личинок. Данный факт показывает оптимальный уровень температурного режима и относительной влажности во 2 опытной группе.

В изучаемых опытных группах с повышением температуры и относительной влажности показатель выживаемости имеет тенденцию к увеличению. Так, в 1 опытной группе выживаемость личинок *G.mellonella* ниже контрольных значений на 7,89%. Но во 2 опытной группе выживаемость повышается на 7,94% при  $P < 0,05$ . Максимальное значение выживаемости личинок отмечается в 3 опытной группе – 89,51%.

Динамика возраста (стадии) личинок, выращенных на старых пчелиных сотах (рисунок 11).

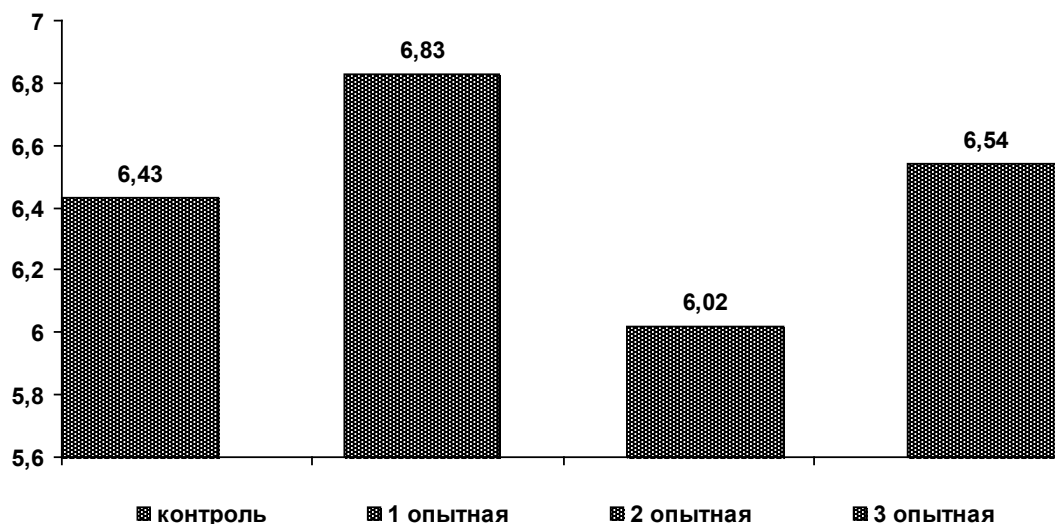


Рисунок 11 – Динамика возраста (стадии) личинок, выращенные на старых пчелиных сотах при разных условиях содержания

Стадия развития личинок, питающиеся старыми пчелиными сотами на уровне 6,02 до 6,83.

Подводя итог, следует отметить тенденцию – по мере возрастания температуры и относительной влажности повышается выживаемость личинок, при этом заметно произошло увеличение срока развития личинок *G.mellonella* до стадии куколки. Оптимальные условия прироста биомассы личинок выявлены при  $32 \pm 1^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $60 \pm 5\%$ .

### 3.4 Динамика влияния абиотических условий на морфофизиологические показатели личинок, выращиваемые на ЕПС с добавлением листьев смородины

Из всех изучаемых питательных сред с добавлением лекарственных растений по всем морфофизиологическим показателям выделялась группа личинок, выращенных с добавлением листьев смородины. Полученные нами результаты развития личинок данной группы представлены на рисунке 12.

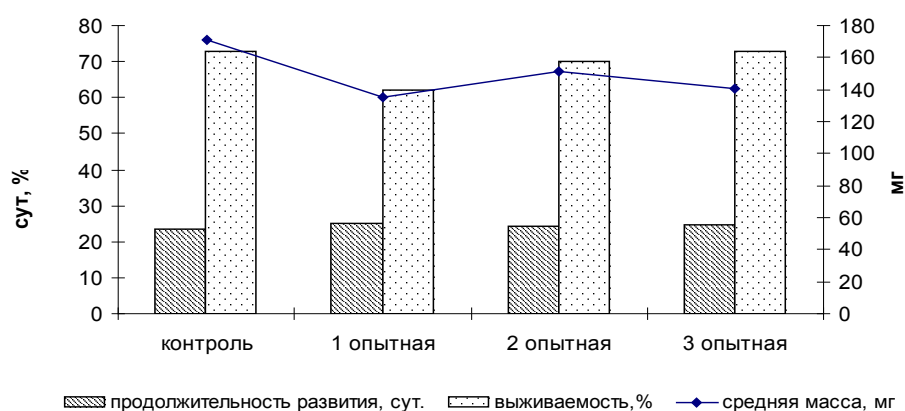


Рисунок 12 – Морфофизиологические показатели личинок *G. mellonella* при выращивании на ЕПС с добавлением листьев смородины при разных условиях содержания

Из графика видно, средний привес личинок опытных групп на 28,3 мг ниже показателей прироста личинок, выращенные в контроле. Минимальное значение прироста личинок, выращиваемые в 1 опытной группе – 135,46 мг. Во 2 опытной группе средний привес личинок равен 151,19 мг, что на 11,5% ниже привеса личинок, на старых пчелиных сотах. При этом в 3 опытной группе привес личинок на 17,50% ниже контрольных значений. Следует отметить, негативное влияние данной питательной среды на привес биомассы личинок в изучаемых условиях.

Показатель продолжительности развития личинок во всех рассматриваемых группах на уровне 24–25 суток, что выше контрольных значений. Диапазон значений выживаемости личинок при разных абиотических условиях составляет 10% и колеблется

62,08–72,08%. К контрольным значениям близка группа личинок, выращенная при максимально высокой температуре и относительной влажности. Высокое значение возраста личинок выявлено во 2 опытной группе – 6,01.

Анализируя полученные результаты в данной группе личинок *G.mellonella*, отмечено равномерное распределение значений по всем показателям. Наиболее оптимальные условия можно считать вторую опытную группу –  $32\pm 1^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $60\pm 5\%$ .

### 3.5 Динамика влияния абиотических условий на морфофизиологические показатели личинок, выращиваемые на ИПС по рецепту Е.М. Шагова и др.

На сегодняшний день существует более 20 рецептов зарубежных и российских авторов приготовления искусственной питательной среды (ИПС) для кормления *G. mellonella*. В лабораторных условиях нами изучены 13 искусственных питательных сред (Приложение А).

Из всех изучаемых нами ИПС по ряду показателей выделяется рецепт Е.М. Шагова и др. (1986). Поэтому данная ИПС выбрана для изучения влияния абиотических условий на процессы жизнедеятельности *G.mellonella*. Средняя масса личинок, выращиваемых на изучаемой питательной среде при  $32\pm 1^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $60\pm 5\%$  выше контроля на 2,62 мг (1,5%) (рисунок 13).

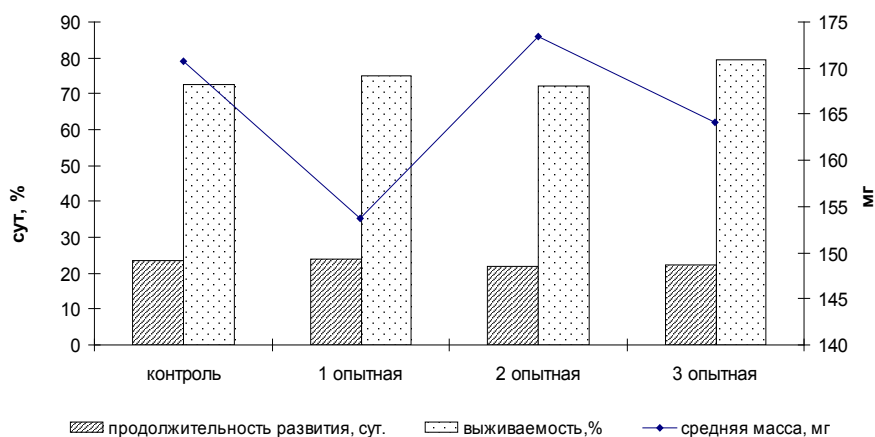


Рисунок 13 – Рост и развитие личинок *G.mellonella*, выращенных на ИПС по Е.М. Шагову и др. (1986) при разных абиотических условиях



Из графика заметно, что при разных условиях привес личинок опытных групп контрастируют друг с другом. Низкий показатель прироста личинок в 1 и 3 опытных группах, что на 17,05 и 6,61 мг ниже прироста личинок из контрольной группы, соответственно. Во 2 опытной группе максимальная масса личинок и составляет 173,43 мг.

Продолжительность развития личинок варьирует в одном диапазоне с контрольными значениями. Показатель выживаемости во всех опытных группах в среднем выше контрольных значений на 2,92%. Высокий уровень выживаемости в 3 опытной группе и составил 79,63%. Минимальный возраст личинок, выращенных во 2 опытной группе, составил 6,15.

Исходя из вышеизложенного, следует сделать заключение о положительном влиянии абиотического фактора (при  $32\pm 1^\circ\text{C}$  и о.в.  $60\pm 5\%$ ) при кормлении личинок питательной средой по рецепту Е.М. Шагова и др. (1986) на привес биомассы, продолжительность развития до куколки. При этом выживаемость выше при более высоком температурном режиме и большей относительной влажности.

### **3.6 Динамика влияния абиотических условий на морфофизиологические показатели личинок, выращиваемые на ИПС с добавлением травы пустырника**

ИПС для лабораторного выращивания *G. mellonella* удобна стандартизированным приготовлением и точной навеской каждого ингредиента. При этом лекарственные растения, содержащие биологически активные вещества в качестве добавки, могут повысить потенциал и продуктивность БВМ. В качестве стандартной ИПС нами был выбран рецепт Ю.А. Кузнецовой навеской 20 г с добавлением различных лекарственных растений (цветки липы и ромашки; трава пустырника и мелиссы; листья смородины, сельдерея и березы; слоевища ламинарии все по 2 г). Исследования показали, что из всех изучаемых добавок к основной ИПС оптимальной является трава пустырника.

Влияние различных сочетаний температурного режима и относительной влажности при кормлении данной питательной средой представлены на рисунке 14.

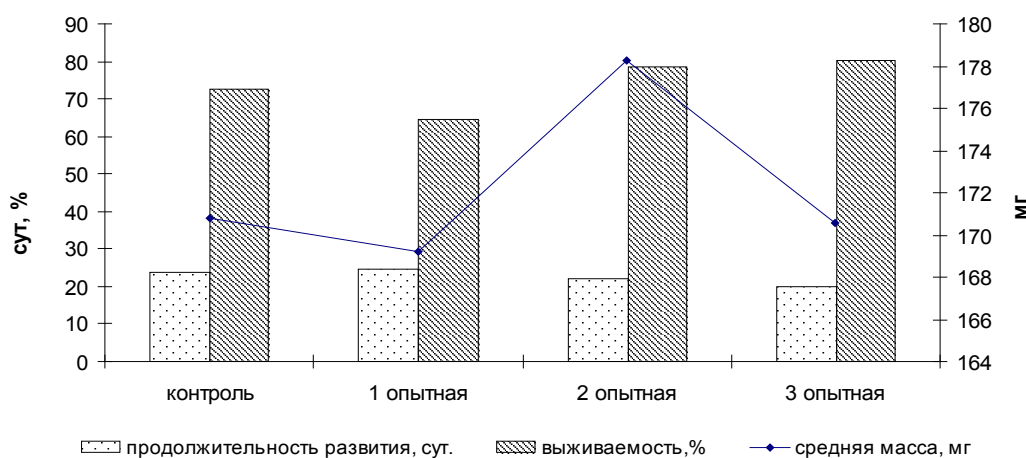


Рисунок 14 – Рост и развитие личинок *G.mellonella* выращенных на ИПС по Ю.А. Кузнецовой с травой пустырника при разных абиотических условиях

Следует отметить сильную вариацию значений по всем исследуемым показателям. Максимальный показатель прироста биомассы в группе личинок, во 2 опытной группе при  $P < 0,05$ , что на 7,43 мг больше контрольных значений.

К контрольным значениям в 1 и 3 опытных группах масса личинок близка к контролю. Резкий скачок привеса отмечен во 2 опытной группе, что на 4,3% выше контроля. Срок развития до куколки у личинок, выращенные во 2 опытной группе равен 22,04 суток (при  $P < 0,05$ ), на 0,92 суток быстрее развития контрольных личинок. В других группах продолжительность развития личинок *G.mellonella* достоверно близка к контролю.

Выживаемость выше контрольных значений во 2 и 3 опытных группах, и составила 78,57 и 80,42%, соответственно. В этих же группах возраст ниже контроля, 5,81 и 5,98, соответственно.

Таким образом, при изучении одинаковых условий содержания личинок БВМ на разных питательных средах доказано, что оптимальные условия содержания:  $32 \pm 1^\circ\text{C}$ , влажность  $60 \pm 5\%$ . Данные параметры необходимы для получения максимального прироста биомассы личинок *G.mellonella* с сохранением высокого уровня выживаемости и коротким сроком развития до куколки.

### 3.7 Условия содержания большой восковой моли в лаборатории

Условия содержания *G. mellonella*, схема (система) сбора биологического материала в зависимости от поставленной цели значительно варьируются у разных авторов. В большинстве случаев БВМ культивируют на ИПС в лабораторных условиях в термостате с заданным температурным режимом и относительной влажностью. Для выращивания и содержания личинок БВМ применяют различные конструкции и садки.

Для проведения опыта М.Н. Наудак (1936) использовал стеклянную банку объёмом 0,57 л и содержал личинок БВМ при постоянной температуре 33°C и относительной влажности 75%.

Joan F. Bronskill (1961) разработал специальную стеклянную ёмкость для содержания личинок БВМ (рисунок 15).

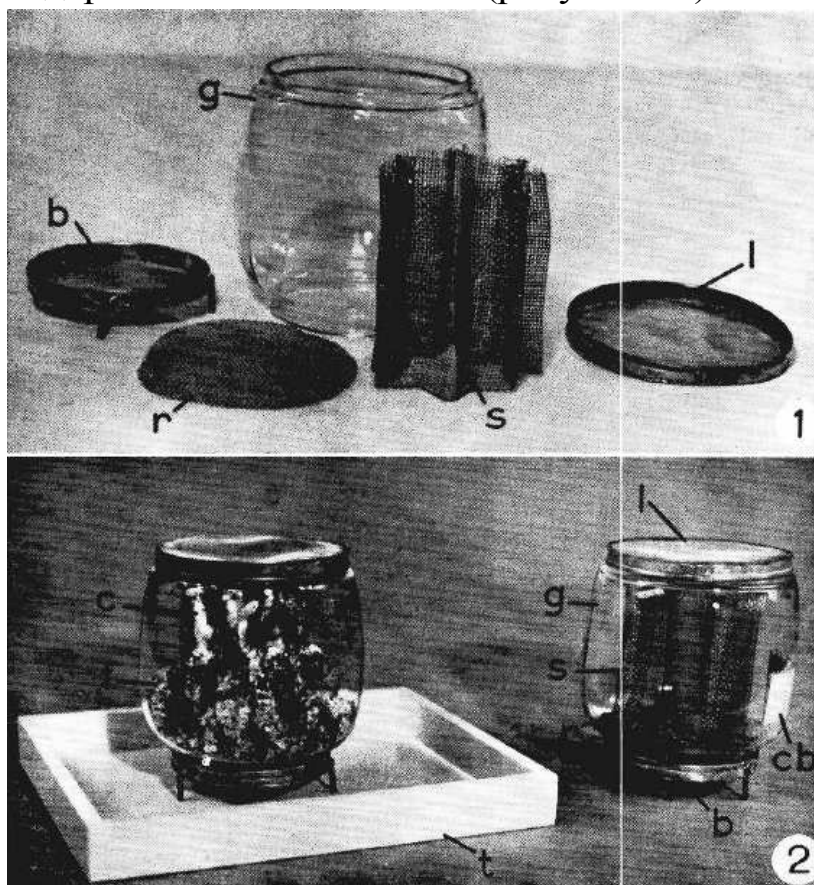


Рисунок 15 – Банка - «фонарь» (Joan F. Bronskill, 1961 где b – основание; s – металлический каркас; g – банка - «фонарь»; t – поддон для мусора; r – стойки медной проволоки; l - крышка; f – питательная смесь; cb – гофрированный картон; c – коконы.

Банка-«фонарь» представляет собой стеклянную банку без дна в виде фонаря, высотой 12 см, диаметр верхнего отверстия 9 см и 7 см диаметр нижней крышки (внутренний размер), оборудованная крышкой и основой, затянутыми медной сеткой с диаметром ячеек 0,5 мм. Основа имеет три металлические ножки, которые поднимают банку над поддоном для лучшей вентиляции внутри банки-«фонаря». Часть медной основы плиссирована крест-накрест и делилась с образованием восьмиконечной колонки, на которой плетутся коконы, и впоследствии без травм легко извлекалась из банки. Питательная смесь добавлялась через верхнюю часть клетки, по мере необходимости.

Сетка на медном каркасе достаточная для поддержки питательной среды и личинок, еще достаточно крупная, чтобы экскременты падали через нее на поддон для мусора, с которого их можно удалить без расползания личинок.

Американские ученые N. Marston, В. Campbell (1973) использовали 1,1 л пластиковые контейнеры с плотно закрывающейся крышкой, снабженной сеткой для аэрации. После появления бабочек в контейнер добавляли внутренний бумажный вкладыш для откладки яиц. Контейнеры содержали при температуре  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $60 \pm 5\%$ , при постоянном освещении. Клетка для оплодотворения представляла собой пластиковую чашку объемом 0,55 л, где вместо дна располагали тканевую органзу. Внутри чашки распыляли 10% раствором сахара и посыпали гранулированным сахаром. Самки откладывали яйца между гранулами сахара. Абиотические условия содержания  $32 \pm 2^\circ\text{C}$ , относительной влажности  $70 \pm 10\%$ , в полной темноте.

В 1985 году Х.Р. Мирзалиева и Б.Т. Мирзалиев получили патент СССР № 1165333 от 07.07.1985 на «Устройство для разделения гусениц большой восковой моли по возрастам», где подробно описывается механизм разделения личинок сеткой. На дне емкости вместе с кормом располагались личинки младших возрастов, а гусеницы, готовившиеся к окукливанию, ползут вверх, где имеются специальные пазы.

Frank A. Eischen, A. Dietz (1990) применяли стеклянные банки объемом 130 мл, закрытые металлической крышкой. В крышке проделывали отверстия диаметром 10 мм и закрывали их липкой лентой (клеякой стороной наружу), в которой, в свою очередь, проделывали 3–4 отверстия для вентиляции. Банки помещали в термостаты (при температуре  $31 \pm 2^\circ\text{C}$ , и относительной влажности  $40 \pm 5\%$ ). Группа исследователей во главе с Н.А. Спиридоновой (1995) выращивали БВМ в чашках Петри и стеклянных банках, снабженных крышками с мелкоячеистой впаянной сеткой при  $20\text{--}25^\circ\text{C}$  и относительной влажностью 60%.

Б.Г. Севастьянов (2002) в своей работе пишет, что оптимальным решением для массового разведения БВМ является специальный шкаф с автономным подогревом, который можно установить в служебном помещении. В нем должно быть три расположенных вертикально отделения. В нижнем отделении устанавливается обогревательный элемент. В качестве теплового прибора автор советовал установить лампочку соответствующей мощности, помещенную в жестяную банку и засыпанную сухим песком, или воздушный ТЭН. В следующем отделении располагаются выбракованные сотовые рамки, которые подвешиваются по 10 штук в 3 яруса как в многокорпусном улье. В третьем отделении, над рамками, ставится ящик из оргалита или фанеры, который заполняется восковыми отходами. На шкаф навешивается дверца и плотно подгоняется, для предотвращения утечки тепла и расползания личинок.

Группа ученых M. Coskun et al. (2006) опускали по 10 личинок в каждую банку. Затем на 3, 7, 10 день взвешивали и определяли количество личинок, не дошедших до стадии куколки. Для массового разведения насекомого использовали специальные контейнеры. Они были следующей конструкции: размеры 30x30x40 см, снабженные крышкой и вентиляционной щелью, затянутой мелкоячеистой металлической сеткой с размером отверстий менее 1 мм.

M. Ashfad Nohad Kadhum Al-Temenu et al. (2005) первоначально содержали имаго БВМ для спаривания и для сбора яиц в пластиковых банках размером 5x30 см. После 24 часов отложенные в эти банки яйца собирали и переносили на ИПС, приготовлен-

ную для выращивания личинок БВМ в условиях, приближенных к естественным (температура  $32 \pm 1^\circ\text{C}$ , относительная влажность  $75 \pm 5\%$ , полная темнота).

Проведя анализ литературных источников, можно отметить, что на сегодняшний день существует множество технологий содержания *G. mellonella* в лабораторных условиях с применением как простых, так и сложных конструкций. Всех их объединяет наличие вентиляционных отверстий для предотвращения повышенной влажности. Основной используемый материал конструкций – стекло (банка). Оптимальный температурный диапазон содержания  $20\text{--}33^\circ\text{C}$ , при относительной влажности 50-75%. Количество личинок, используемых в опыте, зависит от объема контейнера (садка) и целей эксперимента и в среднем составляет от 10 штук и выше.

Нами был проведен сравнительный анализ садков, изготовленные из стекла и полипропилена одинакового объема с учетом вентиляции и доступности к тест-объекту. По эскизам J.F. Bronskill (1961) нами создан садок – «банка-фонарь» (приложение Б). Данная конструкция оказалась неудобной для расположения питательной среды в металлическую сетку, а также извлечения личинок из сетки для корма. Диаметр ячейки металлической сетки доступен только для личинок I-III возраста.

Путем наблюдения установили, что содержание личинок *G. mellonella* в таких садках имеет как положительные, так и отрицательные стороны (таблица 22).

Выявлено, что стеклянные садки имеют больше плюсов, однако материал хрупок, имеет большой вес. При применении полипропиленовых садков выявился ряд положительных сторон материала: легкие в использовании, низкая стоимость. В период проведения опыта нами зафиксированы факты повреждения полиэтиленовых контейнеров личинками *G. mellonella*, а именно, крышек, при попытке окуклиться. Известно, что материал полипропиленовых садков относится к олефинам, близкий по своим свойствам к пчелиному воску, поэтому личинки большой восковой моли его легко прогрызают [Шовен Р., 1953; Тыщенко В.П., 1986], поэтому следует учесть толщину материала и вид полипропилена.

Таблица 22 – Сравнение критерии оценки материалов контейнеров

Критерии оценки материала контейнера	Полипропилен	Стекло
Эксплуатационные свойства	Пластичный	Хрупкий
Устойчивость к пластической деформации	Низкая	Высокая
Биологическая герметичность	Низкая	Высокая
Вентиляция	Широкие возможности конструктивного варьирования	Вентиляция через крышку контейнера
Прозрачность (цвет)	Легко выбирается	Светлое
Герметичность	+	+++
Вес	Легкий	Тяжелый
Стоимость	Низкая	Высокая

Получается, с точки зрения удобства для выращивания личинок *G. mellonella* более удобны с точки зрения пластичности, веса полимерные садки с учетом толщины стенки. Однако, с точки зрения физиологии *G. mellonella*, инертности материала и чистоты опыта, более оптимален вариант со стеклянным садком.

### 3.8 Конструкция «Молярый»

Изучив и опробовав разные виды устройств для содержания и выращивания *G. mellonella*, Гуцин А.В., Колбина Л.М. и Осокина А.С. (2016) установили, что для увеличения производительности и удешевления конструкции известные устройства не подходят для выращивания большой восковой моли. Большинство инсектариев имеют прозрачные стенки, что неблагоприятно влияет на физиологические процессы БВМ. Кроме того, данные ёмкости

и устройства достаточно громоздкие и занимают много места. В связи с этим, нами разработана полезная модель «Молярый» (патент на полезную модель № 164529 от 16.08.2016 г.).

Конструкция «Молярый» изготовлена из стекла, листы которого вырезаются по размерам стенок используемой ниши в шкафу (рисунок 16,17).

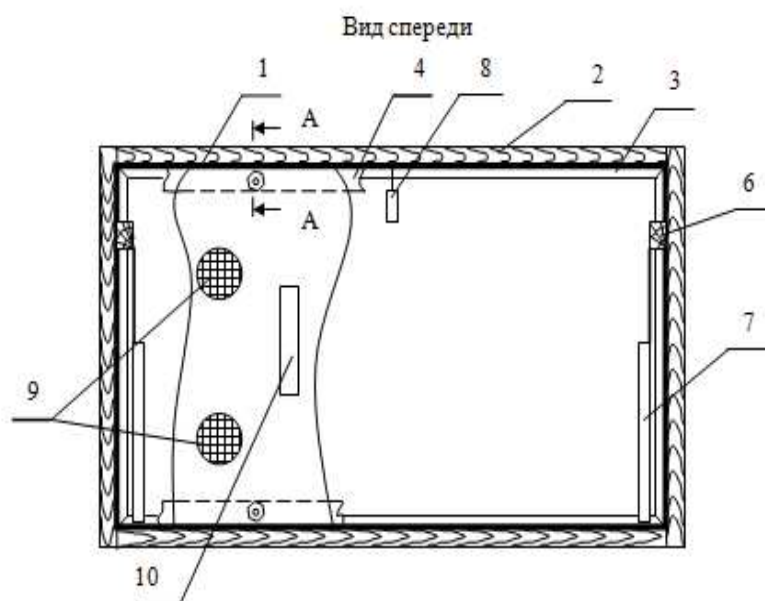


Рисунок 16 – Конструкция «Молярый» для разведения *Galleria mellonella* (вид спереди)

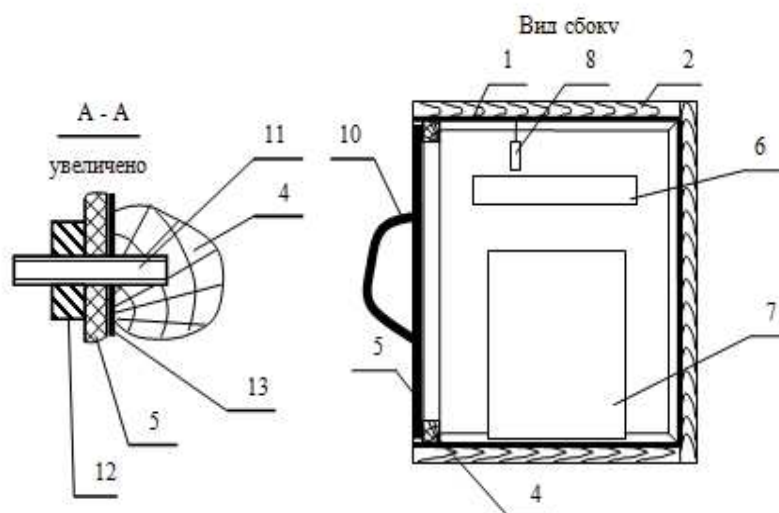


Рисунок 17 – Конструкция «Молярый» для разведения личинок *Galleria mellonella* (вид сбоку)



Камера «Молярия», удовлетворяющая всем необходимым биологическим требованиям, опирается на несущие конструкции используемого шкафа и не требует дополнительных конструктивных элементов для защиты стекла от механических повреждений, защиты личинок от света, а также теплоизоляции.

На рисунке 17 и 18 показаны все основные элементы конструкции «Молярия» (на виде спереди, фланец крепления передней съемной стенки и сама съемная стенка не показаны). Устройство содержит верхнюю, нижнюю, боковые и заднюю стенки молярия, выполненные из стекла (1); шкаф, в который встроены «Молярий» (2); уплотнительные хлорвиниловые уголки, приклеенные герметиком – (3); фланец для крепления передней съемной стенки (4); переднюю съемную стенку – (5); бруски для креплений нагревательных элементов приклеенные эластичным герметиком (6); нагревательные элементы (7); датчик температуры (8); вентиляционные отверстия, закрытые мелкой сеткой (9); гибкие ручки (10); резьбовые шпильки крепления съемной крышки (11); гайки (12); защитную ПВХ пленку (13).

Биологическая герметичность «Молярия» обеспечивается за счет силиконового герметика для склеивания всех деталей, который обеспечивает достаточную эластичность и не дает стеклу треснуть при усадке.

Для крепления передней крышки «Молярия» использовался составной деревянный фланец (4). При помощи гаек и этих шпилек происходит крепление крышки (5).

Съемная стенка «Молярия» 5 представляет собой лист ДВП, размеры которого точно соответствуют размерам входа в «Молярий». Для повышения биологической инертности внутренняя поверхность молярия покрыта полихлорвиниловой пленкой. Для воздухообмена на съемной стенке сделаны два отверстия диаметром 50 мм, закрытые металлической сеткой.

К боковым стенкам «Молярия» силиконовым герметиком приклеены по одному деревянному бруску (6), к которому крепятся два маломощных электрических нагревателя (7), которые обеспечивают более равномерный обогрев объема «Молярия». Управление нагревателями осуществляется при помощи датчика температуры (8).

Снаружи «Молярия», в удобном месте, устанавливается устройство для питания нагревателей и их регулирования. Оно соединяется проводами с нагревателями через отверстия во фланце (на рисунке они и соединительные провода не показаны).

Внутри «Молярия» можно разместить любые приспособления для увеличения эффективности его работы. Например, пространство «Молярия» можно разделить на несколько уровней устройством типа этажерки и тем самым значительно повысить его эффективность по объему выращиваемых личинок БВМ. Так же, как вариант, может быть установлено множество небольших ёмкостей с различными составами кормов или с разными стадиями развития личинок, возможны – другие комбинации. Приспособление для содержания и разведения большой восковой моли – «Молярий» предоставляет большие возможности для экспериментов.

## ГЛАВА 4

# ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ ЭКСТРАКТА *GALLERIA MELLONELLA* КАК ИСТОЧНИКА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ

### 4.1 Влияние *G. mellonella* на продуктивность сельскохозяйственных животных

Повышение производства продуктов питания возможно только за счет повышения интенсификации в сельском хозяйстве, особенно в животноводстве. Увеличение продуктивности сельскохозяйственных животных и птицы немыслимо без обеспечения их качественными кормами, в то же время на современном этапе человечество испытывает острый дефицит кормового белка, а особенно белка животного происхождения. Кроме того, для животных жизненно необходимо иметь в рационе достаточное количество жиров. Включение в рацион сельскохозяйственных животных нетрадиционных источников белка и жира является одним из вариантов решения данной проблемы.

В настоящее время выращивание сельскохозяйственных животных без использования различных кормовых добавок, антибиотиков, стимуляторов роста, иммуномодуляторов практически невозможно. Известно, что часть этих веществ вместе с продукцией (мясом и молоком), получаемой от таких животных, попадает в организм человека, что крайне нежелательно [Гудилина И.И., Кондратова А.Ф. и др., 1999].

По данным А. Штеле (2006), А. Штеле, Н.К. Топоркова (2007) для нормальной жизнедеятельности птицы необходимо не только незаменимые жирные кислоты. Для полного цикла метаболизма ненасыщенных жирных кислот важным является наличие в корме мононенасыщенных кислот. По результатам исследований чешских ученых М. Vednářova, М. Borkovcova, V. Fišer (2012) в личинках БВМ содержится 58% мононенасыщенных жирных кислот от общей суммы жирных кислот, полиненасыщенных 7%, а также 34,5% незаменимых аминокислот от общей их суммы, что позволяет рассматривать *G.mellonella* как перспективную добавку в корм животным.

Применение дождевых червей в качестве корма для животных или источника кормового белка впервые было показано в 1945 году R.D. Lawtence, R.H. Millar. Первые успешные эксперименты по кормлению животных дождевыми червями были произведены на цыплятах и поросятах-сосунках [Sabine J. et al., 1978]. По содержанию незаменимых аминокислот они соответствуют кормам для животных, птицы и рыбы, которые рекомендованы комиссиями ФАО и ВОЗ [Титов И.Н., Усоев В.М., 2012].

И.И. Гудилин, А.Ф. Кондратов и др. (1999) считают одним из перспективных направлений получения полноценного белка животного происхождения являются личинки синантропных мух, выращенных в искусственных условиях. Личинки синантропных мух содержат набор незаменимых аминокислот, витамины, гормоны. Биологически активные вещества, содержащиеся в личинках, по эффективности не уступают многим химическим препаратам, стимулирующим продуктивность сельскохозяйственных животных. Доказано, включение личинок синантропных мух в рационы сельскохозяйственных животных, птицы и рыбы повышает резистентность организма, многоплодие, сохранность молодняка, привесы на откорме, что позволяет отказаться от применения многих химических препаратов, снижающих экологическую ценность продукции, получаемую от животных.

Группа авторов во главе с И.И. Гудилиным и др. (1984) в своей работе описывают технологию получения белково-липидный концентрат (БЛК) путем термической сушки личинок синантропных мух в сушильной печи барабанного типа. В печи личинки синантропных мух подвергаются воздействию сухого воздуха нагретого до температуры 130°C в течение 30-40 минут. В результате высушивания личинок получается однородная сыпучая масса с влажностью 8–12%, обладающая специфическим запахом. Высушивание нативных (живых) личинок связано с большими энергозатратами. Под воздействием высоких температур происходит денатурация белка и разрушение многих биологически активных веществ. Выход конечного продукта составляет не более 25% от начальной массы сырья. Кроме того, под воздействием высоких температур

личинки приобретают высокую механическую прочность, из-за чего плохо поедаются молодняком сельскохозяйственных животных, особенно телятами.

Группа авторов во главе с М.Н. Кондрашовой (2005) при рассмотрении спектра применения экстракта личинок *G. mellonella* делают акцент на использование как самостоятельного препарата (для повышения иммунитета) так и для лечения и профилактики различных заболеваний, в том числе вирусных инфекций у сельскохозяйственных и домашних животных и птиц.

В книге Т.М. Чухрай (2013) имеется информация о применении экстракта для домашних птиц, собак, к сожалению, без научных объяснений. Украинский соотечественник В.П. Полищук и др. (2012) отмечает, что личинок БВМ можно применять в качестве подкормки мелких грызунов (шиншилл, африканских сони). Повышается их активность, плодовитость и продолжительность жизни.

Из обзора литературы видно, что в сельском хозяйстве имеется опыт по кормлению животных различными видами червей и личинок. Научно-обоснованной информации о применении *G. mellonella* в виде личинок, куколок и экстракта в ветеринарии и сельском хозяйстве крайне мало.

Для изучения влияния кормовой добавки в виде личинок и куколок *G. mellonella* в пищевом рационе японских перепелов был проведен сравнительный химический анализ данных биологических объектов (таблица 23).

Таблица 23 – Биохимический состав личинок и куколок *G. mellonella*, %

Стадия развития	Первоначальная влажность	Сырой протеин	Сырой жир	Сырая зола
личинка	65,47	39,52	46,43	2,85
куколка	58,06	43,09	48,75	1,52

Из таблицы 24 видно, что по питательности куколка большой восковой моли превосходит личинку.

S.D. Beck (1960) определил биохимические показатели личинок *G. mellonella* в зависимости от прироста биомассы (таблица 24).

Таблица 24 – Биохимические показатели личинок *G. mellonella* в зависимости от массы (S.D. Beck, 1960)

Вес мг	Сухой вес %	Содержание воды %	Содержание жира	
			живой массы, %	сухого вещества
<5	-	-	-	-
5,0 до 10	-	-	-	-
10,1 до 20	20,6	79,4	5,0	20,0
20,1 до 40	23,1	76,9	5,4	23,5
40,1 до 100	25,9	74,1	7,6	28,8
>100	31,8	68,2	13,1	40,6

Оказалось, что содержание воды в насекомых снижается по мере созревания личинки, а содержание жира значительно увеличивается.

Универсальным биологическим объектом для проведения экспериментов различных биологических добавок является перепел. Перепела – самые мелкие представители отряда куриных, относятся к семейству фазановых (Phasianidae), чутко реагирующая на внешние факторы. Быстрый рост, скороспелость и короткий срок инкубации яиц перепелов делают их удобными для научно-исследовательских целей [Лысенко Ю., Петенко А., 2012].

Исследования о влиянии БВМ на жизнедеятельность сельскохозяйственной птицы нами рассмотрено на примере японских перепелов (*Coturnix coturnix japonica*).

Птиц содержали в деревянных клетках вивария ФГБНУ Удмуртского НИИСХ. Температура, влажность воздуха, освещенность выдерживались в соответствии с нормами ВНИТИП.

Объектом исследований являлись две добавки в основной рацион японских перепелов: личинки *Galleria mellonella* VI–VII возраста, выращенные на естественном корме (пчелиные соты), а также 1–2 дневные куколки большой восковой моли, схема опыта представлена в таблице 25.

Таблица 25 – Схема опыта по изучению кормления японских перепелов восковой молью

Группа	Количество голов, шт.	Условия кормления
Контроль	40	ОР – основной рацион (полнорационный комбикорм – ПК)
1 опытная	40	ОР + 200 мг личинки (0,8% к массе ПК)
2 опытная	40	ОР + 200 мг куколки (0,8% к массе ПК)

Для опыта подобрали три группы птиц (контрольная группа и две опытные) по методу пар-аналогов. Опыт проводился семикратно, всего выборка составила по 40 птиц в каждой группе (32 самки и 8 самцов) 75-дневного возраста и 180-195-дневного возраста. При подборе пар-аналогов учитывалось биологическое состояние птиц, их продуктивные особенности и возраст. Содержание птиц за три недели до начала экспериментов и во время опытов были аналогичными.

Кормление перепелов в опытные периоды осуществлялось комбикормом, в соответствии с возрастными нормами ВНИТИП, сбалансированным по основным питательным и биологически активным веществам во всех опытных группах.

В состав комбикорма входили: пшеница, кукуруза, соевый шрот, соя полножирная, подсолнечный шрот, масло растительное, мука известняковая, фосфаты, аминокислоты, органические кислоты, пробиотические препараты, ферментный комплекс, фитаза, витаминно-минеральный премикс (сырой протеин – 21,01%, сырая клетчатка 3,80%, сырой жир 7,44%, обменная энергия 308 ккал/100г). Биологическую добавку скармливали однократно, перед вечерним кормлением, измельченную и смешанную с небольшим количеством сухого корма.

Сохранность поголовья в течение всего эксперимента составила 100%. Выяснилось, что подкормка большой восковой молью на всех изученных стадиях развития значительно повышает яйценоскость японских перепелов (рисунок 18).

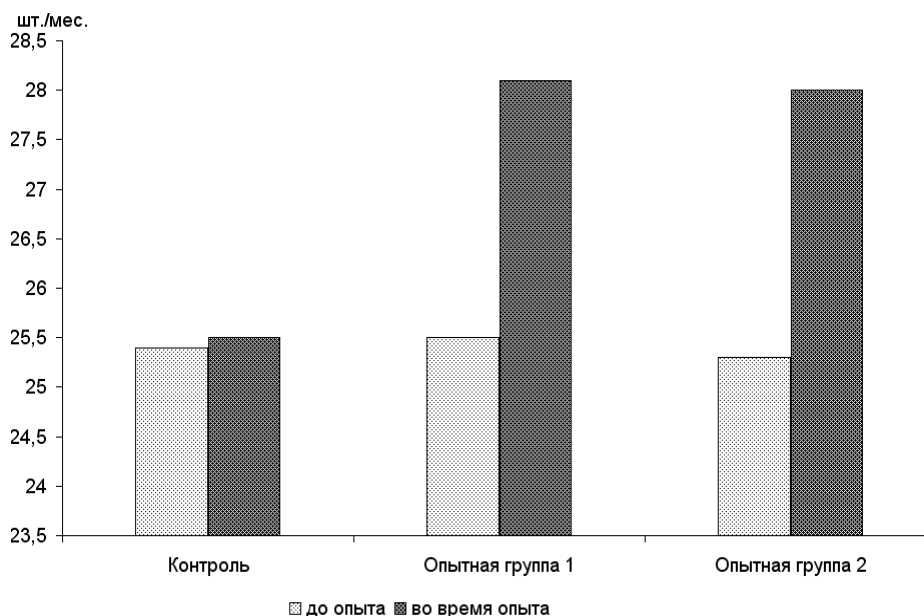


Рисунок 18 – Изменение яйценоскости японских перепелов при подкормке личинок и куколок *Galleria mellonella*

При этом различия опытных групп с контрольной (11,92 яиц) достоверны ( $P < 0,05$ ) и значительны: на 2,6 (или 10,2%) яиц в месяц при подкормке личинками восковой моли и на 2,5 (или 9,8%) яиц в месяц при подкормке куколками восковой моли. Разница между двумя опытными группами незначительна и недостоверна.

Совсем иная картина наблюдалась при изучении массы снесённых яиц (рисунок 19). На данный параметр подкормка восковой молью также оказывала сильное влияние, но гораздо большее значение имеет стадия развития *G. mellonella*. Так, подкормка личинками V-VII возраста вызвало значительное снижение массы снесённых яиц в среднем на 0,8 г (или 6,7%) по сравнению с контролем (разница достоверна при  $P < 0,05$ ).

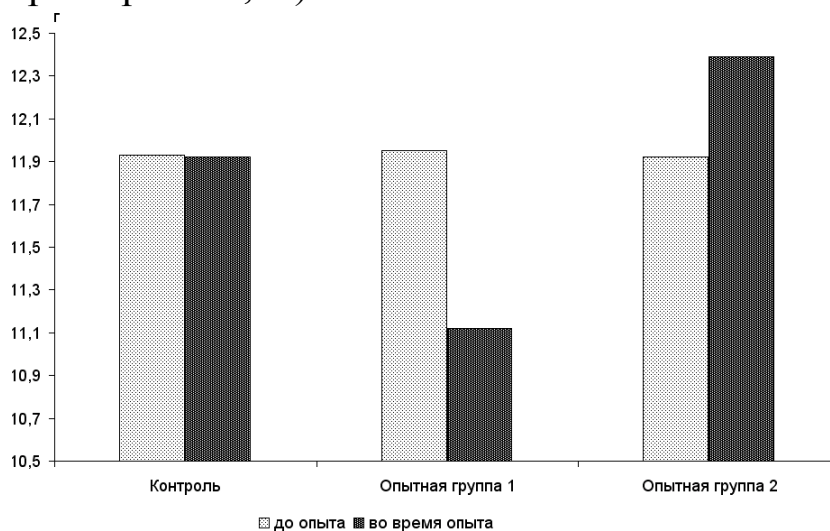


Рисунок 19 – Динамика изменения массы яйца японских перепелов при подкормке личинками и куколками большой восковой моли



Однако использование в качестве биологической добавки 1–2-х дневных куколок *G. mellonella*, наоборот, повысило среднюю массу снесённых яиц на 0,5 г или 3,9% ( $P<0,05$ ). Между опытными группами также наблюдались сильные и достоверные различия по этому параметру (на 1,3 г или 11,4%).

Валовый сбор яйца за период опыта больше оказался во второй опытной группе, что на 139 яиц больше, чем в контроле (таблица 26). При этом наибольшая интенсивность яйцекладки была также во второй опытной группе (90,57%).

Таблица 26 – Изменение яйценоскости и массы яиц японских перепелов при подкормке личинками и куколками *G. mellonella*

Показатель		Контрольная группа	Опытная группа 1	Опытная группа 2
		(n =32)		
Валовый сбор яиц		1600	1731	1739
Яичная масса, г	до опыта	297,1±5,2	300,0±5,2*	295,6±5,0*
	во время опыта	304,0±4,3	312,5±5,4*	346,9±3,7*
Св, %	до опыта	18,24	16,31	17,8
	во время опыта	15,35	17,09	16,7
% к контролю		100	102,8	114,1
Интенсивность яйцекладки, %		83,33	90,16	90,57

Примечание: \* $P<0,05$  при достоверной разнице с контролем

Наибольший прирост месячной яичной массы (на 42,9 г или 14,1%, при достоверной разнице с контролем при  $P<0,05$ ) показала вторая опытная группа, которую подкармливали куколками большой восковой моли. В первой опытной группе, в которой

подкармливали свежими личинками *G. mellonella*, несмотря на значительно возросшую яйценоскость, в целом дала достоверный прирост яичной массы только на 8,5 г или 2,8% по сравнению с контрольной группой.

Кроме продуктивных качеств птицы, исследовались морфометрические показатели японских перепелов (таблица 27).

Таблица 27 – Изменение изучаемых морфометрических показателей японских перепелов при подкормке *G. mellonella* на разных стадиях развития

Показатель		n	Масса птицы, г			Состояние оперения, балл	
			в начале опыта	в конце опыта	разница	в начале опыта	в конце опыта
Контрольная группа	♂	8	185,4 ± 8,7	187,2 ± 9,7	1,8	4,5	4,2
	♀	32	193,7 ± 8,3	212,2 ± 6,8	18,5	4,0	4,5
Опытная группа 1	♂	8	179,3 ± 9,1	193,6 ± 7,1	14,3	4,5	4,6
	♀	32	190,6 ± 6,9	219,0 ± 8,4	28,4	4,4	4
Опытная группа 2	♂	8	191,0 ± 8,0	197,5 ± 4,5	6,5	4,1	4,7
	♀	32	189,8 ± 6,4*	223,4 ± 7,6*	33,6	4,5	4,7

Примечание: \*P<0,05 при достоверной разнице с контролем

Половина подопытных животных в каждой группе составляли молодые особи в возрасте 60-65 суток, ещё не полностью завершившие рост. Поэтому во всех группах с течением времени наблюдалось увеличение размеров и, соответственно, массы птиц. Однако следует отметить, что в обеих опытных группах привес был значительнее, чем в контрольной группе.

Самки японских перепелов имели наибольший привес при подкормке куколками *G. mellonella* (в среднем 33,6 г или 17,7%), особи *Coturnix japonica*, получающие в качестве биологической добавки личинки БВМ незначительно уступили второй опытной группе

(на 5,2 г), но в целом показали высокие результаты, в среднем дав привес в 28,4 г или 14,9%, тогда как в контрольной группе привес составил 18,5 г или 9,6%. Разница обеих опытных групп с контрольной группой достоверна при  $P < 0,05$ .

В отличие от самок, самцы японских перепелов самцы показали лучшие результаты при подкормке личинками *G. mellonella* (в среднем повысив массу на 14,3 г или 8,0%). При подкормке куколками самцы добавили только 6,5 г или 3,4%, а в контрольной группе рост незначителен (1,8 г или 1,0%) и входит в пределы ошибки.

Авторами до и во время опыта проводилась визуальная оценка физиологического состояния птицы. Во всех группах изучаемые перепела оставались бодрыми, признаков истощения или ожирения не обнаружено.

Практически во всех группах состояние оперения до и во время процесса опытов оставалось хорошим, при подкормке куколками большой восковой моли наблюдалось улучшение, но разница недостоверна.

По итогам исследований установлено, что подкормка *G. mellonella* оказывает значительное влияние на биологическое состояние и продуктивность японских перепелов.

## **4.2 Изучение адаптогенных свойств организма при применении экстракта *Galleria mellonella***

Известно, что экстракт БВМ обладает выраженными адаптогенными свойствами, заметно повышая выносливость животных к физическим нагрузкам [Рачков А.К. и др., 1997]. Экстракт – концентрированная вытяжка, максимально освобожденная от балластных веществ [Червяков Д.К., Мартынов Г.Н., 1977]. Экстракт препятствует накоплению адреналина сердечной мышцей, истощению норадреналина в мозговом слое надпочечников при эмоционально-болевым стрессе у животных, что можно объяснить наличием в препарате некоторых аминокислот и микроэлементов. По экспериментальным данным авторов оценка токсичности, проведенная на лабораторных животных, показала, что острая

токсичность экстракта низка по сравнению с его терапевтическими дозами. Кроме того доказано благоприятное влияние препарата на кровеносную, бронхо-легочную и иммунологическую системы [Рачков А.К. и др., 2003; Кондрашова М.Н. и др., 2005].

Используемый в народной медицине экстракт личинок БВМ, выращенных на естественном корме, представляет собой прозрачную жидкость красновато-желтого цвета, содержащую около 1% сухого вещества в 40% или 70% этилового спирта и обладающую флуоресценцией (440-460 нм). Экстракт содержит значительное количество калия, фосфатов, магния, цинка и железа. Содержатся и микроэлементы, обладающие значительными биологическими эффектами (медь, марганец, селен, хром, молибден, кобальт) [Спиридонов Н.А., 1993; Рачков А.К., 2003].

За долгие годы исследования экстракта появилось множество способов его приготовления. Но до сих пор остается множество нерешенных вопросов по рецептуре экстракта личинок БВМ.

Российские врачи-апитерапевты Э.А. Лудянский (1994) и Ф.Д. Карнеев (1999), рекомендуют следующий рецепт приготовления и применения экстракта: 5 г личинок восковой моли (хорошо развитых, но обязательно без признаков окукливания) залить 50 г 70%-ого этилового спирта. Настаивать 5–8 дней. Рекомендации А.Ф. Синякова (2012): 20 г личинок залить 100 мл спирта и выдерживать в темном месте 7–9 дней, ежедневно взбалтывая.

Для повышения уровня эффективности экстрагирования экстракта необходимо определить длину и стадию развития личинки.

Ф.Д. Карнеев (1999), И.А. Реуцкий (2007) для экстрагирования советуют брать хорошо развитых личинок *G.mellonella*, но обязательно без признаков окукливания. С.Ф. Колосова и др., (2011) для настойки рекомендует брать молодых личинок, достигших не менее 10 мм. Ю.Н. Солоденко, И.В. Солоденко (2012) отмечают, что для изготовления экстракта личинок собирают на 20–30 день развития до наступления окукливания. К такому возрасту длина личинки составляет 10–15 мм.

Также для эффективности экстрагирования важно соблюдать процентное содержание этилового спирта в экстракте. В 1930 г. С.А. Мухин рекомендовал настаивать личинок *G. mellonella* в 70%-ном этиловом спирте. Н.А. Спиридонов (1993) описывает, что экстракцию биологического продукта проводят 40%-ным этанолом.

На основании выше перечисленного, мы видим наличие большого числа спорных вопросов в технологии приготовления экстракта и процентного содержания этилового спирта в экстракте. Данный экстракт с точки зрения ветеринарии, по изученным литературным данным изучен мало.

Для проведения экспериментальных исследований по действию экстракта личинок *G.mellonella* на лабораторных мышах в первую очередь требуется биохимический анализ разных экстрактов и выявить оптимальный вариант.

Анализ экстрактов личинок *Galleria mellonella* производили в БУ здравоохранения УР «Информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу обращения средств медицинского применения Министерства здравоохранения УР» (приложение Е). Показатель рН определяли по ГОСТ 26423-85 «Методы определения удельной электрической проводимости, рН и плотного остатка водной вытяжки». Содержание белка определяли спектрофотометрическим способом. Сухой остаток определяли по ГОСТ 18164-72 «Вода питьевая. Метод определения сухого остатка».

По результатам исследований, установлено, что 40% водно-спиртовой экстракт имеет диапазон варьирования кислотности 6,0-8,2, в 70% растворах с замороженными и нативными личинками БВМ также наблюдается слабо кислая реакция равная 6,5, что характеризует процессы генерации органических кислот. Насыщенный 70% экстракт имеет нейтральную кислотность, без выработки в процессе экстракции органических кислот (рисунок 20).

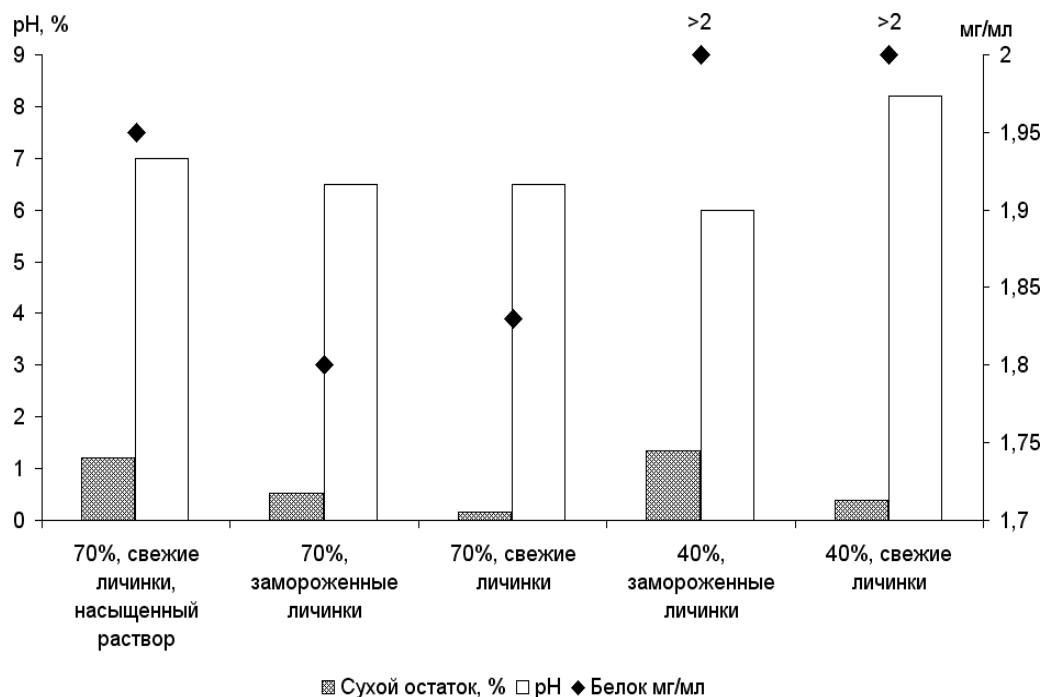


Рисунок 20 – Биохимический состав экстрактов личинок *Galleria mellonella* на 40% и 70% водно-спиртовом растворе

При определении в экстракте белка выявили, что наименьшее количество белка (мг/мл) в экстракте на 70% водно-спиртовом растворе. В 40% экстракте определен высокий показатель содержания белка (более 2 мг/мл), подобные результаты получены Н.А. Спиридоновым и др. (1991).

Данные результаты объясняются тем, что в экстракте 70% водно-спиртового раствора происходит коагуляция белков, что приводит к снижению общего количества белка, а значит, и полезных аминокислот. Содержание сухого остатка в 70% экстракте составило 0,15%, в то время как в экстракте на основе 40% водно-спиртового раствора 0,39%. Данная разница в значениях обосновывается разной степенью экстракции органических кислот. При повышенной концентрации этилового спирта больше растворяется минеральных и органических кислот.

Следовательно, проведенный сравнительный биохимический анализ экстрактов личинок *G. mellonella* на 40 и 70% водно-спиртовых растворах показал лучшую экстракцию в 40% раствор с сохранением большего процента органических кислот, определяемый по показателю pH.

Проведены доклинические исследования на лабораторных мышах, которым спаивали экстракт БВМ.

Эксперименты выполнялись в соответствии с этическими нормами обращения с животными, соблюдением рекомендаций и требований «Европейской конвенции по защите экспериментальных животных» (Страсбург, 1986), а также основываясь на «Руководство по лабораторным мышам и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях» (2010). Исследования проводились по «Методическим рекомендациям в токсикологическом эксперименте» (под редакцией П.И. Сидорова, 2002).

Работа выполнена в виварии ФГБНУ Удмуртский НИИСХ, а также на кафедре физиологии и зоогигиены факультета Ветеринарной медицины ФГБОУ ВО Ижевской государственной сельскохозяйственной академии.

Эксперименты проведены на белых однолинейных мышах, сформированных в группы по 5 штук по принципу пар-аналогов. Мышей содержали в виварии в стандартных клетках на обычном пищевом рационе в соответствии с ГОСТ Р-50258-92 «Комбикорма полнорационные для лабораторных животных». Животные имели свободный доступ к пище и воде. Способ введения экстракта применялся полудобровольный пероральный, объем подаваемого вещества 100 мл. Экстракт готовили на 40% водно-спиртовом растворе по рецепту Н.А. Спиридонова и др. (1993).

В опытных группах мышей выпаивали экстрактом *G. mellonella* в процентном соотношении 0,3% (1 опытная группа), 0,6% (2 опытная группа) и 0,9% (3 опытная группа). В контрольную группу входили мыши, которых выпаивали дистиллированной водой.

Перед забоем определяли общую массу животного. После забоя (путем декапитации) взвешивали внутренние органы (сердце, печень, селезенка, почки, надпочечники) на электронных весах (CR-5501). Полученный материал фиксировали в 10% растворе забуференного формалина в течение 24 часов, промывали проточной водой, и заливали в парафин по общепринятой методике. Приготовление гистологических препаратов проводили на базе БУЗ УР «Республиканского аналитического бюро Министерства здравоохранения Удмуртской Республики».

Изготовление микросрезов осуществляли на микротоме СМ-1. Срезы окрашивались гематоксилином и эозином на аппарате для гистологической окраски тканей АГ-12-6-6 (Россия). Морфометрию производили при помощи фотографирования, с использованием цифровой фотокамеры Levenhuk С 510NG на микроскопе JENAMED 2, окуляр GF – PW 10, объективы 10x/0,20, 40x/0,65. Для проведения измерений клеток исследуемых органов использовалась программа TourView.

Анализ морфометрии гистологических срезов изучаемых органов (за исключением сердца) проводился по методике Г.Г. Автандилова (1990). В срезах тканей почек определяли размеры почечного тельца, сосудистых клубочков и мочевого пространства. В микросрезах надпочечников проводили замеры толщины коркового вещества (клубочковая зона, пучковая зона, сетчатая зона) и мозгового вещества. В тканях печени проводили подсчет одно- и двуядерных клеток, их абсолютное и относительное соотношение, а также число вакуолизированных и невакуолизированных клеток. Соотношение площади клеток красной и белой пульпы селезёнки определяли под микроскопом методом наложения на микропрепарат камеры Горяева.

При определении средней живой массы всех опытных животных после эксперимента во второй опытной группе (ОГ) наблюдалось увеличение веса животных. В остальных группах животных изменения массы не происходило (таблица 28).

Таблица 28 – Измерения живой массы мыши и внутренних органов при убое, г

Параметр	Группа	$\bar{X} \pm m_x$	min	max
Общий вес	Контроль	21,96±0,61	18,50	25,00
	Опытная 1	17,83±0,83	16,00	20,00
	Опытная 2	25,78±0,67*	24,30	27,80
	Опытная 3	22,210,81*	18,90	28,00



## Продолжение таблицы 28

Параметр	Группа	$\bar{X} \pm m_x$	min	max
Сердце	Контроль	0,13±0,01	0,09	0,16
	Опытная 1	0,10±0,01*	0,08	0,11
	Опытная 2	0,14±0,01*	0,11	0,16
	Опытная 3	0,12±0,01*	0,09	0,15
Печень	Контроль	1,07±0,04	0,84	1,37
	Опытная 1	0,75±0,08*	0,56	0,96
	Опытная 2	1,19±0,02*	1,13	1,22
	Опытная 3	1,08±0,06*	0,80	1,62
Почки (вместе)	Контроль	0,27±0,01	0,20	0,35
	Опытная 1	0,22±0,02*	0,18	0,25
	Опытная 2	0,31±0,08*	0,00	0,49
	Опытная 3	0,27±0,01*	0,20	0,33

Примечание: \*P<0,05 при разнице с контрольной группой

После забоя животных изменение массы исследуемых органов носило разнонаправленный характер: в первой ОГ масса сердца, почек и печени достоверно снижалась (при P<0,05), при этом во второй ОГ наблюдалось повышение массы этих органов, в третьей ОГ эти показатели не изменялись.

При гистологическом исследовании левого желудочка сердца в контрольной группе отмечалась типичная организация миокарда с кардиомиоцитами цилиндрической формы с ясно прослеживающимися поперечными и продольными центрально расположенными овальной формы ядрами. Тонкие соединительнотканые прослойки содержали многочисленные сосуды микроциркулярного русла. Во всех наблюдаемых случаях обнаруживалась ясно выраженная поперечная и продольная иссеченность кардиомиоцитов. Признаков дистрофии клеток в виде вакуолизации, изменений структуры ядер не выявлено.

У эндотелия внутренней выстилки сердца имеются типичные утолщенные ядра, отростки нежноацидофильные ровные. В под-энтелиальном слое преобладают клетки фибробластического ряда. Мышечно-эластичный слой содержит типичное скопление пластинно-эластичных волокон, перемежающиеся с гладкими миоцитами. Соединительно-тканная основа эндокарда не изменена.

Эпикард содержит отдельные крупные артерии, вены, имеющие типичную организацию. Соединительная ткань не проявляет признаков реактивного изменения. Структура мезотелия типична (приложение К).

Во всех рассматриваемых опытных группах структура стенки левого желудочка аналогична контролю. Таким образом, экстракт личинок БВМ не вызывает морфогистологических изменений в кардиомиоцитах вне зависимости от концентрации экстракта.

При изучении гистоструктур почек в контрольной группе признаков патологии не выявлено. Отмечалось четкое разделение коркового и мозгового вещества. Общая анатомическая организация почки типична для изучаемого вида животного. Почечные тельца имеют округлую форму с узким мочевым пространством. Признаков застойных проявлений в почечных тельцах и в перетубулярной сосудистой сети не выявлено. Эндотелий сосудов утолщенной формы. Просвет капилляров ровный, ясно идентифицируются дистальные, проксимальные и тонкие канальцы почек, имеющие типичное строение. Просвет канальцев не расширен.

У животных всех опытных групп наблюдалась тенденция к расширению диаметра размеров почечных телец. Застоя в капиллярных сетях, как в капиллярных клубочках, так в перитубулярной сети при этом не наблюдалось. Отмечалась тенденция к незначительному расширению мочевого пространства, что может быть признаком усиления почечной фильтрации (таблица 29). При этом наибольшие изменения наблюдались в группе опытных животных с максимальной концентрацией экстракта БВМ (0,9%).

При этом структурная организация канальцев почек у животных всех опытных групп сохранялась близкой к контролю, что вероятно указывает на сохранение канальцевой реарсобцией при усиленной почечной фильтрации.

Таблица 29 – Морфологические показатели размеров почечных телец, мкм

Группа	$\bar{X} \pm m_x$	min	max	Cv,%
Диаметр почечного тельца, мкм				
Контроль	59,59±3,19	35	87	25
1 опытная	63,96±2,49*	36	89	19
2 опытная	66,64±2,36*	53	87	15
3 опытная	67,97±2,41*	49	90	18
Диаметр сосудистого клубочка, мкм				
Контроль	52,05±1,84	40	68	14
1 опытная	52,97±2,80*	30	89	25
2 опытная	54,39±2,45*	39	78	19
3 опытная	55,10±2,46*	40	76	21
Просвет мочевого пространства, мкм				
Контроль	4,06±0,74	0	12	79
1 опытная	4,52±0,74	2	16	51
2 опытная	4,43±0,45	1	11	49
3 опытная	4,35±0,24	2	8	35

Примечание: \*P<0,05 при разнице с контрольной группой

Структурная организация надпочечников в контроле имеет типичную дефинитивную организацию с ясно прослеживающейся слоистой организацией коркового вещества. В субкапсулярной зоне выявляются не многочисленные ядра камбиальных клеток. Клубочковая зона содержит кортикоциты удлинённой формы с овальными ядрами. Клетки имеют нежно окрашенные со слабо вакуолизированной цитоплазмой. Пучковая зона характеризуется типичными тяжами полигональной формы.

Среди крупных спонгиоцитов преобладают светлые спонгиоциты с сильно вакуолизированной цитоплазмой. Темные спонгиоциты единичные. В пучковой зоне клетки мельче, преобладают клетки с немногочисленными вакуолями в цитоплазме.

В корковом веществе просвет микрососудов равномерный, эндотелий темный, без признаков набухания ядер. Диаметр коркового вещества в контрольной группе составила 263,24 мкм (таблица 30).

Таблица 30 – Морфологические показатели надпочечников, мкм

Группа	$\bar{X} \pm m_x$	min	max	Cv,%
Клубочковая зона, мкм				
Контроль	50,78±2,45	29,95	66,07	19,28
1 опытная	57,2±2,12*	48,08	69,40	12,85
2 опытная	48,14±7,07*	9,65	72,69	66,81
3 опытная	45,25±8,30*	7,32	111,40	73,37
Пучковая зона, мкм				
Контроль	188,63±9,20	141,38	279,20	20,12
1 опытная	236,73±12,29*	136,88	280,08	17,22
2 опытная	194,41±5,65*	166,58	220,04	9,63
3 опытная	158,16±24,44*	109,00	295,20	35,42
Сетчатая зона, мкм				
Контроль	23,83±3,43	7,91	40,33	53,92
1 опытная	24,44±1,93*	14,73	35,72	27,29
2 опытная	22,12±2,17*	11,41	35,91	32,59
3 опытная	25,84±3,63*	18,61	30,08	24,3
Мозговое вещество, мкм				
Контроль	236,82±22,31	82,79	309,37	32,63

## Продолжение таблицы 30

Группа	$\bar{X} \pm m_x$	min	max	Cv,%
1 опытная	394,41±4,58*	357,92	406,16	3,67
2 опытная	140,57±15,94*	84,22	208,02	37,6
3 опытная	97,96±3,92*	90,45	103,68	6,93

Примечание: \*P<0,05 при разнице с контрольной группой

Мозговое вещество имеет типичное строение, отделяясь от корковых структур тонкой соединительнотканной прослойкой, составляющей 236,82 мкм. Также оно содержит синусоидные вены, между которыми видны округлённой и полигональной формы нораэpineфроциты, эпинефроциты. Идентификация светлых и темных клеток в опытных группах при использовании метода окраски не возможна.

Известно, что клубочковая зона коры надпочечников отвечает за выработку минеркортикоидов, которые влияют на реарсорбцию Na<sup>+</sup> и выведение K<sup>+</sup> в почках. При введении экстракта личинок *G. mellonella* во всех группах опытных животных наблюдалось уменьшение толщины клубочковой зоны коры надпочечников. Наиболее выраженное уменьшение толщины слоя наблюдалось у животных третьей опытной группы, получающих максимальную дозировку экстракта личинок *G.mellonella*.

В пучковой зоне коры надпочечников животных первой опытной группы отмечалось повышение толщины слоя на 30,47 мкм. В остальных опытных группах наблюдалось снижение толщины слоя пучковой зоны коры надпочечников. Клетки пучковой зоны синтезируют глюкокортикоиды – гормоны стресса, которые участвуют в метаболизме гликогена с образованием глюкозы и регулируют восприимчивость к воспалительным реакциям организма.

Неодинаковая степень изменения толщины слоя пучковой зоны коры надпочечников отражает различную реакцию экспериментальных животных на стрессогенное воздействие, которым является экстракт личинок БВМ. У животных первой опытной группы, которые получали минимальную дозировку (0,3%), наблюдалось

увеличение толщины пучковой зоны, которое вероятно происходило компенсаторно в ответ на действие экстракта. У животных второй и третьей опытных групп наблюдалось снижение толщины пучковой зоны (194,41 мкм и 158,16 мкм, соответственно), что может свидетельствовать об истощении компенсаторных механизмов в ответ на действие стрессогенного фактора.

Ширина сетчатой зоны коры надпочечников у опытных животных всех групп при введении экстракта достоверно увеличивалась. Известно, что сетчатая зона коры надпочечников отвечает за выработку половых гормонов. Вероятно, введение экстракта личинок БВМ приводит к компенсаторному напряжению гипоталамо – гипофизарно – половой эндокринной оси в ответ на стрессогенное воздействие экстракта. Максимальные значения ширины сетчатой зоны коры надпочечников отмечались в третьей ОГ – 25,84 мкм, при  $P < 0,05$ .

Мозговое вещество надпочечников синтезирует катехоламины (адреналин и норадреналин). В контрольной группе толщина зоны мозгового вещества составляла 236,82 мкм, после введения экстракта личинок БВМ в дозе 0,3% наблюдалось увеличение толщины зоны на 157,59 мкм (при  $P < 0,05$ ). При этом во второй опытной группе величина толщины мозгового вещества снижалась на 96,25 мкм по сравнению с контролем (при  $P < 0,05$ ), в третьей опытной группе на 138,86 мкм (при  $P < 0,05$ ).

Направленность гистологических изменений ширины мозгового вещества надпочечников совпадает с изменениями в пучковой зоне коры надпочечников при введении экстракта личинок *G. mellonella*. Эти данные еще раз указывают на стрессогенную природу влияния 40%-ого экстракта личинок БВМ, который в дозе 0,3% вызывает адаптогенный эффект, а в дозе 0,6% и 0,9% нарушает механизмы адаптации, но за счет биологически активных веществ экстракта личинок *G. mellonella*, клеточные структуры сохраняются без существенных изменений.

В контроле строение печени типично и характеризуется упорядоченным расположением печеночных трабекул, располагающихся между синусоидами. Синусоиды имеют относительно равномерный диаметр, ядра эндотелиоцитов утолщены, типичны и перисткулярные пространства узкие. Гепатоциты имеют типичную

полигональную форму с преобладанием одноядерных клеток. Клетки с проявлением кариопиктоза единичные. Достоверно показано (при  $P \leq 0,05$ ), что во второй и третьей группах экспериментальных животных имеются проявления умеренной вакуолизации, что сочетается с увеличением цитоплазмы в этих опытных группах (таблица 31).

Таблица 31 – Относительное соотношение клеток печени, %

Группа	$\bar{X} \pm m_x$	min	max	Cv,%
Одноядерные клетки, %				
Контроль	96,48±0,32	93	99	2
1 опытная	86,74±0,65*	79	94	4
2 опытная	85,49±0,69*	78	93	4
3 опытная	75,18±0,87*	67	83	6
Двухядерные клетки, %				
Контроль	3,52±0,32	1	7	49
1 опытная	13,26±0,65*	6	21	26
2 опытная	14,51±0,69*	7	22	26
3 опытная	24,82±0,87*	17	33	18
Невакуолизированные клетки, %				
Контроль	98,48±0,32	94	100	2
1 опытная	91,12±0,55*	87	100	3
2 опытная	83,05±0,68*	76	91	4
3 опытная	72,02±0,83*	64	80	6
Вакуолизированные клетки, %				
Контроль	7,52±0,41	0	6	13
1 опытная	8,88±0,56	0	13	33

## Продолжение таблицы 31

Группа	$\bar{X} \pm m_x$	min	max	Cv, %
2 опытная	16,95±0,68*	9	24	22
3 опытная	27,98±0,83*	20	36	16

Примечание: \* $P \leq 0,05$  при разнице с контрольной группой

Существенно возросло число как двуядерных клеток, так и вакуолизованных гепатоцитов во всех опытных группах, при  $P < 0,05$ . Причиной этого факта служит увеличение концентрации этилового спирта, но за счет биологически активных веществ экстракта личинок большой восковой моли признаков гипертрофии печени при всех дозах экстракта не выявлено.

При исследовании экстракта личинок *G. mellonella* в модели подострого эксперимента установлено воздействие на клеточную морфологию гепатоцитов печени в пределах нормы, с сохранением типичной структуры.

У контрольной группы животных селезенка имела типичное гистологическое строение. Четко отслеживались структуры белой и красной пульпы с преобладанием красной. Видны центры размножения, характеризующиеся первичными лимфоидными узелками. Во всех опытных группах синусы селезенки экспериментальных животных были спавшиеся. В пульпе обнаруживалось значительной число мегакариоцитов, особенно в периферических участках красной пульпы, что косвенно указывает на продолжающиеся процессы гемопоэза.

Как видно из таблицы 32, процент относительного соотношения площади белой и красной пульпы максимально увеличен во второй опытной группе (при дозировке экстракта 0,6%). Данный факт указывает на ответную реакцию увеличением иммунного ответа, в третьей опытной группе ответная реакция прослеживается менее четко.

При этом обнаруживаются единичные лимфоидные узлы, расширение маргинальной зоны белой пульпы. Во второй опытной



группе в центрах размножения наблюдаются единичные метатические активные клетки. Во всех опытных группах имеется значительное количество макрофагов.

Таблица 32 – Относительное соотношение площади красной и белой пульпы, %

Группа	$\bar{X} \pm m_x$	min	max	Cv,%
% красной пульпы				
Контроль	73,87±5,03	38	92	7
1 опытная	61,39±3,90	24	86	6
2 опытная	55,81±4,32	33	72	8
3 опытная	64,76±4,35	35	86	7
% белой пульпы				
Контроль	26,13±5,03	8	63	58
1 опытная	38,61±3,90	14	76	44
2 опытная	44,19±4,32	28	67	28
3 опытная	35,24±4,35	14	65	49

Нами доказано отсутствие токсикологического воздействия на клеточные структуры внутренних органов экспериментальных животных, определена оптимальная суточная дозировка равная 0,3% экстракта личинок БВМ, что подтверждает исследования Н.А. Спиридонова и др. (1991). Группа специалистов доказала адаптогенный и кардиозащитный эффекты экстракта большой восковой моли. По экспериментальным данным группы авторов под руководством А.К. Рачкова и др. (1997, 2000), при оценке токсичности, проведенная на лабораторных животных, показала, что острая токсичность экстракта низка по сравнению с его терапевтическими дозами, что также подтверждается нашими результатами.

### **4.3 Изучение влияния экстракта личинок *G.mellonella* на поведенческие реакции лабораторных мышей методом «Открытое поле» и «Суок-тест»**

Метод «открытое поле» позволяет относительно быстро оценить целостную физиологическую реакцию на новую обстановку, выявить динамику изменений при различных состояниях, получить многостороннюю информацию о двигательной, исследовательской и эмоциональной активности животного. Для изучения влияния экстракта личинок *G. mellonella* на поведенческую активность животных методом «Открытое поле» регистрировались следующие показатели: горизонтальная двигательная активность – количество пересеченных квадратов (КГК), и вертикальная двигательная активность – количество стоек, время реакции замирания, общее количество дефекаций и вегетативные показатели (число болюсов) [Овсебян А.А. и др., 2010].

Мыши в новом пространстве обычно испытывают противоречивые ощущения. С одной стороны они испытывают тягу к исследованию нового незнакомого пространства, и пытаются научиться ориентироваться в нем. С другой стороны они испытывают страх и дискомфорт в этом новом пространстве. Борьба этих противоположностей и определяет поведение мыши. Воздействие многокомпонентных БАВ, полученных модификацией экстракта из одного и того же биологического объекта – личинок *G.mellonella* будет изменять соотношение реакций.

Как известно, в значительной степени поведение мыши определяется лимбической системой головного мозга мыши. Чувство дискомфорта и страха, вегетативная реакция в виде болюсов формируется миндалевидным телом, входящим в состав лимбической системы, а ориентация в пространстве и запоминание формируется гиппокампом, который является тоже частью лимбической системы и анатомически соседствует с миндалевидным телом. Эти два компонента лимбической системы, конкурируя между собой, в значительной степени могут определять поведение мыши в «Открытом поле» и «Суок-тест».

Миндалевидное тело и гиппокамп имеют различия в строении и биохимии. В природе между работой миндалевидного тела и гиппокампа есть определенный антагонизм, когда страх подавляет познавательную активность и наоборот. Но воздействие БАВ водного и традиционного экстрактов будут оказывать на миндалевидное тело и гиппокамп ввиду разного их строения и биохимии различное влияние, формируя разное поведение мышей в «Открытом поле» и «Суок тест» как результат воздействия разного компонентного состава экстрактов. То есть теоретически возможны самые разные сочетания. Например, при одновременном повышении за счет экстракта и активность гиппокампа, и миндалевидного тела, теоретически поведение животных может измениться так, что это будет приводить и к повышенной дефекации и исследовательской активности одновременно. А может быть и реакция наоборот, когда мыши не будут испытывать большого дискомфорта, но и исследовательская активность их будет понижена или как-то изменена.

Значения активности животных в центре лабиринта открытого поля отличаются незначительно во всех группах (таблица 33). При этом активность на периферии лабиринта «Открытого поля» выше в контроле – 76,58 с. Эта активность заметно снижается для животных на периферии «Открытого поля», что говорит о некотором снижении исследовательской мотивации даже в области относительной безопасности животных для обоих экстрактов. При этом величина стандартного отклонения для водно-спиртового экстрагента меньше по сравнению с чисто водным экстрагентом.

Таблица 33 – Результаты исследования «Открытого поля» и «Суок-теста» на лабораторных мышах после выпаивания растворов экстракта личинок *G.mellonella*, сек

Показатель поведенческого акта	Контроль	Водный раствор экстракта <i>G.mellonella</i>	40% раствор экстракта <i>G.mellonella</i>
Тест «Открытое поле»			
Центр	22,16±4,01	20,08±4,04	22,83±3,75
Периферия	76,58±9,64	64,83±9,05	65,66±4,75
Стойки	16,66±2,92	20,08±4,04	22,83±3,75

## Продолжение таблицы 33

Показатель поведенческого акта	Контроль	Водный раствор экстракта <i>G.mellonella</i>	40% раствор экстракта <i>G.mellonella</i>
Норки	15,91±2,92	24,41±5,95	19,83±2,77
Замирание	0,41±0,14	0,91±0,33	0,33±0,12
Дефекации	3,83±0,42	2,16±0,48	1,33±0,15
«Суок-тест»			
Количество секторов	118,83±14,21	166,91±27,90	182,41±43,30
Соскальзывания	19,00±3,06	10,00±2,53	14,00±1,82*
Заглядывания вниз	35,33±3,34	84,25±8,64	46,83±6,13*
Выход из центра	15,41±4,21	8,58±2,72	46,83±2,48*

\*при  $P \leq 0,05$

Число «норковых реакций» – показатель исследовательской деятельности. Наиболее высокий при выпаивании водного раствора личинок *G.mellonella*, равный 24,41 с, что на 1,6 раз выше контрольных значений. В то время как количество стоек несколько снизилось для животных под действием водного экстракта и стало значительно меньше для животных находящихся под воздействием водно-спиртового экстракта. Особенно сильно норковая реакция проявилась для водного экстракта, что свидетельствует о снижении заинтересованности по ориентации во внешнем пространстве. То есть произошло некоторое подавление реакции гиппокампа направленной на поиск внешних ориентиров и возрастание реакции гиппокампа на поиск укрытий. По-видимому, также можно трактовать и повышением двигательной активности, как усиление поиска укрытий. При этом различие оказалось существенным как по количественным показателям, так и по качеству реакций. В частности в миндалевидном теле, вероятно в большей степени подверглось торможению реакции центральная группа ядер связанная с вегетативной реакцией мышцы на внешнее раздражение. В то время как другие группы ядер активизировались, что и привело к соответствующему изменению поведения связанному с поиском укрытий.

То же самое можно сказать и про возросшее количество замираний. Для водного экстракта произошло значительное, почти

в два раза увеличение количества замираний, что свидетельствует о возросшей величине дискомфорта, находящееся в противоречии с уменьшением количества болюсов. Очень сильно снизилось количество болюсов для животных под действием водного экстракта и еще сильнее для животных под действием водно-спиртового экстракта. Что демонстрирует подавление вегетативной реакции на страх, то есть снижения активности соответствующих разделов миндалевидного тела. Величина дисперсии для водного экстракта в норковой реакции в два выше по сравнению с водно-спиртовым экстрактом, что указывает наличие разнонаправленных действующих факторов (ингредиентов водного экстракта) по сравнению с водно-спиртовым экстрактом.

Количество актов дефекации (показатель тревожности, эмоциональная реактивность) минимально во второй опытной группе, что на 2,5 сек. ниже контрольных значений (рисунок 21).

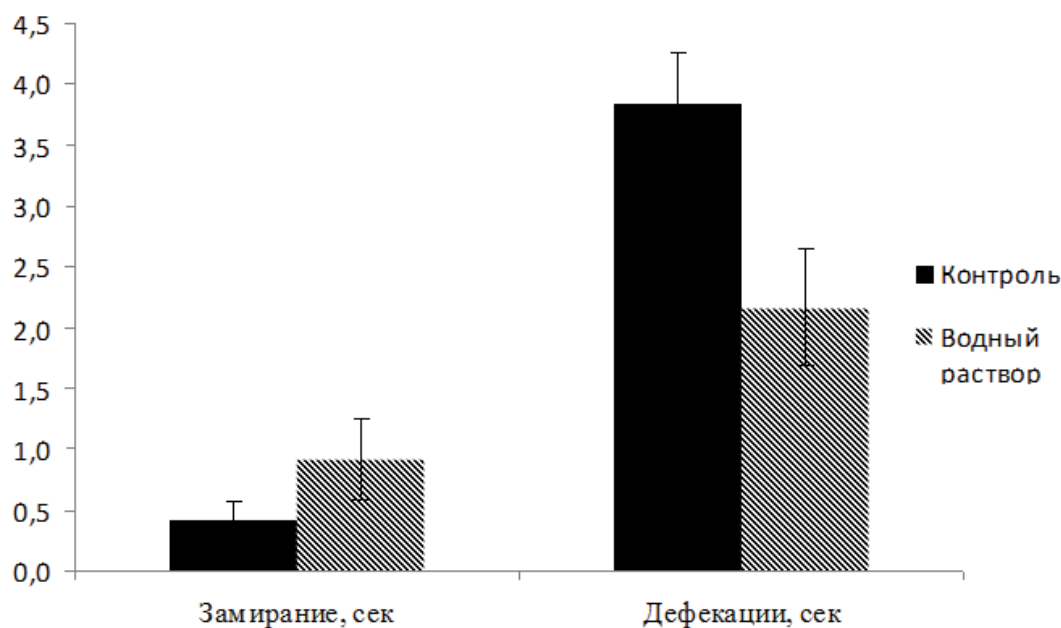


Рисунок 21 – Динамика показателей поведенческих актов мышей, применяющие водный раствор экстракта личинок *G. mellonella*, сек

Этот показатель, формально относящийся к репертуару гигиенического поведения, нередко рассматривают как индикатор уровня конфликта в поведении между мотивациями страха и исследова-

ния среды. Можно предположить, что с точки зрения этой реакции контрольная группа обладает большей тревожностью, в сравнении с опытными группами.

Заглядывания вниз – показатель исследовательской активности выше в первой опытной группе, чем в контроле (рисунок 22).

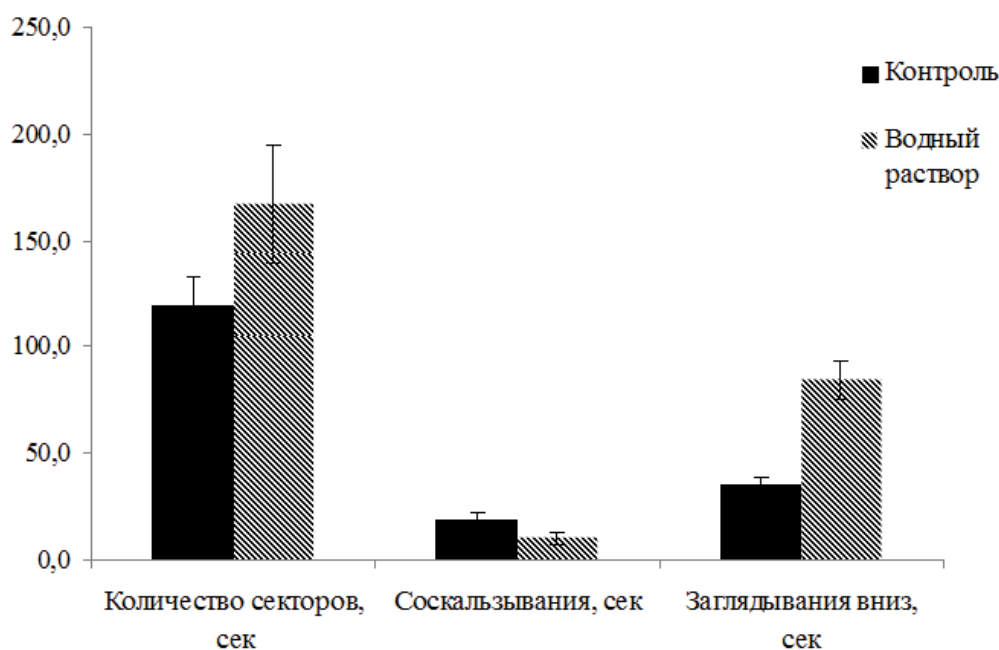


Рисунок 22 – Динамика поведенческих актов мышей, применяющие водный раствор экстракта личинок *G. mellonella*, сек

Существенно возросла двигательная активность, связанная с исследованием секторов по сравнению с контрольной группой. Для водно-спиртового экстракта она оказалась самой высокой. Это тоже характеристика исследовательской реакции. В то же время для водного экстракта резко сократилось время пребывания животного в центре, в то время как для водно-спиртового экстракта увеличилось.

Экстракты, обладая многокомпонентным составом, оказывают сложное и противоречивое действие. Они могут усиливать или ослаблять разные аспекты действия, как миндалевидного тела, так и гиппокампа, влияя на ориентацию в пространстве и эмоциональную мотивировку этой ориентации. При этом могут быть одновременно, как ослаблены, так и усилены отдельные проявления

действия миндалевидного тела и точно также могут быть ослаблены, так и усилены отдельные проявления действия гиппокампа, направленные на ориентирование в пространстве и запоминание особенностей этого пространства.

Таким образом, водный и спиртовой экстракты личинок *G.mellonella*, в разной степени оказывают стрессопротекторное действие на уровне вегетативного проявления, могут при этом усиливать чувство дискомфорта и фобий, которое далее трансформируется в поведенческую реакцию поиска выхода из создавшегося положения.

Исследования в области изучения адаптогенных свойств экстракта личинок большой восковой моли позволяют в перспективе его использовать в животноводстве как функциональный продукт, повышая уровень стрессоустойчивости животных на воздействие внешних факторов, тем самым повышая уровень продуктивности.

## ГЛАВА 5 РАСЧЕТ ЭКОНОМИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОВЕДЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

При подборе питательной среды важную роль играет ее стоимость в расчете на 1 кг. Экономическим вопросом сравнительной оценки питательных сред занимались исследователи из Египта [Metwally H.M.S. et al., 2012], Индии [Kulkarni N. et al., 2012]. Нами проведена экономическая оценка ингредиентов питательных сред, используемых в наших испытаниях, представленная в таблице 34.

Таблица 34 – Стоимость ингредиентов искусственных питательных сред, руб.

Ингредиент питательной среды	Себестоимость (цена 2019 г.), руб./кг
Мука пшеничная	40,0
Мука кукурузная	97,0
Сухое молоко	445,0
Дрожжи сухие	100,0
Воск пчелиный	300,0
Мед	500,0
Глицерин	75,0
Вода	14,5
Сахар	40,0
Пшеничные отруби	70,0
Цельнозерновая мука	80,0
Смесь зерновых	10,0
Крахмал	47,0
Толокно	111,0
Масло подсолнечное	121,0



Оценив стоимость ингредиентов, где самым дорогим ингредиентом является пчелиный мед (500 руб./кг) и сухое молоко (445 руб./кг), проведена экономическая оценка естественных и искусственных питательных сред (таблица 35).

Кормление личинок большой восковой моли в соответствии с рекомендациями, при соблюдении остальной технологии содержания, способствует получению качественных здоровых насекомых, а также стабильному увеличению биомассы.

Таблица 35 – Экономическая оценка питательных сред на 2019 г

Питательная среда	Себестоимость, руб. /кг
Старые пчелиные соты	200,0
Пасечные вытопки + мед	55,0
по рецептам:	
A. Balazs, 1958	204,7
J.F. Bronskill, 1961	134,6
S.D. Beck, 1960	161,7
N. Marston, 1975	63,6
G.R. Stairs, 1965	117,0
R.L. Pipa, 1963	154,0
М.Н. Haydak, 1936	230,0
Ю.И. Кузнецовой, 1981	133,5
Т.В. Коноваловой, 2009	98,5
В.Я. Исмаилова и др.№1, 2003	92,8
В.Я. Исмаилова и др.№2, 2003	103,5
Е.М. Шагова и др., 1986	92,9
Я.И. Жакаускене и др., 1986	238,8

Благодаря использованию ИПС, можно, в зависимости от потребностей, получить большее количество личинок, довести их до максимального привеса, нарастить максимальную биомассу, сэкономить средства или получить наиболее качественное здоровое поколение для дальнейшего разведения.

Для научно-производственных и прочих целей одними из самых доступных и выгодных остаются рецепты искусственных питательных сред по рекомендациям N. Marston, Е.М. Шагова и др., В.Я. Исмаилова, рецепт №2.

Как видим, широкий выбор естественных и искусственных питательных сред позволяет варьировать методику кормления в зависимости от целей выращивания и доступных ресурсов.

Для определения эффективности потребления 1 кг личинками большой восковой моли произведен расчет выхода биомассы на 1 кг корма, а также расчет цены полученного биологического материала (таблица 36).

Таблица 36 – Расчет цены за 1 кг личинок большой восковой моли

Питательная среда	Биомасса личинок на 1 кг корма, г/кг	Цена за 1 кг личинок, кг/руб.
Старые пчелиные соты	124,23	1610,0
ЕПС	59,75	920,50
ЕПС + цветки липы	93,88	842,44
ЕПС + листья березы	87,70	901,79
ЕПС + трава пустырника	58,05	1 362,49
ЕПС + цветки ромашки	62,31	1 269,26
ЕПС + листья смородины	81,84	775,90
ЕПС + трава сельдерея	43,30	1 826,62
ЕПС + мед + листья мяты	81,57	969,61
ЕПС + слоевица ламинарии	47,15	1 677,61

## Продолжение таблицы 36

Питательная среда	Биомасса личинок на 1 кг корма, г/кг	Цена за 1 кг личинок, кг/руб.
ПО РЕЦЕПТАМ		
M. Haydak (1936)	31,22	7367,07
A. Balazs (1958)	99,34	2060,6
S.D. Beck (1960)	86,40	1871,53
R.L. Pipa (1963)	8,89	17322,83
N. Marston (1975)	98,88	643,21
G.R. Stairs (1978)	64,83	1804,72
Контроль ИПС	101,74	1312,17
Т.В. Коновалова (2009)	90,21	1092,00
В.Я. Исмаилов, Ж.А. Ширинян, О.И. Квасенков (1)	94,37	983,37
В.Я. Исмаилов, Ж.А. Ширинян, О.И. Квасенков (2)	74,07	1397,33
Е.М. Шагов и др. (1986)	126,84	2096,77
Я.И. Жакаускене, Ю.М. Ширвинскас (1986)	50,43	4735,28
ИПС + листья смородины	43,14	3291,70
ИПС + слоевища ламинарии	83,72	2018,63
ИПС + цветки липы	97,47	1508,16
ИПС + трава пустырника	153,15	901,08
ИПС + листья березы	101,03	1370,88
ИПС + листья сельдерея	108,79	1254,71

Таблица 35 демонстрирует, что вариация среднего значения цены за 1 кг биологического сырья колеблется в пределах 2367 руб./кг личинок *G. mellonella*. Отметим, что цены за 1 кг личинок за 2016 г. были примерно в 2 раза ниже цен 2019 г.

На состояние 2019 г. минимальные значения цены за 1 кг личинок от 842,44 руб., выращенных на ЕПС с добавлением цветков липы. Максимальная цена за 1 кг личинок составляет 17322,83 руб., по рецепту R.L. Pira (1963) за счет большого количества пчелиного меда и смеси зерновых.

Расчет экономической эффективности использования личинок и куколок БВМ в качестве биологической добавки в основной рацион японских перепелов производили на условное поголовье (1000 голов) с учетом расходов на корм, добавку в виде *G. mellonella*, выращивание на 10 яиц.

В таблице 37 показана эффективность применения личинок и куколок большой восковой моли при кормлении японских перепелов. Расчет производили с учетом затрат на содержание и выращивание, стоимости корма и кормовой добавки. В контрольной группе птиц кормили основным рационом без добавления *G. mellonella*. В первой группе перепелов к основному корму добавляли личинок, во второй опытной группе – куколок.

Показатель сохранности поголовья за период проведения опыта во всех группах составил 100 %.

Таблица 37 – Эффективность производства перепелиного яйца в расчёте на условное поголовье (1000 гол.)

Показатель	В среднем в расчёте на условное поголовье		
	Контрольная группа	1 опытная группа	2 опытная группа
Поголовье, гол.	1000	1000	1000
Валовый сбор яиц, шт.	50000	54094	54344
Затраты кормов, руб./кг	1500	1500	1500
Затраты всего, руб.	81562,5	86392,26	86602,5
на выращивание птицы, руб.	27187,5	27187,5	27187,5

Продолжение таблицы 37

Показатель	В среднем в расчёте на условное поголовье		
	Контрольная группа	1 опытная группа	2 опытная группа
на содержание птицы, руб.	10875	10875	10875
на основной рацион, руб.	43500	43500	43500
на кормовую добавку, руб.	0	4829,76	5040
Себестоимость 10 шт. яиц, руб.	16,31	15,97	15,94
Цена реализации 10 шт. яиц, руб.	40	40	40
Выручка, руб.	200000	216376	217376
Прибыль, руб.	118437,5	129983,7	130773,5
Рентабельность, %	145,21	150,45	151,00

Цена основного рациона составила 29 руб./кг, цена 1 кг личинок БВМ составила 402,48 руб., куколок 415 руб./ 1 кг, что на 12,52 руб. дороже личинок, что связано с увеличением срока выращивания до стадии куколки. Затраты основного корма на одну птицу составили 25 г в день, что равнозначно во всех испытываемых группах.

Анализ экономической эффективности производства перепелиного яйца показал, что по причине высокой стоимости куколок *G.mellonella* (415 руб./кг), затрат второй опытной группы на 5040 руб. больше, чем в контроле.

Разница себестоимости яиц японского перепела 1 и 2 опытных групп отличается всего на 3 коп. Данное различие объясняется повышенной яйценоскостью в первой опытной группе и высокой массой яйца во второй опытной группе. За счет этого показателя выручка от продажи перепелиных яиц второй опытной группы будет больше на 1000 руб., чем от первой опытной группы, что соответственно отразится на показателе прибыли.

Прибыли при добавлении куколок в основной рацион птицы на 789,8 руб. больше, чем при кормлении личинками БВМ, рентабельность производства отражает общую картину экономической эффективности в пользу применения куколок большой восковой моли.

Таким образом, расчет экономической эффективности показал, что в качестве активной кормовой добавки к основному корму японским перепелам лучше давать куколок *G.mellonella*.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Лекарственные травы в составе искусственных питательных сред значительно влияют на биологические параметры *G. mellonella*, в сравнении с естественными питательными средами. Наиболее сильное влияние на рост и развитие личинок оказала трава пустырника, повышая массу личинок (171,17 мг) и выживаемость – 90%. Срок развития 23,67 суток, а также средняя масса куколок также имеет высокий показатель ( $167,26 \pm 7,08$  мг, при  $P < 0,05$ ). Из искусственных питательных сред значительное влияние на развитие личинок оказывает рецепт, рекомендованный Е.В. Шаговым и др. (1986).

Используемые ингредиенты естественных и искусственных питательных сред: пчелиный воск, мед, пасечные вытопки соответствуют ГОСТам.

Установлено положительное влияние содержания сырого протеина в питательных средах на содержание сырого протеина в личинках составляющая 0,64.

Конструкция «Молярый», разработанная нами предназначена для содержания и разведения большой восковой моли с учетом ее биологических особенностей, увеличивает производительность и удешевление данной конструкции, а также представляет большие возможности для научно-производственных экспериментов.

Подкормка куколками *Galleria mellonella* оказывает значительное влияние на биологическое состояние и продуктивность японских перепелов. Доказано увеличение яйценоскости на 9,8% и массы яйца на 3,9%, живой массы птицы на 11,2 г, что позволяет применять ее как перспективную биологическую добавку сельскохозяйственным птицам.

При выпаивании 40% экстракта личинок *G. mellonella* различной концентрации выявлено отсутствие токсического воздействия и сохранность клеточных структур внутренних органов экспериментальных животных, наиболее выражен адаптогенный эффект при дозе 0,3%.

Установлено, при оценке экономической эффективности выхода биомассы личинок выявлено, что максимальная масса личинок, выращенных на искусственной питательной среде с добавлением травы пустырника, составила 153,15 г на 1 кг корма. Минимальная себестоимость за 1 кг личинок, выращенных на питательной среде по рецепту Е.М. Шагова, Г.И. Улановой, Е.М. Асланян (1986), составила 265,95 руб./кг.

Применение личинок *G. mellonella* в качестве кормовой добавки в основной корм японских перепелов повышает рентабельность производства перепелиных яиц на 5,24%, использование куколок увеличивает рентабельность на 5,79% .



## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БВМ – большая восковая моль

*G. mellonella* – *Galleria mellonella*

ЕПС – естественная питательная среда

ИПС – искусственная питательная среда

ОСП – относительная скорость потребления

ОГ – опытная группа

КГ – контрольная группа

ФАО – продовольственная и сельскохозяйственная организация

ООН

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ГОСТ – государственный стандарт

о.в. – относительная влажность

## СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамчук, А.В. Особенности развития трутней в пчелиных семьях *APIS MELLIFERA L.* На территории Краснодарского края : автореф.... канд. сельскохозяйственных наук : 06.02.10 / А. В. Абрамчук. – Дивово, 2012. – 24 с.
2. Автандилов, Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 334 с.
3. Акимушкин, И.И. Мир животных. Насекомые. Пауки. Домашние животные / И.И. Акимушкин. – М.: Мысль, 1993. — Т. 3. – 462 с.
4. Алексеенко, Ф.М. Виробчина энциклопедия джільництва / Ф.М. Алексеенко, И.А. Бабич, Л.И. Мегедь, Л.И. Дмитриенко, В.А. Нестереводський, Я.М. Савченко. – Киев, Урожай, 1966. – С.100–101.
5. Алексеенко, Ф.М. Справочник по болезням и вредителям пчёл / Ф.М. Алексеенко, В.А. Ревенок, М.А. Чепурко – Киев: Урожай, 1991. – С. 194–195.
6. Андросенко, О.С. Математические методы планирования эксперимента в исследовании процесса термообработки металла / О.С. Андросенко, Е.П. Маяченко // Приложение математики в экономических и технических исследованиях. – 2014. – №4. – С. 219–225.
7. Баканева, В.Ф. Биологически активные вещества из личинок *Galleria mellonella* и продуктов жизнедеятельности пчёл как потенциальные кардиопротекторы и адаптогены при действии гиподинамических и стрессорных факторов на организм экспериментальных животных и человека : дис. ... канд. биол. наук: 14.00.51 / Валентина Федоровна Баканева. – Москва, 2002. – 76 с.
8. Бертран, Э. Уход за пасекою. Календарь пчеловода / Э. Бертран. – Петроград, 1914. – С. 37.
9. Бессарабов, Б.Ф. Инкубация яиц с использованием сельскохозяйственной птицы / Б.Ф. Бессарабов, И.И. Мельникова. – Справочник. МГАВМиБ им. К.И. Скрябина, 2001. – 87 с.

10. Биологически активная кормовая добавка: пат. № RU 2402918 Рос. Федерация: МПК А23К1/00 / Сороколетов О. Н., Богатов А.В., Реймер В.А., Алексеева З.Н., Тарабанова Е.В., Литвина Л. А., Жучаев К. В.; заявитель и патентообладатель: Федеральное гос. Образовательное учреждение ВПО Новосибирский гос. Аграрный университет: публикация патента. – № 2009116084/13; заявл. 27.04.2009; опубл.: 10.11.2010, Бюл. № 31 – 5 с.
11. Бондарева, О.Б. Настольная книга пчеловода. – М.: АСТ Донецк, 2007. – С. 305–307.
12. Буренин, Н.Л. Справочник по пчеловодству / Н.Л. Буренин, Г.Н. Котова. – М.: Колос, 1984. – 309 с.
13. Буткевич, А.С. Самоучитель пчеловодства / А.С. Буткевич. – Л., Мысль, 1926. – С. 326–328.
14. Вендило, Н.В. Выделение и идентификация компонентов феромона вощиной моли *Galleria mellonella* / Н.В Вендило, В.А. Плетнев, В.Л. Пономарев, В.В. Воронкова, [и др.] // Агрохимия. – 1993.– №7. – С. 86–90.
15. Ганджалова, А.А. Математический метод планирования эксперимента рН пищевых отходов на возможность их биоконверсии с помощью вермикультуры / А.А.Ганджалова, А. Голубь, В.Е. Костин, Н.А. Соколова // Успехи современного естествознания. – 2012. – №4. – С.45–46.
16. Глухова, А. И. Функциональные продуктов питания – новое направление пищевых технологий / А. И. Глухова, Е. В. Шичкина // Материалы IV Международной студенческой электронной научной конференции «Студенческий научный форум – 2012». – М.: Российская Академия Естествознания, 2012 .
17. ГОСТ Р53407-2009. Сырье восковое. Техническое условие.; введ. 2009-12-07. – М.: СтандартИнформ, 2009. – 16 с.
18. ГОСТ 21108-75 Энтобактерин сухой. Технические условия – не действующий с 1.08.1990.
19. ГОСТ Р 56644-2011. Мёд натуральный. Технические условия. : введ. 2009-11-13. № 793-ст. – М. СтандартИнформ, 2012. – 16 с.

20. ГОСТ Р 21179-2000. Воск пчелиный. Технические условия. – Взамен ГОСТ 21179-90. – введ. 2002-01-01. – М.: ГостСтандарт Информ, 2002. – 18 с.

21. ГОСТ 13496.15-97. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания сырого жира. Взамен ГОСТ 13496.15-85. – введ. 1999-01-01. – М.: ГостСтандарт Информ, 2011. – 12 с.

22. ГОСТ 13496.4-93. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания азота и сырого протеина. – Взамен ГОСТ 13496.4-84. – введ. 1993-10-21 – М.: ГостСтандарт Информ, 2011. – 18 с.

23. ГОСТ 27548 - 97. Корма растительные. Методы определения содержания влаги. Взамен ГОСТ 27548-87. – введ.: 1997-10-21. – Минск: Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 2011. – 8 с.

24. ГОСТ 26226-95. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения сырой золы. Взамен ГОСТ 26226-84. – введ.: 1995-10-12. – Минск: Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 1996. – 8 с.

25. ГОСТ 26423-85. Методы определения удельной электрической проводимости, рН и плотного остатка водной вытяжки. Введ. 1985-02-08.– М. СтандартИнформ, 1985. – 8 с.

26. ГОСТ 18164-72. Вода питьевая. Метод определения сухого остатка. Введ: 1972-09-09, переиз.2003-09. – М.: ИПК Издательство Стандартов. – 4 с.

27. ГОСТ Р-50258-92. Комбикорма полнорационные для лабораторных животных. Введ: 1992-09-09. – М.: Госстандарт России – 8 с.

28. Гробов, О.Ф. Болезни и вредители пчёл / О.Ф. Гробов, А.К. Лихотин. – М.: Агропромиздат, 1989. – С. 220-227.

29. Гробов, О.Ф. Болезни и вредители медоносных пчёл / О.Ф. Гробов, А.М. Смирнов, Е.Т. Попов. – М.: Агропромиздат, 1987. – С. 235-241.

30. Гудилин, И.И. Технология переработки органических отходов животноводства биологическим способом на кормовой белок

и удобрения. Методические рекомендации / И.И. Гудилин. – Новосибирск, Новосиб. с.-х. ин-т, проблемы лабораторной переработки органических отходов животноводства биол. способом. – 1984. – 19 с.

31. Гудилин, И.И. Биотехнология переработки органических отходов и экология / И. И. Гудилин, А.Ф. Кондратов [и др.] – Новосибирск: Кн. Изд-во, 1999. – 391 с.

32. Гуцин А.В. Приспособление для содержания и разведения большой восковой моли (*Galleria mellonella* L.) / А.В.Гуцин, Л.М. Колбина, А.С. Осокина // Биомика, 2016. Т. 8, № 2. С. 84-87.

33. Денисова, С.И. Экспериментальный анализ развития дендрофильных чешуекрылых в Беларуси: монография / Министерство образования Республики Беларусь, Учреждение образования «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова». – Витебск: ВГУ им. П.М. Машерова, 2008. – 291 с.

34. Дубовский, И.М. Антиоксидантная система кишечника личинок *Galleria mellonella* L. При бактериозе и воздействии вторичных метаболитов растений: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.09 / Иван Михайлович Дубовский. – Новосибирск, 2004. – 20 с.

35. Епифанова, А. В. Определение оптимальной мазевой композиции с продуктами пчеловодства с помощью метода математического планирования / А. В. Епифанова, Ю. В. Шикова, В. А. Лиходед, Е. В. Симонян, В. В. Петрова // Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2013. – № 2. – С. 181-185.

36. Жакаускене, Я.И. Питательная среда для разведения большой восковой огневки / Я.И. Жакаускене, Ю.М. Ширвинскас // Первое всесоюзное совещание по проблемам зоокультуры. Тезисы докладов. – Москва. – Часть третья. – 1986. – С. 150-152.

37. Жерносекова, И.В. Методы оптимизации экспериментов при оптимизации питательной среды для стрептомицета / И.В. Жерносекова, И.В. Черногор, А.А. Тымчук, А.И. Винников // Вісн. Дніпропетров. ун. – Біологія. Екологія. – 2010. – Вип. 18, Т. 1. – С. 20-28.

38. Журавлева, Г.Г. О влиянии суммарного препарата флавоноидов липы на процессы регенерации. // Г.Г. Журавлева, В.Н. Отмахов, И.П. Зелди // Научн. конф. «Фармакологическая регуляция регенераторных процессов». – Йошкар-Ола, 1979. – С. 317–319.
39. Забоенко, А.С. Всё о пчеловодстве / А.С. Забоенко. – Донецк: 11 КФ «БАО», 1999. – С. 216-224.
40. Загуляев, А.К. Моли и огневки вредители зерна и продовольственных запасов / А.К. Загуляев. – Москва – Ленинград, Изд-во «Наука», 1965. – 268 с.
41. Злотин, А.З. Техническая энтомология. Справочное пособие. – Киев: Изд-во Наукова думка, 1989. – 183 с.
42. Искусственный корм для большой вошинной пчелиной огневки: пат. СССР № 3662964/30-15 МПК: А01К67 / Шагов Е.М., Уланова Г.И., Асланян Е.М.; заявитель и патентообладатель: Всесоюзный научно-исследовательский институт прикладной микробиологии. – № 3662964/30-15; заявл.: 11.11.83 опубл.: 23.05.1986, Бюл. №. 19 – 3 с.
43. Использование лабораторных животных в токсикологическом эксперименте. (Методические рекомендации) / Под редакцией П.И.Сидорова. – Архангельск. – 2002. – 15 с.
44. Карасевич, Н.Л. Болезни, враги пчелы и медоносные растения. – Санкт-Петербург, 1867. – С. 119–120.
45. Карнеев, Ф.Д. Дары восковой моли / Ф.Д. Карнеев // Пчеловодство. – 1999. – № 4. – С. 55–56.
46. Кароматов И.Д. Ламинария, морская капуста / И.Д. Кароматов, Н.Г. Ашурова, М.К. Угли Амонов // Электронный научный журнал «Биология и интегративная медицина» 2017 №2 (февраль). – С. 194–213.
47. Киреевский, И.Р. Болезни пчёл / И.Р. Киреевский. – М.: АСТ; Донецк: Сталкер, 2006. – С. 173–182.
48. Ключко, Р.Т. Большая восковая моль / Р.Т. Ключко, С.Н. Луганский, А.А. Котова // Пчеловодство. – 2012. – №2. – С. 24–26.
49. Кована, Т. Практическое пчеловодство / Т. Кована. – Санкт-Петербург, паровая скоропечатная п.о. Яблонского, 1898. – С. 161–162.

50. Кокарев, Н. Избранные практические советы. Пчёлы. Вредители и болезни / Н. Кокарев, Б. Чернов – М.: ТИД Континент – Пресс, 2005. – С. 280–289.

51. Колосова, С.Ф. Новые перспективы создания биологически активных добавок с использованием личинок восковой моли / С.Ф. Колосова, А.О. Пименова, И.В. Кашкарова // V Международная научно-практическая конференция. Состояние и перспективы развития пищевой промышленности и общественного питания. – Челябинск. – 2011. – С. 157–160.

52. Кондрашова, М.Н. Создание антиоксидантного и иммуностимулирующего препарата из личинок восковой моли, обладающего лечебным и профилактическим действием при тяжелых бронхолегочных заболеваниях, а также профилактическим действием при простудных заболеваниях и гриппе / М.Н. Кондрашова, Е.Г. Литвинова, А.А. Овсепян, Э.К. Мубаракшина [и др.] // Фундаментальные науки – медицине. Материалы конференции. 14-16 декабря – М.: Фирма «Слово» 2005. – С. 33–35.

53. Коновалова, Т.В. Лабораторное содержание и разведение большой восковой огневки *Galleria mellonella* L. / Т.В. Коновалова // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – 2009. – №4. – С. 46–48.

54. Коновалова, Т.В. Современные средства и методы обеспечения ветеринарного благополучия по инфекционной и протозойной патологии животных, рыб и пчел. Методические рекомендации по лабораторному содержанию и разведению большой восковой огневки *Galleria mellonella* L. // Т.В. Коновалова. – М., 2011. – С. 156–178.

55. Коптев, В.С. Содержание и разведение пчёл в Сибири / В.С. Коптев – Новосибирск: Зап-Сиб. Изд-во, 1979. – С. 102–103.

56. Кораблев, И.И. Пчеловодство / И.И. Кораблев. – М.: Гос. Изд-во колхозной и совхозной литературы, 1934. – С. 307–310.

57. Костина, Д.А. Влияние биологически активных пептидных компонентов гемолимфы личинок *Galleria mellonella* на рост и ферментативную активность *Escherichia Coli* / Д.А. Костина,

О.С. Федоткина, Н.А. Кленова, П.П. Пурыгин [и др.] // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2013. – Т. 15, № (1). – С. 567–574.

58. Котова, Г.Н. Пчелы. Пасека. Мёд. / Г.Н. Котова, Б.Л. Воробьев. – М.: Изд. Дом МСП, 2005. – С. 68.

59. Кузнецова, Ю.И. Цели и методы выращивания вошинной моли / И.Ю. Кузнецова // Массовое разведение насекомых. – Кишинев, 1981. – С. 26–30.

60. Лакин, Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.

61. Литвинова, Е.Г. Уникальные грани и лечебные свойства восковой моли / Е.Г. Литвинова // Инновации Подмосковья. Научно-практический и информационный журнал Московской области. – 2010. – № 2 (12), июнь. – С. 8–14.

62. Лудянский, Э.А. Апитерапия / Э.А. Лудянский. – Вологда, Полифэст, 1994. – 456 с.

63. Лысенко, Ю. Кормовые добавки в рационе перепелов / Ю. Лысенко, А. Петенко // Птицеводство. – 2012. – №9. – С. 16–18.

64. Максимов, П.П. Пчеловодство. – Изд-во: Госуд. учебно-педагогический, изд-во Министерства просвещения РСФСР. – М., 1962. – С. 172–173.

65. Максименко, Л.А. Оптимизация экспериментальных исследований на основе методики математического планирования / Л.А. Максименко // Интерэкспо гео-Сибирь. – 2010. – Т. 3, №1. – С. 42–45.

66. Мамаев, Б.М. Определитель насекомых Европейской части СССР Т IV. Чешуекрылые. Третья часть / Б.М. Мамаев, Л.Н. Медведев, Ф.Н. Правдин. – М.: Просвещение, 1976. – 304 с.

67. Мегедь, А.Г. Пчеловодство / А.Г. Мегедь, В.П. Полищук. – К.: Выща шк. Головное изд-во, 1990. – С. 292–293.

68. Меркурьева, Е.К. Биометрия в селекции и генетике сельскохозяйственных животных. / Е.К. Меркурьева. – М.: Колос, 1970. – 424 с.



69. Метальников, С.И. Экспериментальные исследования над пчелиной молью (*Galleria mellonella*) / С.И. Метальников. – СПб: Типография имп. Академии Наук, 1907. – 118 с.
70. Методика проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы. Молекулярно-генетические методы определения микрофлоры кишечника: [рекомендации]. – Сергиев Посад, 2013. – 51 с.
71. Микроскопическая техника. Руководство для врачей и лаборантов. / Под ред. Д. С. Саркисов, Ю.Л. Перов – М.: Медицина, 1996. – 544 с.
72. Минаева, В.Г. Лекарственные растения Сибири / В.Г. Минаева. – Новосибирск: Наука. Сиб. Отделение, 1991. – 431 с.
73. Миронюк, С.М. Заготовка продуктов пчеловодства / С.М. Миронюк. – М.: Центросоюз, 1957. – 188 с.
74. Молярый / Гуцин А.В., Колбина Л.М., Осокина А.С.; Патент № 164529. заявл. 26.10.2015. Оpubл. 16.08.2016.
75. Мухортов, С.А. «Мелонелла» - экстракт большой восковой моли. Применение в современной медицине: учеб-метод. Пособие / С.А. Мухортов, Г.В. Якубко, А.Г. Сметанин. – Барнаул, 2003. – 28 с.
76. Нефедов, В.И. Рентгеноэлектронная спектроскопия химических соединений. М.: Химия, 1984. 256 с.
77. Овсепян А.А., Венедиктова Н.И., Захарченко М.В. и др. Антиоксидантное и иммунопротекторное действие экстракта личинок восковой моли при окислительном процесс у крыс, вызванном потреблением корма, обогащенного железом / Вестник новых медицинских технологий (электронное издание). – 2010. – №1.
78. Огурцов, А.Ф. Болезни и лечение пчел. Диагностика и профилактика болезней. Борьба с вредителями и хищниками пчел / А.Ф. Огурцов. – М.: ООО Аквариум-Принт, 2005. – С. 99-101.
79. Определение оптимальной мазевой композиции с продуктами пчеловодства с помощью метода математического планирования –А.В. Епифанова, Ю.В. Шикова, В.А. Лихоед, Е.В. Симонян, В.В. Петрова // Вестник ВГУ: Химия. Биология. Фармация. – 2013. – №2. – С.181-185.

80. Осокина, А.С. Влияние спиртового экстракта большой восковой моли (*Galleria mellonella*) на внутренние органы мышей / А.С. Осокина, Е.А. Михеева, Т.В. Бабинцева // Вестник НГАУ, 2018. – № 2(47). – С. 91–100.

81. Останина, Е.С. Технология переработки восковой моли, изучение противотуберкулёзных свойств хитозана и взаимодействия с липолитическими ферментами : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.23 / Екатерина Сергеевна Останина. – Щёлково, 2007. – 26 с.

82. Пельменев, В.К. Справочная книга пчеловода / В.К. Пельменев. – Хабаровск: Кн. Изд-во, 1969. – С. 226–228.

83. Перехвальская, Т.В. Ионная и осмотическая регуляция у гусениц пчелиной огневки *Galleria mellonella* (Lepidoptera, Galleriidae) / Т.В. Перехвальская, Я.Д. Финкинштейн, Е.Б. Ивашевская // Зоологический журнал. – 1977. – том. LVI, вып. 9. – С. 1315–1319.

84. Писковой, Ф.Р. Болезни пчел (профилактика и лечение). – М.: Россельхозиздат, 1973. – С. 60–62.

85. Плохинский, Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников / Н.А. Плохинский. – М.: Колос, 1969. – 256 с.

86. Полищук, В.П. Восковая моль в улье и в кабинете апитерапевта / В.П. Полищук, О.В. Корбут, А.А. Пащенко, Г.Л. Бондарчук [и др.] – Киев, 2012. – 47 с.

87. Полуденный, Л.В. Эфирномаслинные и лекарственные растения / Л.В. Полуденный, В.Ф. Сотник, Е.Е. Хлапцев. – М.: Колос, 1979. – 286 с.

88. Поль, Ф. Болезни пчёл. Диагностика и лечение / Ф. Поль. – М.: ООО АСТ, Астрель, 2004. – С. 159–166.

89. Пурыгин, П.П. Выделение антибактериальных компонентов из гемолимфы личинок *Galleria mellonella* / П.П. Пурыгин, О.С. Срибная, Н.А. Кленова, Д.Н. Худякова [и др.] // Вестник СамГУ. – 2007. – №9/1 (59). – С. 270–285.

90. Раскрываем секреты, чем полезен сельдерей и его свойства [Электронный ресурс] / <http://www.inmoment.ru/beauty/health-body/useful-properties-products-s2/> (дата обращения: 12.06.2019).

91. Рачков, А.К. Перспективное сердечно-сосудистое средство на основе спиртового экстракта личинок большой восковой моли / А.К. Рачков, М.А. Рачкова, А.И. Цыганкова // Сборник конференций: Переработка биологически активных продуктов пчеловодства и их использование. Всероссийская научно-практическая конференция Москва, 25–27 июня. – М.: 1997. – С.53.
92. Рачков, А.К. Новая жизнь старого лекарства / А.К. Рачков, М.Н. Кондрашова, Н.А. Спиридонов // Пчеловодство. – 2000. – №5. – С. 58–59.
93. Рачков, А.К. Апитерапия. Пособие для врачей / А.К. Рачков, М.А. Рачкова. – Рязань, 2003. – С. 250.
94. Реуцкий, И.А. Лечение медом и другими продуктами пчеловодства. Рекомендации для врачей и пациентов / И.А. Реуцкий. – М.: ЭКСМО, 2007. – 448 с.
95. Руководство по лабораторным мышам и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях / Под редакцией Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. – М., 2010. – 344 с.
96. Рут, А.И. Энциклопедия пчеловодства / А.И. Рут, Э.Р. Рут, Х.Х. Рут – М.: Худож. Лит. И МП «Брат», 1993. – 368 с.
97. Рыкунова, И.П. Оптимизация состава раствора кальция глюконата методом математического планирования эксперимента / И.П. Рыкунова, Е.Н. Вергейчик // Вестн. Воронеж. гос. ун. – Сер. Химия. Биология. Фармация. – 2006. – №2. – С.83–85.
98. Севастьянов, Б.Г. Технология круглогодичного вывода личинок восковой моли / Севастьянов Б.Г. // Сборник 10. Материалы международной и практической конференции по апитерапии. Апитерапия сегодня. – Рязань. – 2002. – С. 241–245.
99. Селиванова, Н.М. Отличительные признаки полов у бабочек большой восковой моли / Н.М. Селиванова, А.Е. Блинушов // Пчеловодство. – 2001. – №4. – С. 26–27.
100. Сеницына, Л.Н. Влияние состава корма при массовом выращивании большой вошинной моли на ее развитие и восприимчивость к энтобактерину / Л.Н. Сеницына, Н.А. Острогская,

Л.Т. Коломиец, Л.В. Суханова // Труды ВНИИ микробиологических средств защиты растений и бактериальных препаратов. – Кишинев, Штиница. – 1977. – Выпуск 4. – С. 161–165.

101. Синяков, А.Ф. Большой медовый лечебник. – М., Эксмо, 2012. – 640 с.

102. Смирнов, А.М. Ветеринарно-санитарные мероприятия на пасеках и воскозавозах / А.М. Смирнов. – М.: Колос, 1972. – С. 100–107.

103. Солоденко, Ю.Н. Большая восковая моль (Огнёвка) / Ю.Н. Солоденко, И.В. Солоденко. – Одесса: «ВМВ», 2012. – 24 с.

104. Соломка, В.А. Большая восковая моль («ЗОЛОАЯ БАБОЧКА») Технологии. Свойства. / В.А. Соломка. – Киев, Медицина Украины, 2012. – 40 с.

105. Способ разведения *Galleria mellonella* L.: патент RU № 2210210: МПК 7 А01К67/033 / Исмаилов В.Я., Ширинян Ж.А., Квасенков О.И.; заявитель и патентообладатель Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений. № 2001131302/13 – заявл. 21.11.2001; опубл. 20.10.2003 – 3 с.

106. Спиридонов, Н.А. Сердечно-сосудистый препарат из восковой моли / Н.А. Спиридонов, А.К. Рачков, М.Н. Кондрашова // Пчеловодство. – 1993. – №4. – С. 5–8.

107. Способ получения биологически активного продукта из личинок большой восковой моли: пат. RU 2038086 Рос. Федерация / Спиридонов Н.А., Рачков А.К., Мухин С.А., Кондрашова М.Н.; заявитель Институт теоретической и экспериментальной биофизики АН СССР, патентообладатель Спиридонов Н.А. – № 4938002/14; заявл. 26.03.1991; опубл. 27.06.1995, Бюл. №18 – 9 с.: ил.

108. Старец В.А. Метод оптимизации рецептов полусинтетических питательных сред для разведения насекомых-фитофагов *Amathes C-nigrum* (Lepidoptera, Nictuidae) / В.А. Старец, Э.М. Менчер // Зоологический журнал, том LIX, вып.5. – С. 771–776.

109. Тамарина, Н. А. Техническая энтомология — новая отрасль прикладной энтомологии // Итоги науки и техники. ВИНТИ. Энтомология. – 1987. Т. 7. – С. 248.

110. Темнов, В.А. Переработка воскового сырья на пасеке / В.А. Темнов. – М.: Россельхозиздат, 1966. – 103 с.
111. Тименский, П.И. Сезонные работы в пчеловодстве / П.И. Тименский. – М.: Росагропромиздат, 1988. – С. 207.
112. Титов, И.Н. Вермикультура как возобновляемый источник животного белка из органических отходов / И.Н. Титов, В.М. Усоев // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2012. – №2 (18) – С. 74–78.
113. Тыщенко, В.П. Физиология насекомых / В.П. Тыщенко – М.: 1986. – С. 75–76.
114. Уразбаев, Ж.З. Использование метода математического планирования эксперимента при разработке комбинированных мясных продуктов / Ж.З. Уразбаев // Вестн. НГАУ. – 2010. – Т. 2, №14. – С. 90–94.
115. Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. М.: Медицина, 1975. – 295 с.
116. Устройство для разделения гусениц большой восковой моли по возрастам: патент СССР №3453344/30-15 / Мирзалиева Х.Р., Мирзалиев Б.Т.; заявитель Ташкентский ордена Дружбы Народов сельскохозяйственный институт; патентообладатель Х.Р. Мирзалиева, Б.Т. Мирзалиев – № 1165333 А; заявл.16.06.1982; опубл. 07.07.1985, Бюл. №25. – 3 с.
117. Федоткина, (Срибная) О.С. Разработка физико-химических подходов к разделению и идентификации пептидных продуктов с антибактериальными свойствами: автореф. дис. ... канд. хим. Наук. : 02.00.04. / Олеся Сергеевна Федоткина (Срибная) – Саратов, 2010. – С. 26.
118. Харчук, Ю. Мед и продукты пчеловодства / Ю. Харчук. – М.: Эксмо, 2009. – 125 с.
119. Хупавый, Ю.И. Ловушки для восковой моли / Ю.И. Хупавый // Пчеловодство. – 1985. – №9. – С. 14–15.
120. Цветкова, К.П. Уничтожение воцинной моли холодом / К.П. Цветкова // Пчеловодство. – 1949. – №12. – С. 37–39.
121. Червяков, Д.К. Общая рецептура и технология лекарственных форм / Д.К. Червяков, Г.Н. Мартынов. – Казань, 1977. – 58 с.

122. Чернышев, В.Б. Экология насекомых. Учебник. / В.Б. Чернышев. – М.: Изд-во МГУ, 1996. – 304 с.: ил.
123. Чудаков, В.Г. Технология продуктов пчеловодства. – М.: Колос, 1979. – 160 с.
124. Чухрай, Т.М. Её величество Восковая Моль / Т.М. Чухрай. – Харьков, Полиграфический центр «Домино», 2013. – 42 с.
125. Шевчук, М.К. Пасіка, бджоли, мед / М.К. Шевчук. – Киев, Карпаті, 1974. – С. 229.
126. Шеметков, М.Ф. Справочник пчеловода / М.Ф. Шеметков. – Минск: Урожай, 1969. – С. 392.
127. Шеметков, М.Ф. Советы пчеловоду / М.Ф. Шеметков, В.И. Головнёв, М.М. Кочевой. – Минск: Ураджай, 1991. – С. 368–369.
128. Шовен, Р. Физиология насекомых. – М., Иностранная литература перевод с фр. – 1953. – 496 с.
129. Штайн, С. Е. Опыт апробации дешевых питательных сред при промышленном производстве вощинной моли / С.Е. Штайн // Защита растений от вредителей, болезней и сорной растительности. – Ставрополь, 1994. – С. 34–36.
130. Штеле, А. К проблеме нормирования липидов в комбикормах для птицы / А. Штеле, Н.К. Топорков // Кормбикорма. – 2007. – №3. – С. 73–74.
131. Штеле, А. Сухой пальмовый жир для птицы / А. Штеле // Птицеводство. — 2006. – №11. – С. 40–42.
132. Щербина, П.С. Пчеловодство / П.С. Щербина. – М. : Гос. Изд-во сельскохозяйственной литературы, 1956. – С. 433–436.
133. Щербина П.С. Пчеловодство в Пермской области / П.С. Щербина. – Пермь, 1964. – С. 275–279.
134. Экспертиза продуктов пчеловодства. Качество и безопасность / Под общ. редакцией В.М. Позняковского. – Новосибирск: Сиб. Унив. Изд-во, 2007. – 208 с.
135. Adomson, A.M. Enemies and diseases of the Honey bee in Trinidad / A.M. Adomson // Proc.Agric.Soc.Trin.Tob. – 1943. – № 43. – P. 37–39.

136. ASTM. Maintaining constant relative humidity by means of aqueous solutions. – Annual book of ASTM standards. Standard E 104. Amer. Soc. Testing and Materials. Philadelphia. – 1983. – P. 572–575.

137. Balazs, A. Nutritional and nervous factors in the adaptation of *Galleria mellonella* to artificial diet / A. Balazs // Acta Biol. Acad. Sci. Hung. – 1958. – №9. – P. 47–69.

138. Beamson G., Briggs D. High Resolution XPS of Organic Polymers. The Scienta ESCA300 Database, Wiley&Sons, Chichester etc., 1992.

139. Beard, R.L. Secondary physiological effects of DDT in *Galleria* larvae / R.L. Beard // Entomol. Exp. Appl. – 1958. – №1. – P. 260–267.

140. Beck, S.D. Growth and development of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Galleriidae) / S.D. Beck // Trans. Wis. Acad. Sci. Arts Lett. – 1960. – №49. – P. 137–148.

141. Bednařova, M. Zakladnínutriční profil larev zaviječe voskoveho (*Galleria mellonella*) / M. Bednařova, M. Borkovcova, V. Fišer // Mendelnet. – 2012. – V.1. – P. 722–727.

142. Bogus, I. M. Effect of cooling stress on growth and development rhythms in *Galleria mellonella* / I. M. Bogus, B. Cymborowski // Bulletin of polish Academy Science. – 1977. – №4. – P. 257–260.

143. Braun, J.V. A simplified method of preparing solutions of glycerol and water for humidity control / J.V. Braun, J.D. Braun // Corrosion. – 1958. – № 14 (3). – P. 117–118.

144. Bronskill, J.F. A cage to simplify the rearing of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Pyralidae) / J.F. Bronskill // J. of the Lepidopterists Soc. – 1961. – № 15(2). – P.102–104.

145. Cardoso, Aline C. Exigências Térmicas de Estágios Imaturos de *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) / Aline C. Cardoso, Marcia C. De A. Prata, John Furlong E Fabio Prezoto // Neotropical Entomology. – 2007. – 36(5). – P. 657–661.

146. Caughley, G. Wildlife ecology and management / G. Caughley. – Sinclair Blackwell Publishers, Cambridge, 1994. – 418 p.

147. Charles, F. Control of humidity in small controlled environment chambers using glycerol-water solutions / F. Forney Charles, G. David // *Hor Technology* ž Jan. –1992. – № 2(1). – P. 52–54.

148. Chase, R.W. The light of the larvae of wax moth (*Galleria mellonella*) in its different stadia / R.W. Chase // *Trans. Wis. Sci., Arts and Lett.* – 1921. – №20. – P. 236–267.

149. Chauvin, G. The influence of relative humidity on larval development and energy content of *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) / G. Chauvin, J. Chauvin // *J. of stored products research.* – 1985. – № 21(2). – P. 79–82.

150. Coskun, M. Effect of different honeycomb and sucrose on the development of the greater wax moth *Galleria mellonella* L. larvae / M. Coskun, T. Kayis, M. Sulanc, P. Ozalp // *International journal of agricultural and biology.* – 2006. – Vol. 8, No. 6. – P. 855–858.

151. Cymborowski, B. Temperature – dependent regulatory of larval development of the wax moth (*Galleria mellonella*) / B. Cymborowski // *Acta biochimica polonica.* – 2000. – Vol.47 No.1. – P. 215–221.

152. Cymborowski, B. Juvenilizing effect of cooling strell on *Galleria mellonella* / B. Cymborowski, M. I. Bogus // *J. Insect Physiol.* – 1976. – Vol. 22. – P. 669–672.

153. Dadd, R.H. A study of carbohydrate and lipid nutrition in the wax moth, *Galleria mellonella* (L.) using partially synthetic diets / R.H. Dadd // *J. Insect. Physiol.* – 1964. – №10. – P. 161–178.

154. Dutky, S.R. A technique foe mass rearing the wax moth (Lepidoptera: Galleriadae) / S.R. Dutky, J.V. Thomson, G.E. Cantwell // *Proc. Entom. Soc. Wash.* – 1962. – № 64. – P. 56–58.

155. Dyar, H.G. The number of moults of lepidopterous larvae/ H.G. Dyar // *Psyche.* –1890. – № 5. – P. 420–422.

156. Eischen, Frank A. Improved culture techniques for mass rearing *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) / Frank A. Eischen, A. Dietz // *Ent. News* – 1990. — 101(2). – P.123–128.

157. El-Sawaf, S.K. The life history of the greater wax moth (*Galleria mellonella*) in Egypt with special reference to the morphology of the mature larvae (Lepidoptera: Pyralidae) / S.K. El-Sawaf // *Bull. Soc. Fouad. Ier. Ent.* – 1950. – № 34. – P. 247–297.



158. Ellis, J.D. Standard methods for wax moth research / J.D. Ellis, J.R. Graham, A. Mortensen // Journal of Apicultural Research. – 2013. – № 52(1). – P. 1–17.

159. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Strasbourg: Council of Europe, 1986. – 53 p.

160. Frank, A.E. Growth and survival of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae fed diets contained honey bee-collected plant resins / A.E. Frank, A. Dietz // Annals of the Entomological society of America. – 1987. – Vol. 80, no.1 – P. 74–77.

161. Frank, A.E. Improved culture techniques for mass rearing *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) / A.E. Frank, A. Dietz // Entomological news. – 1990 – Vol. 101, no.2 – P. 123–128.

162. Frankel, G. The utilization of metabolic water in insects / G. Frankel, M. Blewett // Bulletin entomology research. – 1944. – №35. – P. 124–139.

163. Gibreel, T.M. Synthetic epidermicin NI01 can protect *Galleria mellonella* larvae from infection with *Staphylococcus aureus*. // T.M. Gibreel, M.Upton – Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2013, № 68. – P. 2269–2273.

164. Gomez-Lopez, A. An invertebrate model to evaluate virulence in *Aspergillus fumigatus*: the role of azole resistance. // A. Gomez-Lopez, A. Forastiero, E. Cendejas-Bueno, L. Gregson, E. Mellado, S.J. Howard, J.L. Livermore, W.W. Hope, M. Cuenca-Estrella. / Medical Mycology, 2014, № 52. – P. 311–319.

165. Haydak, M. Is wax a necessary constituent of the diet of wax moth larvae? / M. Haydak // Annals entomological of society of America. – Vol. XXIX, 1936. – P. 581–588.

166. Hutton, S. Wax moth / S. Hutton // National Bee Unit FAQ 19. – 2010. – January. – P. 25–26.

167. Kadhum Ashfad Nohad Al-Temenu M. Effect of artificial diets on some parameters of greater wax moth, *Galleria mellonella* L. under optimum conditions / M. Ashfad Nohad Kadhum Al-Temenu, Sohail Ahmed // J. Agric. Res. – 2005. - №43 (3). – P.223–228.

168. Koch, G., Nadal-Jimenez, P., Cool, R.H. and Quax, W.J. (2014) Assessing *Pseudomonas* virulence with nonmammalian host: *Galleria mellonella*. // G. Koch, P. Nadal-Jimenez, R.H. Cool, W.J. Quax/ *Methods in Molecular Biology*, 2014, № 1149. – P. 681–688.

169. Krams, I. Effect of food quality on trade-offs among growth, immunity and survival in the greater wax moth, *Galleria mellonella* / I. Krams, S. Kesko, K. Kangassalo, F. R. Moore, E. Jankevics, I. Inashkina, T. Krama, V. Lietuvietis, L. Meija, M. J. Rantala // *Insect Science*. – 2014. – №04. – P. 1–9.

170. Kulkarni, N. Effect of economical modification in artificial diet of greater wax moth *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae)/ N. Kulkarni, D.K. Kushwana, V.K. Mishra, S. Paunekar // *Indian Journal of Entomology*. – 2012. – №74 (4). – P. 369–374.

171. Lawrence, R.D. Protein content of earthworms / R.D. Lawrence, R.H. Millar // *Nature (London)* № 3939. – 1945. – P. 517.

172. Maekawa, L.E. Different extracts of *Zingiber officinale* decrease *Enterococcus faecalis* infection in *Galleria mellonella* / L.E. Maekawa, R.D. Rossoni, J.O. Barbosa, A.O. Jorge, J.C. Junqueira, M.C. Valera // *Brazilian Dental Journal*. – 2015. – № 26. – P. 105–109.

173. Marston, N. Mass producing eggs of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (L.). / N. Marston, B. Campbell, P.E. Boldt // *Technical bulletin No. 1510*. – 1975. – 1–15 p.

174. Marston, N. Comparison of nine diets for rearing *Galleria mellonella* / N. Marston, B. Campbell // *Annals of the Entomological society of America*. – 1973. – Vol. 66. No 1. – P.132–136.

175. Mayo D.W., Miller F.A., Hannah R. W. *Course Notes on the Interpretation of Infrared and Raman Spectra*. John Wiley & Sons, Inc.: New Jersey, 2003. P. 567.

176. Metwally, H.M.S. Low cost artificial diet for rearing the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) as a host for entomopathogenic nematodes / H.M.S. Metwally, G.A. Hafez, M.A. Hussein, M.A. Hussein, H.A. Salem, M.M.E. Saleh // *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. – 2012. – №1, Vol. 22. – P. 15–17.

177. Munoz-Gomez, A., Development of quantitative proteomics using iTRAQ based on the immunological response

of *Galleria mellonella* larvae challenged with *Fusarium oxysporum* microconidia // A. Munoz-Gomez, M. Corredor, A. Benitez-Paez, C. Pelaez / PLoS ONE 9, 2014.- P. 112–179.

178. Nakanishi K. Infrared Absorption Spectroscopy. Holden-Day, Inc.: San Francisco & Nankodo Company Limited: Tokyo, 1962. P. 287.

179. Nielsen, R.A. The greater wax moth: adult behavior / R.A. Nielsen, C.D. Brister // Annals of the entomological society of America. – 1977. – Vol. 70, no. 1. – P. 101–103.

180. Nielsen, R.A. Greater wax moth: behavior of larvae / R.A. Nielsen, C.D. Brister // Annals of the entomological society of America. – 1979. – Vol. 72, no.6. – P. 811–815.

181. NIST Chemistry WebBook, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, 2011, available on <<http://webbook.nist.gov/chemistry/>>.

182. Oertel, E. Behavior studies of the greater wax moth. // E. Oertel // 11th Int. Congr. Entomol. –1962. – № 2. – P. 532–536.

183. Ortiz-Urquiza, Improving mycoinsecticides for insect biological control. / A. Ortiz-Urquiza, Z. Luo, N.O. Keyhani // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2015. –№ 99. –P. 1057–1068.

184. Paddock, F.B. Observations on the bee-moth (*Galleria mellonella*) / F.B. Paddock // Journal of economic entomology. – 1914. – Vol. 7. – P.183–188.

185. Paddock, F.B. The beewoth or waxworm / F.B. Paddock // Texas Agric. Exp. Stc. Bull. No. 231, 1918. – 38 p.

186. Pipa, R.L. Supernumerary instars produced by chilled wax moth larvae: endocrine mechanisms / R.L. Pipa // Journal Insect Physiology. – 1963. – №22. – P. 1641–1647.

187. Plantevin, G. Contribution a l'étude de la biologie de *Galleria mellonella*, muss, croissance et developpement / G. Plantevin // Annalia zoologie. Ecologie animale. – 1975. – Vol. 7. №3. – P. 365–397.

188. Roy, D.N. On the nutrition of larvae of bee-wax moth, *Galleria mellonella* / D.N. Roy, M.D., D.T.M. // Zeitschrift für Vergleichende Physiologie. – 1937. – 24(5) – P. 638–643.

189. Ruiu, L. Insect pathogenic bacteria in integrated pest management / L. Ruiu // Insects, 2015. –№6. – P. 352–367.

190. Sabine, J. The nutritive value of earthworm meal / J. Sabine // Proceeding of Conference on Utilization of soil organisms in sludge management, Syracuse, N.Y. – 1978. – P. 122–130.

191. Sehnal, F. Critical study of the bionomics and biometrics of the wax moth *Galleria mellonella* reared under different conditions / F. Sehnal // Z. Wiss. Zool. – 1966. – 174. – P.53–82.

192. Solomon, M.E. Control of humidity with potassium hydroxide, sulphuric acid, or other solutions / M.E. Solomon // Bul. Entomol. Res. – 1951. – № 42. – P. 543–554.

193. Stairs, G.R. Effects of a wide range of temperatures on the development of *Galleria mellonella* and its specific Baculovirus / G.R. Stairs // Environmental Entomology. – 1965. – №7. – P. 297–299.

194. Swamy, Hanumantha B.C. Bionomics and biometrics of Greater wax moth *Galleria mellonella* Linnaeus / Hanumantha B.C. Swamy // Asian journal of bioscience. – 2008. – Vol.3 No.1 – P. 49.

195. Swamy, Hanumantha B.C. Influence of different species of honey combs on the life stages and biological parameters of greater wax moth, *Galleria mellonella* L. / Hanumantha B.C. Swamy, V. Hosamani, M.V. Nagaraja // Agrical. Sci. – 2009. – 22 (3-Spl. Issue). – P. 670–671.

196. Swamy, Hanumantha B.C. Influence of temperature and relative humidity on development of greater wax moth *Galleria mellonella* / Hanumantha B.C. Swamy, D. Rajagopal, B.S. Basavaraju // Current Biotica. – 2013. – №7 (3). – P. 202–208.

197. Tauson, R. The creation of a common scoring system for the integument and health of laying hens. Applied scoring of integument and health in laying hens / R. Tauson, J. Kjaer, G. Maria, R. Cepero, K.Holm // Specific Targeted Research Project. – 2004. – P. 70.

198. Walters, C. Adaptive management of renewable resources. / Blackburn Press, Caldwell, New Jersey, 1986. – 430 p.

199. Warren, L.O. Life history of the greater wax moth *Galleria mellonella* L. in Arkansas / L.O. Warren, P. Huddleston // J.Kanz.Ent. Soc. – 1962. – № 35. – P. 212–216.

200. Waterhouse, D.F. Axenic culture of wax moths for digestion studies / D.F. Waterhouse // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 1959. -№77 – P. 283–289.

201. Young, R.G. The effects of dietary beeswax and wax components on the larvae of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (L.) / R.G. Young // Ann. Entomol. Soc. Am. – 1961. – №54. – P. 657–659.

## **ПРИЛОЖЕНИЕ**

# Приложение А

## Состав искусственных питательных сред

Рецепты искусственных питательных сред, приготовленные по рецептам авторов	Мука пшеничная, г	Мука кукурузная	сухое молоко	дрожжи пивные	Воск пчелиный	мд	глицерин	Вода	Сахарный песок	отруби	цельнозерновая мука	Смесь зерновых	Крахмал	Толчено	Масло подсолнечное
A. Balazs (1958)	110	220	110	55	175	110	110				110				
J.f. bronskill (1961)			150			150	300	150		500					
S.D. Beck (1960)				94	47	236	208	94				321			
N. Marston (1975)	162	162		65			193	158		260					
G.R. Stairs (1965)		58		10		186	154					591			
r.l. pipa (1963)						264	219	99				417			
M.H. Haysdak (1936)		182	91	45		273	226			91	91				
Ю.И. Кузнецова (1981)	110	140	13	130	80	100	210			100					
Т.В. Коновалова (2009)	8,4	18,8			10,4	10,4	10,4	10,4		10,4					
В.Я. Исмаилов и др.(1) (2003)	110		70	100	80	50	80	60		350					
В.Я. Исмаилов и др.(2) (2003)	110		70	100	80		80	210		350					
е.м. Шагов и др. (1983)		27-29		8,5-9,5	12,5-13,5		12,5-13,5	25-28		11,5-12,5					
Я.И. Жакаускене и др.(1986)			400	200-300	200-800	300-400	100-150	300-400		100			100-200	200	140-200

## Приложение Б

Садки для содержания большой восковой моли  
Стеклянная конструкция объёмом 2 л



«Банка фонарь» по эскизам  
J.F. Bronskill (1961)



Продолжение приложения Б

Контрольный садок  
объемом 500 мл





Подготовка проб к измерениям (Контроль ИПС)



Контроль (пчелиные соты)



Результаты анализа пчелиного воска

<b>ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ ЦЕНТР</b> Бюджетное учреждение Удмуртской Республики «Удмуртский ветеринарно-диагностический центр»
Юридический адрес: 426039, Удмуртская республика, г.Ижевск, ул.Воткинское шоссе, дом 29 тел/ факс: (3412) 33-08-11, 33-07-11, icuvdc@yandex.ru
Аттестат аккредитации ИЦ № РОСС RU.0001.21ПП15 действителен до 05.05.2016года



Протокол испытаний № 5675/1 – 5677/1 от 24.08.2015г.

Наименование предприятия (заказчик), адрес: Осокина А.С.

УР, г. Ижевск, ул. Сабурова, д. 3А, кв. 52

Наименование образца (пробы)- Воск в ассортименте

Ф.И.О., должность (кем проведен отбор образцов, проб), акт отбора образцов (проб)- Осокиной А.С., акт отбора № 1821/1 от 17.08.2015г.

Дата и время отбора образца (проб): 17.08.2015г.

Дата и время поступления образца (проб)/ окончания исследований: 17.08.2015 16:00/ 24.08.2015г.

Цель испытаний: производственный контроль

Условия доставки: автотранспорт

Результаты испытаний:

Наименование образцов продукции	Обозначение нормативных и технических документов, регламентирующих показатели качества	Обозначение НД регламентирующей методику проведения испытаний	Обозначение показателей качества по регламентирующей документации	Допустимые уровни	Фактические значения показателей качества
№ 5675/1- Воск пчелиный (проба № 1)	-	ГОСТ 21179-2002	Кислотное число, мг КОН/г	16,0-20,0	16,6
		ГОСТ 21179-2002	Число омыления, мг КОН/г	85,0-101,0	92,5
		ГОСТ 21179-2002	Эфирное число, мг КОН/г	67,0-84,0	75,9
		ГОСТ 21179-2002	Йодное число, г йода/100г	7,0-15,0	12,4
№ 5676/1- Воск пчелиный (проба № 2)	-	ГОСТ 21179-2002	Кислотное число, мг КОН/г	16,0-20,0	17,4
		ГОСТ 21179-2002	Число омыления, мг КОН/г	85,0-101,0	88,9
		ГОСТ 21179-2002	Эфирное число, мг КОН/г	67,0-84,0	71,0
		ГОСТ 21179-2002	Йодное число, г йода/100г	7,0-15,0	12,7
№ 5677/1- Воск пчелиный (проба № 3)	-	ГОСТ 21179-2002	Кислотное число, мг КОН/г	16,0-20,0	16,2
		ГОСТ 21179-2002	Число омыления, мг КОН/г	85,0-101,0	89,6
		ГОСТ 21179-2002	Эфирное число, мг КОН/г	67,0-84,0	73,4
		ГОСТ 21179-2002	Йодное число, г йода/100г	7,0-15,0	16,2

Исполнители:

Гл. ветврач отдела биохимии и радиологии: Чуракова Е.И. (фамилия)

*Чуракова Е.И.*  
подпись

Ответственный за оформление: Костицына Е.С. (фамилия)

*Костицына Е.С.*  
подпись

Протокол выдан только на образцы, подвергнутые испытаниям.

Настоящий протокол не может быть частично или полностью перепечатан без разрешения аккредитованного ИЦ.

Протокол испытаний № 5675/1 – 5677/1 от 24.08.2015г.

Страница 1 из 1

Определение восковитости старых пчелиных сот  
и пасечных вытопок по В.А. Темнову, 1966  
Процесс отжима сырья от воска



Выход пчелиного воска из старых пчелиных сот  
и пасечных вытопок



Результаты биохимического анализа экстрактов

Бюджетное учреждение здравоохранения  
Удмуртской Республики  
«Информационно-методический центр по  
экспертизе, учету и анализу обращения  
средств медицинского назначения»  
Министерства здравоохранения  
Удмуртской Республики.  
(БУЗ УР - ИМЦ) ИЗ УР., ИНН 1833030080  
КПП 184001001 ОГРН 1031801354133  
426039 УР, г. Ижевск, ул. Дзержинского, д.3  
Тел.: (3412) 44-20-88

Исследование настоек восковой моли  
Значение pH

Настойка восковой моли (насыщенный раствор) 70%	7,0
Настойка восковой моли из экскрементов восковой моли на 70% спирте	4,8
Настойка восковой моли (замороженные личинки) 70%	6,5
Настойка восковой моли 70%	6,5
Настойка восковой моли из экскрементов восковой моли на 40% спирте	4,5
Настойка восковой моли (замороженные личинки) 40%	6,0
Настойка восковой моли на 40 % этиловом спирте 100 мл	8,2

Спектрофотометрический метод определения белка, основанный на способности ароматических аминокислот (триптофан, тирозин и в меньшей степени фенилаланин) поглощать ультрафиолетовый свет с максимумом поглощения при 280 нм. Определению белка данным методом мешают присутствие нуклеиновых кислот и нуклеотидов (более 20%). В этом случае оптическую плотность одного и того же раствора измеряют при двух длинах волн – 260 и 280 нм. Содержание белка X (мг/мл) рассчитывают по формуле Калькара:

$$X = 1,45 \times D_{280} - 0,74 \times D_{260}$$

*содержит  
белки*

	D <sub>260</sub>	D <sub>280</sub>	X (мг/мл)
Настойка восковой моли (насыщенный раствор) 70%	2,6070	2,6734	1,95
Настойка восковой моли из экскрементов восковой моли на 70% спирте	2,9280	3,1549	Более 2,0

Продолжение приложения Е

Настойка восковой моли (замороженные личинки) 70%	2,6066	2,5724	1,80
Настойка восковой моли 70%	2,4928	2,5277	1,83
Настойка восковой моли из экскрементов восковой моли на 40% спирте	2,9656	3,1549	Более 2,0
Настойка восковой моли (замороженные личинки) 40%	2,76201	2,6427	Более 2,0
Настойка восковой моли на 40 % этиловом спирте - 100 мл	2,7605	2,7008	Более 2,0

Сухой остаток

Настойка восковой моли (насыщенный раствор) 70%	1,2%
Настойка восковой моли из экскрементов восковой моли на 70% спирте	3,1%
Настойка восковой моли (замороженные личинки) 70%	0,53%
Настойка восковой моли 70%	0,15%
Настойка восковой моли из экскрементов восковой моли на	3,79%

Продолжение приложения Е

40% спирте	
Настойка восковой моли (замороженные личинки) 40%	1,35%
Настойка восковой моли на 40 % этиловом спирте - 100 мл	0,39%

Определение белка с биуретовым реактивом – реакция не подтверждается.

Реакция с раствором нингидрина на аминокислоты подтверждается.

Реакция с реактивом Фелинга на сахара подтверждается.

Исследование медовой вытяжки восковой моли

Плотность – 1,4192

Показатель преломления- 1,4920

Сухих веществ – 81,2%

Определение белка с биуретовым реактивом – реакция не подтверждается.

Реакция с раствором нингидрина на аминокислоты подтверждается.

Реакция с реактивом Фелинга на сахара подтверждается.

Зав. И.А. Жукова С.И.



Консистенция питательных сред

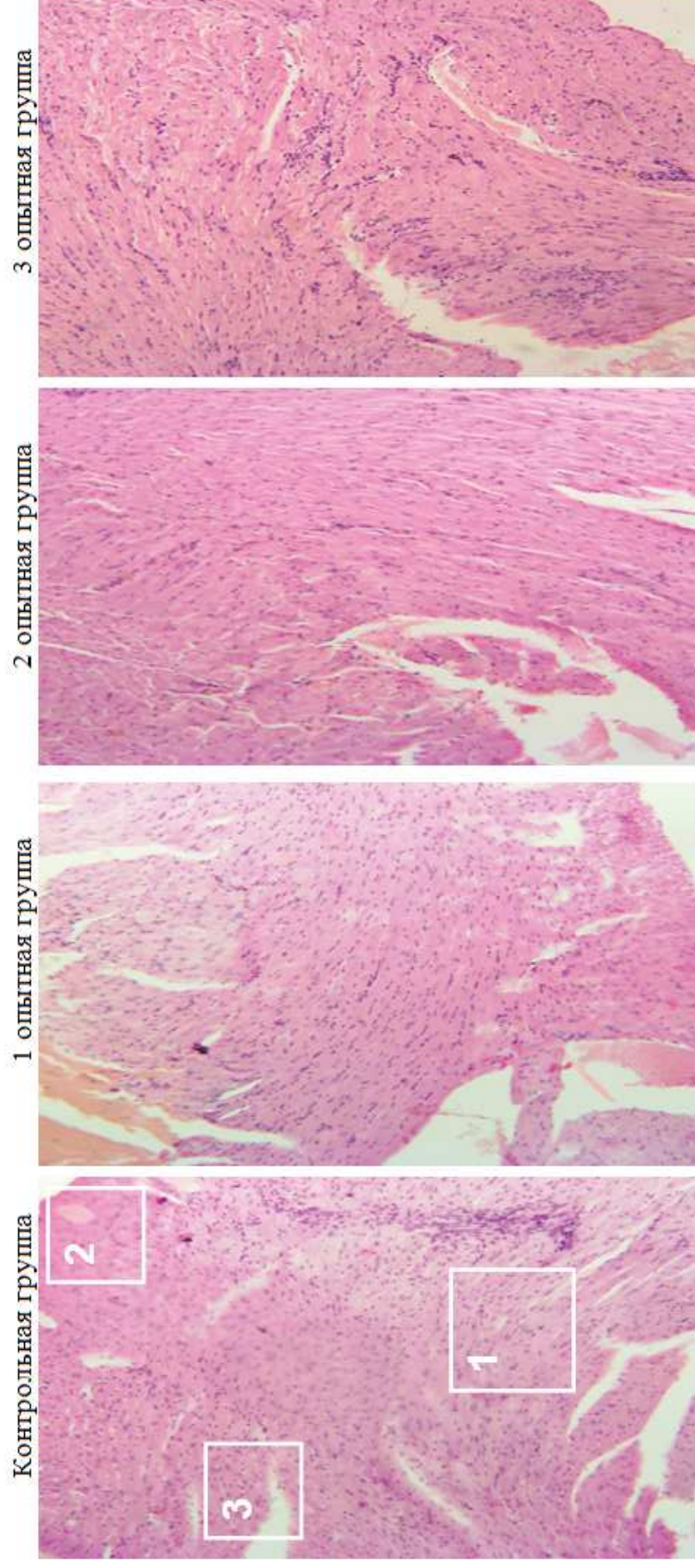
Питательная среда	Консистенция
Пчелиные соты	Твёрдая влажная
Пчелиные соты	Мягкая, эластичная
Пасечные вытопки + мед	Мягкая, эластичная
Пасечные вытопки + мед + трава мелиссы	Мягкая, эластичная
Пасечные вытопки + мед + листья сельдерея	Мягкая, эластичная
Пасечные вытопки + мед + цветки липы	Мягкая, эластичная
Пасечные вытопки + мед + листья березы	Мягкая, эластичная
Пасечные вытопки + мед + листья смородины	Мягкая, эластичная
Пасечные вытопки + мед + цветки ромашки	Мягкая, эластичная
Пасечные вытопки + мед + трава пустырника	Мягкая, эластичная
Пасечные вытопки + мед + слоевища ламинарии	Мягкая, эластичная
ИПС + трава мелиссы	Мягкая, эластичная
ИПС + листья сельдерея	Мягкая, эластичная
ИПС + цветки липы	Мягкая, эластичная
ИПС + листья березы	Мягкая, эластичная
ИПС + листья смородины	Мягкая, эластичная
ИПС + цветки ромашки	Мягкая, эластичная
ИПС + трава пустырника	Мягкая, эластичная
ИПС + слоевища ламинарии	Мягкая, эластичная
по рецептам:	
Е.М. Шагов, Г.И. Уланова, Е.М. Асланян (1986)	Мягкая, эластичная
В.Я. Исмаилов и др. рецепт №1 (2003)	Мягкая, эластичная
В.Я. Исмаилов и др. рецепт №2 (2003)	Мягкая, эластичная
Т.В. Коновалова (2009)	Мягкая, эластичная
Я.И. Жакаускене, Ю.М. Ширвинкас (1986)	Мягкая, эластичная

Продолжение приложения Ж

Питательная среда	Консистенция
Ю.И. Кузнецова (1981)	Мягкая, эластичная
N. Marston (1975)	Мягкая, эластичная
A. Balazs (1958)	Мягкая, эластичная
G.R. Stairs (1965)	Мягкая, эластичная
J.F. Bronskill (1961)	Мягкая, эластичная
S.D. Beck (1960)	Мягкая, эластичная
R.L. Pipa (1963)	Полужидкая, пастообразная
M.H. Haydak (1936)	Мягкая, эластичная



## Приложение К

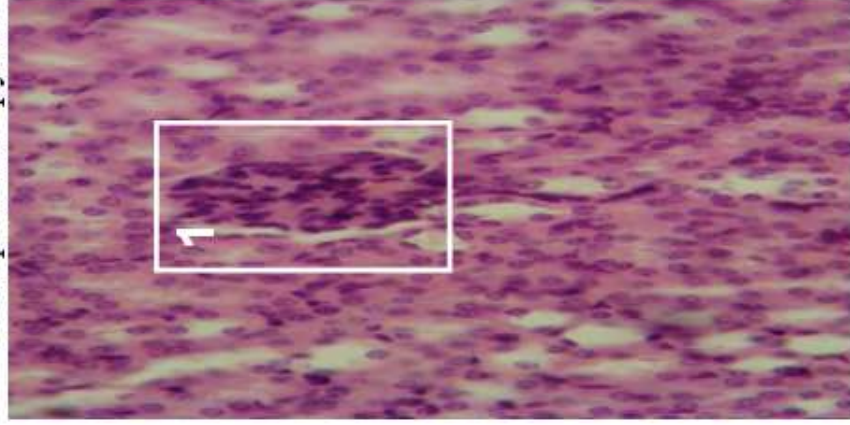


Гистологические срезы левого желудочка сердца. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение X10.

Обозначения: 1. Кардиомициты; 2. Эндокард; 3. Эпикард;

## Приложение Л

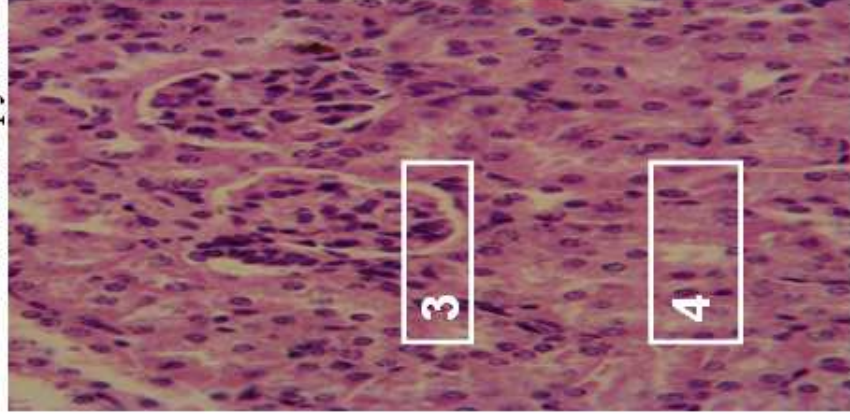
Контрольная группа



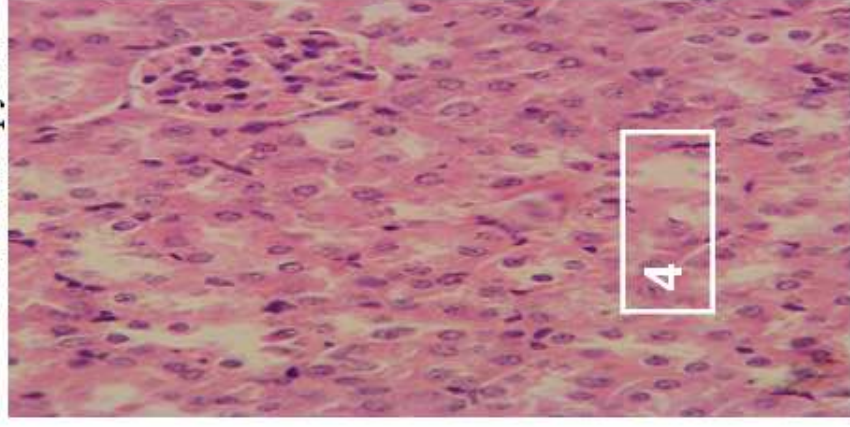
1 опытная группа



2 опытная группа

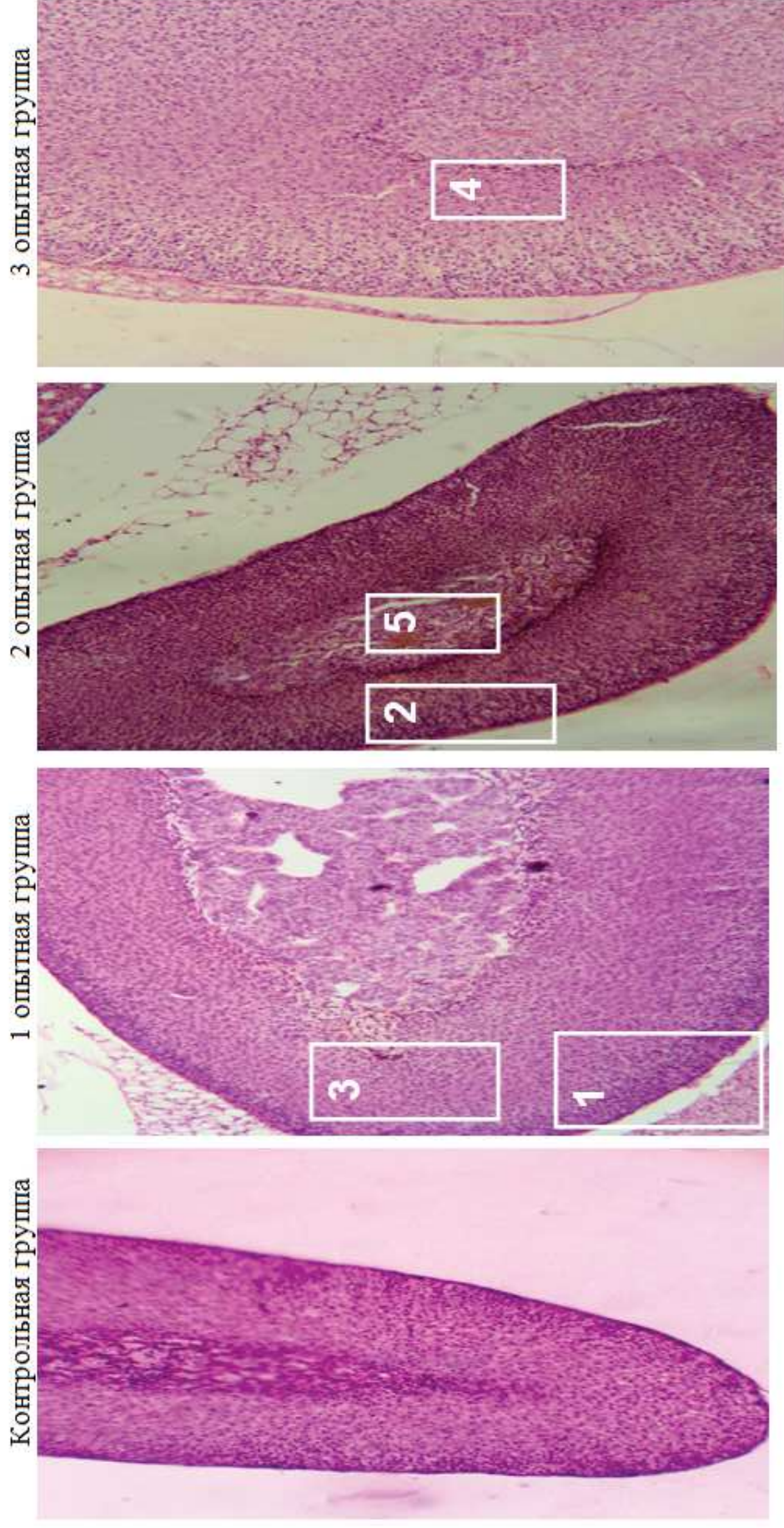


3 опытная группа



Корковое вещество. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение X 10.  
Обозначения: 1. Почечное тельце 2. Сосудистый клубочек; 3. Просвет мочевого пространства;  
4. Проксимальные каналы; 5. Дистальные каналы.

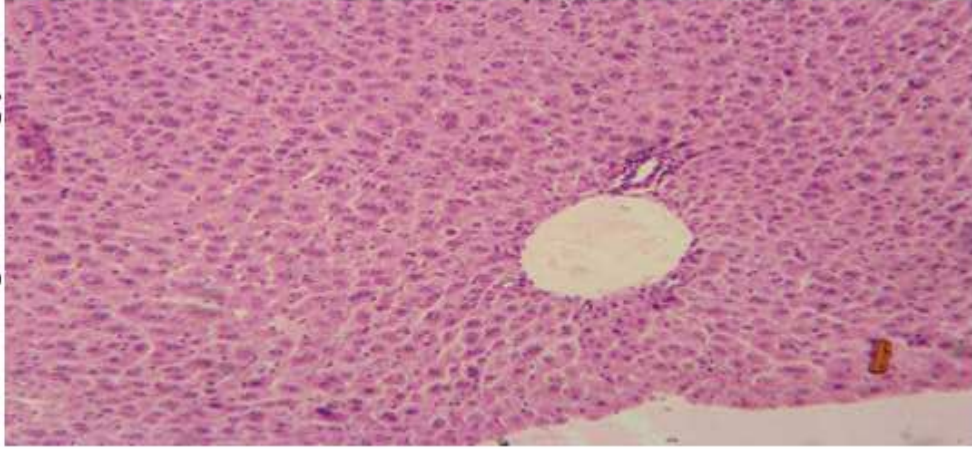
## Приложение М



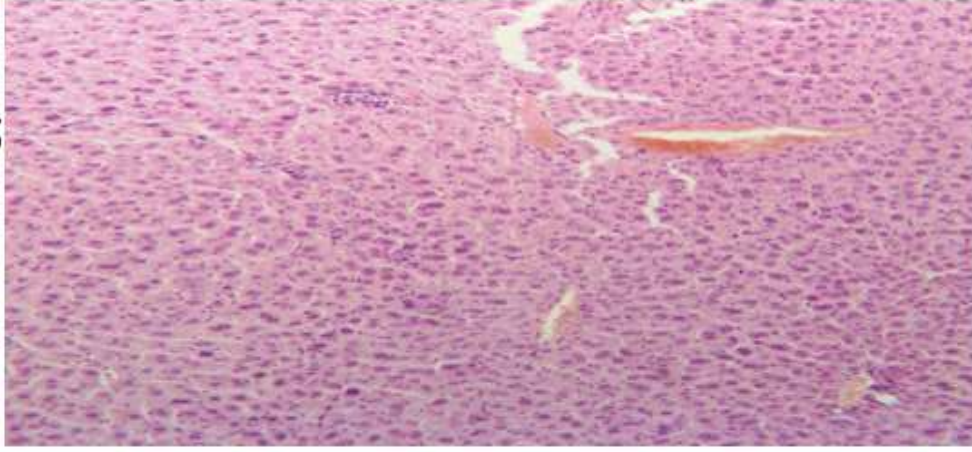
Надпочечники. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение X 10. Обозначение: 1 – капсула; 2 – клубочковая зона; 3 – пучковая зона; 4 – сетчатая зона; 5 – мозговое вещество.

## Приложение Н

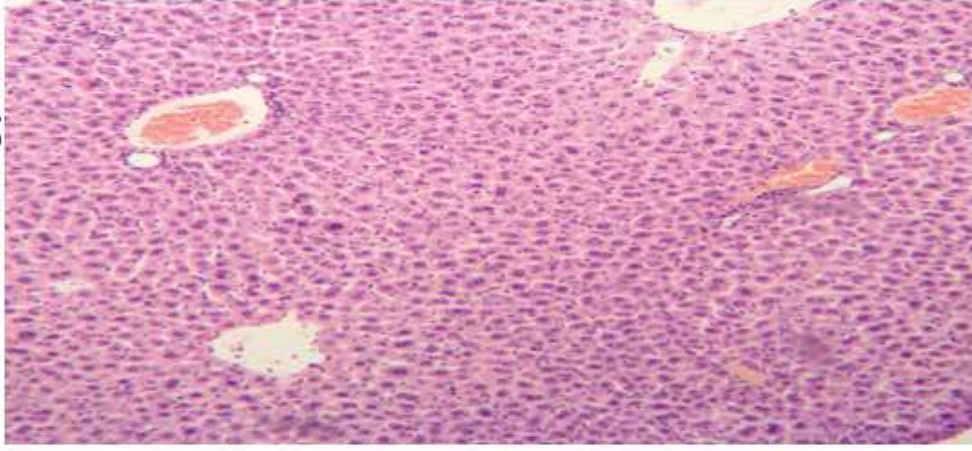
Контрольная группа



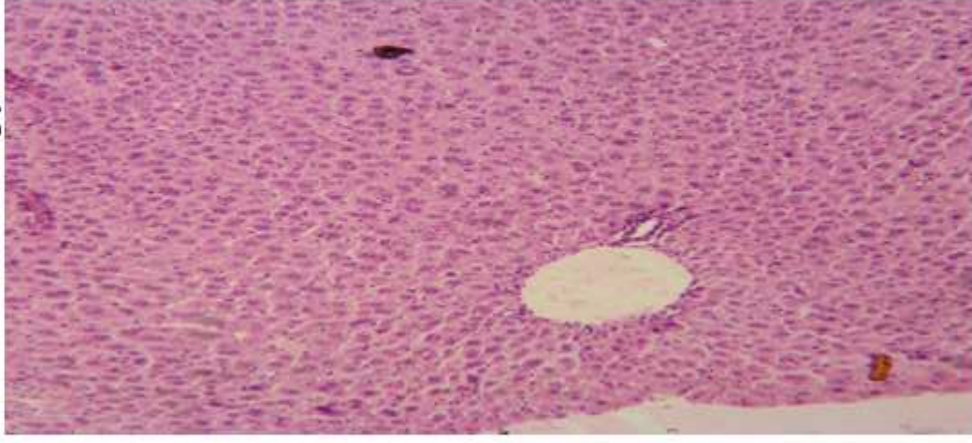
1 опытная группа



2 опытная группа



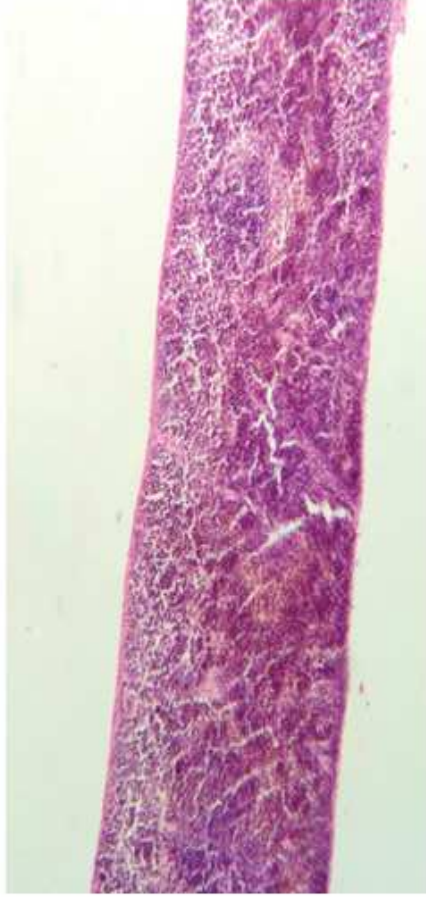
3 опытная группа



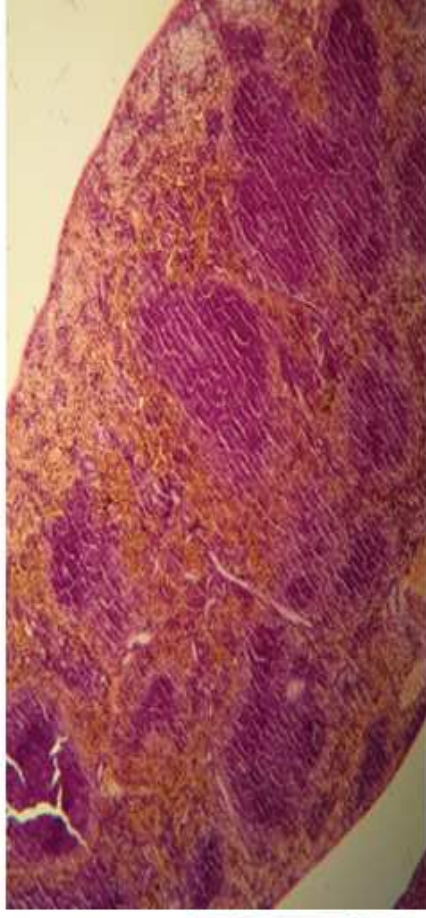
Печень. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение X 10.

## Приложение П

КОНТРОЛЬНАЯ ГРУППА



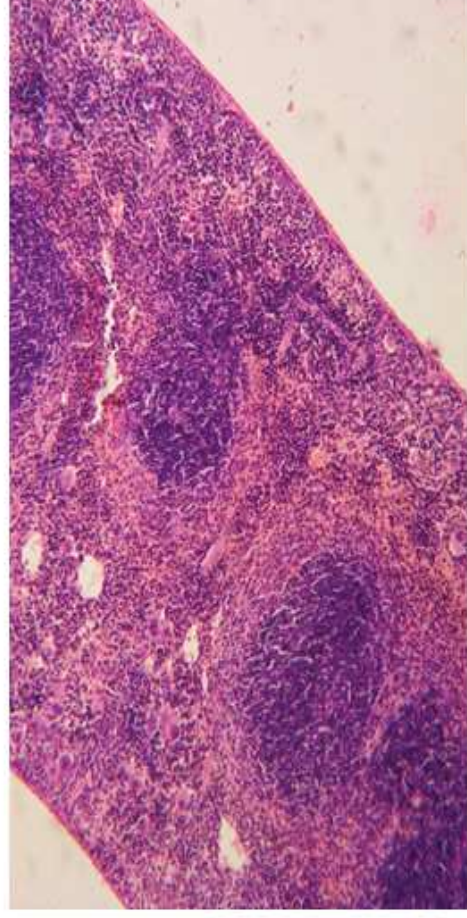
2 ОПЫТНАЯ ГРУППА



1 ОПЫТНАЯ ГРУППА



3 ОПЫТНАЯ ГРУППА



Селезенка. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение X 10.

*Научное издание*

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РАЗВЕДЕНИЯ БОЛЬШОЙ  
ВОСКОВОЙ МОЛИ  
(*GALLERIA MELLONELLA* L.) КАК ИСТОЧНИКА  
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ**

*Монография*

**Осокина Анастасия Сергеевна  
Колбина Лидия Михайловна  
Гущин Александр Владимирович**

*Верстка А. П. Пушина*

Подписано в печать 22.11.2019. Формат 60x84/16. Гарнитура Times.

Усл. печ. л. 9,65. Уч.-изд. л. 5,7. Тираж 300 экз.

Издательство ИП Зеленин К.А.  
Ижевск, ул. Пушкинская 270, 644-277  
+7 950 160 58 41 (WhatsApp, Telegram, Viber)  
anna.philology@gmail.ru, vk.com/anna\_zelenina\_lit  
@annazeleninalit