



УДК: 632.57.084.1

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ GALLERIA MELLONELLA КАК ТЕСТ-ОБЪЕКТА ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ МИКОПЕСТИЦИДОВ

Балтаев Ботир Сафарович 

профессор

e-mail: Safarovich2021@gmail.com

Мирзалиева Хукуматхон Бахтияр кизи 

магистрант

факультет “Защита и карантин растений” ТашГАУ.

Аннотация: Первое наиболее подробное исследование культивирования насекомого *Galleria mellonella* было опубликовано 52 года назад Marston N с соавт 1973г (18), и в настоящее время личинка широко используется в качестве модели для научно-исследовательских целей в различных областях. В данном протоколе описывается наш опыт выращивания гусениц *G. mellonella* для экспериментальных моделей инфекции *Beauveria bassiana* и влияние различных искусственных диет на параметры развития. В данной работе мы предлагаем состав диеты, благоприятно влияющий на жизненный цикл *G. mellonella* за счет ускорения личиночной фазы и увеличения веса гусениц.

Ключевые слова: Большая пчелинная огневка *Galleria mellonella* (БПО), *Beauveria bassiana*, искусственные питательные среды (ИПС), центральный композиционный план (ЦКП), план Бокса-Бенкина (ВВ).

Abstract. The first detailed study of the insect *Galleria mellonella* was published 53 years ago by Marston N et al. in 1973 (18), and the larva is now widely used as a model for research purposes in various fields. This protocol describes our experience in rearing *G. mellonella* caterpillars for experimental models of *Beauveria bassiana* infection and the effect of different artificial diets on developmental parameters. In this work, we propose a diet composition that has a beneficial effect on the life cycle of *G. mellonella* by accelerating the larval phase and increasing the weight of the caterpillars.

Keywords: Large bee glowworm *Galleria mellonella* (BPO), *Beauveria bassiana*, artificial nutrient media (IPS), central compositional plan (CCP), Box-Benkin plan (BB).



AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIKLAR KARANTINI

Annotatsiya. *Galleria mellonella* hasharotini yetishtirish bo'yicha birinchi batafsil tadqiqot 53 yil oldin Marston N va boshqalar tomonidan 1973 (18) nashr etilgan va lichinka hozirda turli sohalarda tadqiqot maqsadlarida model sifatida keng qo'llaniladi. Ushbu protokol *Beauveria bassiana* infektsiyasining eksperimental modellari uchun *G. mellonella* lichinka boqish tajribamizni va turli xil sun'iy parhezlarining rivojlanish parametrlariga ta'sirini tasvirlaydi. Ushbu ishda biz lichinka fazasini tezlashtirish va lichinka og'irligini oshirish orqali *G. mellonella* hayot aylanishiga ijobiy ta'sir ko'rsatadigan parhez tarkibini taklif qilamiz.

Kalit so'zlar: katta asalari parvonasi *Galleria mellonella* (BPO), *Beauveria bassiana*, sun'iy ozuqa muhitlari (SOM), markaziy kompozitsion reja (MKP), Boks-Benkin rejasi (BB).

ВВЕДЕНИЕ

Личинки большой восковой огневки *Galleria mellonella* являются полезной моделью для изучения биохимических и физиологических аспектов иммунитета насекомых, таких как: проверка патогенности бактерий и грибов, анализ биохимических свойств гемолимфы или жирового тела, а также отслеживание экспрессии генов в конкретном органе. Однако, качество личинок, получаемых лабораториями, варьируется, поэтому особенно важно идти по пути стандартизации получаемого биоматериала. Кроме того, отсутствие определённых линий *G. mellonella* и стандартизированных протоколов для размножения и поддержания высокой иммуносопротивляемости затрудняет сравнение данных различных исследований. (Ulrike Binder, 2016)[8]

Личинки большой восковой огневки широко используются во многих аспектах иммунологических исследований. Это объясняется тем, что данное насекомое отвечает большинству требований к модельным организмам. Во-первых, его присутствие не связано с конкретными широтами, а повсеместно распространено; следовательно, полученные данные имеют общее значение (Kwadha et al . 2017) [9]

К ним относятся: анализ взаимодействия хозяина и патогена; понимание механизмов врожденного иммунитета; тестирование факторов вирулентности патогенов человека; тестирование антимикробной активности новых лекарств *in vivo* ; и поиск биоактивных молекул, например, с антимикробной, противовирусной и противораковой активностью, а также для использования в качестве биопестицидов (Lionakis 2011; Pereira et al . 2018 ;) [10,11]

Одним из наиболее впечатляющих примеров взаимоотношений между хозяином и патогеном, обнаруженной у *G. mellonella*, является взаимодействие между антимикробными пептидами хозяина, ингибиторами протеаз и внеклеточными протеазами захватчика.

Среди них есть антимикробные пептиды и специфический ингибитор металлопротеиназы, называемый ингибитором металлопротеиназы



AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIKLAR KARANTINI

насекомых (ИМПИ). *G. mellonella* является первым животным организмом, у которого был обнаружен специфический белковый ингибитор металлопротеиназ (Wedde *et al.* 1998, 2007).[14,15] Белок ИМПИ — это термостабильный белок массой около 8,6 кДа, не имеющий аналогов среди всех известных ингибиторов металлопротеиназ (Vilcinskas and Wedde 2002;)[16]. Его открытие открывает новые возможности в области медицинской биотехнологии

Грибы *Beauveria bassiana* и *Metharizium anisopliae (robertsii)* могут естественным образом инфицировать *G. mellonella*. В лабораторных условиях существует два способа заражения личинок *G. mellonella*, которые очень близки к способу заражения в природе. Первый метод включает погружение личинок в определенную концентрацию спор грибка или их размещение на фильтровальной бумаге, выстилающей воронку, и промывание спорами грибка. Другая возможность — размещение личинок на чашке Петри со спорообразующим грибком (Wojda *et al.*, 2020)[3].

Целью настоящей работы – оптимизировать метод культивирования *Galleria mellonella* как тест-объекта для оценки эффективности микопестицидов и как основного белкового компонента при получении высоковирулентных штаммов представителей семейств Cordycipitaceae (*Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii*), Clavicipitaceae (*Metarhizium anisopliae*)

Конечной целью ряда исследований в этом направлении является стандартизация объекта БПО и сертификация опытного производства.. Они играют ключевую роль в техническом регулировании, позволяя установить стандарты, проверить соответствие требованиям и подтвердить качество, что критически важно в условиях глобализации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования – личинки большой пчелинной огневки БПО (*G. mellonella* L.). Культуру большой пчелинной огневки приобрели у исследовательской лаборатории ЧП «Biotoptek». Работу проводили в лабораторных условиях Таш ГАУ. Личинки *G. mellonella* L. содержали в климатических боксах при температуре от 30 до 35 С и относительной влажности 65-90% в полной темноте в контейнерах и садках различной емкости. Исследования выполняли согласно известной технологии (Мирзалиева Х.Р. «Биологический метод борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур» Таш СХИ, учебное пособие, 1986 г.54 стр.)[7];(Коновалов Т.В.2011, с156-178)[2]. Исследованы аналоги: пат. СССР № 3662964/30-15. (Шагов Е.М и др.)[5] и Патент RU 2210210С1 (Исмаилов В.Я.и др.)[6]

Повторность опыта 3-кратная, размещали личинок большой восковой огневки по 100 штук в одинаковых абиотических условиях (влажность,





AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIKLAR KARANTINI

температура, свет) в противни размером 10x18 x5 см (вес 20,2 гр) Взвешивание садков с личинками проводилось каждые три дня на электронных весах с учетом погрешности на испарение. Садки с БПО содержали в климбоксе BOXUN (ВХУ-1501) с авто поддержанием температуры в пределах 25-40°С и относительной влажности 60-90%, светоподача 12: 12.

При оценке эффективности использования ИПС сред учитывались следующие показатели(7):

1. измерение температуры воздуха и относительной влажности в климбоксе считывались 1 раз в 24 часа

2. Подсчет количества личинок, смертность и вес фиксировались на 4 и 7 стадии линьки (на 15-20 и 22-27 день развития от яйца).

3. Визуально определялся (в %) степень поедания питательной среды, для точного определения интервала подачи пищи между приемами.

4. Стерилизацию ИПС проводили в автоклаве ВК-75-01 в режиме 120°С, 2,5 атм., а ферментацию питательной среды проводили, также, в жаропечи (WGL-230В) в режиме 30-35°С.

РЕЗУЛЬТАТ И ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе исследований, мы определили, что мерва является необходимым компонентом питательной среды в первые периоды жизни личинок БПО. Мерва как природный компонент, содержащий, как белковую, так и элементную базу жизненно важных соединений калия и фосфора, в то же время сохраняет структурность, рыхлость субстрата для передвижения личинок, однако в дальнейшем с переходом личинок в фазу 5-7 возрастов не играет существенной роли и становится балластом, в этот период приобретают важность компонентов с высоким содержанием углеводов. Учитывая эту особенность, технология кормления БПО постепенно трансформировалась нами в 2-х фазную, то есть первая фаза до 3-4 возраста личинок с упором на белковую компоненту (мерва, пшеничная мука, дрожжи), и вторая фаза 5-7 возрастов, с преобладанием углеводов (кукурузная мука, кукурузная патока).Также, немаловажную роль приобретает в общей технологии культивирования БПО, технологичность сбора личинок 6-7 возраста, чему способствует компонентность 2-ой фазы кормления, когда углеводистая пища и структуры сохраняющие компоненты (кукурузная мука, пшеничные отруби) способствуют образованию мелких не сцепленных структур продуктов жизнедеятельности, что существенно упрощает сбор и калибровку личинок последних возрастов.

Учитывая эти особенности нами разработан 2-х фазный метод культивирования БПО, где основу составляют две разнонаправленные питательные среды с упором на белковую и углеводную составляющие. Первая среда для маточного разведения личинок 1-4 возраста с



AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIKLAR KARANTINI

соответствующими особенностями устройств и вторая среда для садового разведения ориентированная на технологичность сбора личинок 5-7 возрастов. Приведем некоторые важные описания компонентов сред(Morales-Corts R.,2010; Величко Н.А.,2012.)[17,1]

Таблица 1

Питательная среда для маточного разведения

Ингредиент	Вес (г)	Белки (г)	Жиры (г)	Углеводы (г)
Мерва	200	~20.0	~24.0	~10.0
Кук.патока	200	0.0	0.0	~154.0
Кук. мука	300	46194	46176	210.0
Жир (внутри)	35	0.0	34.8	0.0
Пш. мука	200	46193	46175	141.0
Маргарин	50	0.1	41.0	0.3
Дрожжи	15	46209	0.2	36557
ИТОГО	1000	69.0	106.2	517.3

Таблица 2

Питательная среда для садового разведения

Ингредиент	Вес (г)	Белки (г)	Жиры (г)	Углеводы (г)
Мерва	400	46262	46238	280.0
Кук.патока	200	46193	46175	141.0
Кук. мука	200	0.0	0.0	154.0
Жир (внутри)	100	15.0	36617	53.0
Пш. мука	15	46209	0.2	36557
Маргарин	35	0.0	34.8	0.0
Дрожжи	50	0.1	41.0	0.3
ИТОГО	1000	71.2	87.4	630.3

Первая фаза культивирования БПО. Модель оптимизации для параметров питательной среды для маточного культивирования в системе 2-х фазной технологии питания БПО, были проведены ряд опытов на основе математического планирования экспериментов уравнения регрессии 2-го порядка, был выполнен центральный композиционный план (ЦКП-эксперимент №1), с 4 реперными точками (опыты 10,11,12,13). Температура среды поддерживалась в пределах 33-35°C, влажность 70-90%. План эксперимента и его результаты приведены в табл№1. Каждый опыт был реализован в 3-х повторностях, первый отклик-средний вес, фиксировался на 10 гус (4 возраста),второй-средняя смертность на 100 гус (4 возраста).



AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIKAR KARANTINI

Таблица 3

№ Опыта	Мерва	Дрожжи	Средний вес лич.(мг)	Средняя смертность лич.(%)
1	100,00	30,00	12,20	9,33
2	300,00	30,00	22,90	0,67
3	100,00	90,00	19,10	10,33
4	300,00	90,00	23,03	0,33
5	100,00	60,00	18,07	9,33
6	300,00	60,00	20,10	2,67
7	200,00	30,00	21,27	3,33
8	200,00	90,00	22,10	1,67
9	200,00	60,00	22,10	1,67
10	32,00	60,00	10,17	12,33
11	368,00	60,00	23,27	0,33
12	200,00	10,00	20,10	2,67
13	200,00	110,00	23,17	0,67
14	200,00	60,00	22,13	2,00
15	200,00	60,00	21,90	1,67
16	200,00	60,00	22,10	2,00
17	200,00	60,00	22,03	1,67

В результате получены 2-е модели:

$$Y_1 = 22,10 + 4,27X_1 + 1,10X_2 - 2,87X_1^2 - 0,32X_2^2 + 0,50X_1X_2$$

$$Y_2 = 1,83 - 2,73X_1 - 0,44X_2 + 1,87X_1^2 + 0,57X_2^2 - 0,27X_1X_2$$

где Y_1 - отклик по весу гусениц, Y_2 - по смертности. $R^2(\text{вес}) \approx 0,97$; $R^2(\text{смертность}) \approx 0,94$ — модели адекватные, при 5% допустимой смертности гусениц БПО, область оптимума в пересчете в натуральные значения (г/кг) выглядят следующим образом:



AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIKLAR KARANTINI

Фактор	Формула	Оптимум
Мерва	$200+100 \cdot X_1$	265-285
Дрожжи	$60+30 \cdot X_2$	72-81

средняя точка оптимума для мервы - 275 г\кг, дрожжи - 76 г\кг, при этом прогнозируемый вес равен 23,2 мг(для 4 возраста), прогнозируемая смертность - 0,5-1,0% (на каждые 100 гус). Так как оба показателя, вес и смертность личинок БПО достаточно показательны и сопоставимы, мы решили выразить их через обобщенную унифицированную функцию U, для этого нормируем их размах по данным эксперимента №1.

Отклик	Min	Max	Размах
Вес (мг)	10,17	23,27	13,10
Смертность(%)	0,33	12,33	12,00

$$\text{Норм.Вес} = \frac{\text{Вес} - 10,17}{13,10},$$

$$\text{Норм.Смертность} = 1 - \frac{\text{Смертность} - 0,33}{12,00},$$

условно зададим веса : для веса гус.БПО = 1,0 и для смертности = 0,7, отсюда $U = 1,0 \cdot \text{Норм.вес} + 0,7 \cdot \text{норм.смертность}$, при этом MAX U - это наилучший компромисс, данные приведены в табл. №4.

Таблица 4

№ опыта	Мерва	Дрожжи	Ср.вес	Ср.смерт	U
1	100	30	0.155	0.083	0.213
2	300	30	0.972	0.972	1.652
3	100	90	0.682	0.000	0.682
4	300	90	0.982	1.000	1.682
5	100	60	0.603	0.083	0.661
6	300	60	0.758	0.805	1.322



AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIK KARANTINI

7	200	30	0.847	0.750	1.372
8	200	90	0.911	0.889	1.533
9	200	60	0.911	0.889	1.533
10	32	60	0.000	0.000	0.000
11	368	60	1.000	1.000	1.700
12	200	10	0.758	0.805	1.322
13	200	110	0.992	0.972	1.672
14	200	60	0.913	0.861	1.516
15	200	60	0.895	0.889	1.517
16	200	60	0.911	0.861	1.514
17	200	60	0.905	0.889	1.519

отсюда, модель в кодированном виде выглядит так,

$$U = 1.515 + 0,531X_1 + 0,103X_2 - 0,362X_1^2 - 0,046X_2^2 + 0,29X_1X_2$$

$R^2=0,97$; $R^2(\text{скорр})=0,95$; ст.ошибка=0,06, модель адекватна. Находим оптимум по обобщенной функции полезности U:

$$\frac{\partial U}{\partial X_1} = 0,531 - 0,724 \cdot X_1 + 0,029 \cdot X_2 = 0$$

$$\frac{\partial U}{\partial X_2} = 0,103 - 0,092 \cdot X_2 + 0,029 \cdot X_1 = 0$$

решение системы

параметр	кодирование	натуральное (гр\кг)
X_1 (мерва)	0,73	$200+100*0,73=273$
X_2 (дрожжи)	0,60	$60+30*0,60=78$

макс $U=1,67$, при это прогнозируемый вес=23,1мг, смертность=0,9%. Итого уравнение регрессии в натуральном масштабе выглядит:

$$U(MD) = -4,93 + 0,0315M + 0,0985D - 0,0000362M^2 - 0,0000511D^2 + 0,0000097MD$$



AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIKLAR KARANTINI

уравнение работает в диапазоне $M=32-368, D=10-110$.

Дисперсионный анализ модели маточной питательной среды 1-ой фазы культивирования БПО. Расчеты проводили через программу ANOVA.

Источник	SS	df	MS	F	p-value
Модель	4,8136	5	0,9627	84,23	< 0.0001
Регрессия	4,8136	5	0,9627	84,23	<0,0001
Остаток	0,1257	11	0,01143	-	-
-Неадек-ть	0,1129	6	0,01882	7,35	0,220 (н.з.)
-чистая ошибка	0,0128	5	0,00256	-	-
Итого	4,9393	16	-	-	-

Сделаем выводы:

- F-критерий модели = 84,23 (критическое $F_{0.05;5;11} \approx 3,20$) → модель высоко значима.
- Тест на адекватность (неадекватность): $p = 0,22 > 0,05$ → модель адекватна (нет систематического отклонения).
- Чистая ошибка (повторы в центре: опыты 14–17) мала — хорошая воспроизводимость.

Коэффициенты регрессии и t-критерии

Член	Коэфф	Ст.ошибка	t-стат.	p-value	Значимость
$b_0(\text{конст})$	1,515	0,042	36,07	<0,0001	***
$b_1(\text{мерва}, X_1)$	0,531	0,033	16,09	<0,0001	***
$b_2(\text{дрожжи}, X_2)$	0,103	0,033	3,12	0,0098	**
$b_{11}(X_1^2)$	-0,362	0,035	-10,34	<0,0001	***
$b_{22}(X_2^2)$	-0,046	0,035	-1,31	0,215	н.з.
$b_{12}(X_2 * X_1)$	0,029	0,041	0,71	0,495	н.з.

*** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; н.з.-незначимо



AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIKLAR KARANTINI

Выводы по t-критериям:

- Мерва (линейный и квадратичный) — очень сильное влияние.
- Дрожжи (линейный) — значим, квадратичный член — нет (значит, зависимость от дрожжей близка к линейной в изученном диапазоне).
- Взаимодействие мерва-дрожжи — незначимо (эффекты аддитивны).

Вторая фаза культивирования БПО. Нами экспериментально определено, что начиная с 4-5 возраста характер питания гусениц БПО сильно зависит от углеводно-белковой составляющей и температуры среды культивирования. Для изучения взаимосвязи влияния компонентов внутри среды и ее взаимодействия с абиотическими факторами внешней среды, в частности, температуры в камере/садке культивирования, мы поставили эксперимент по оптимизации на основе мат.планирования согласно плану Бокса-Бенкина с 3-я факторами на 3-х уровнях варьирования и 2-я откликами. План в кодированном виде и усредненные данные по откликам при ведены в табл.№3. Обработаем полученные данные. Для начала усредним данные 15 опытов.

Отклик	Min	Max	Размах
Вес (мг)	0,387	0,503	0,116
Продол-сть(дн)	21,3	38,3	17,0

Направление оптимизации идет по типу восхождения на фактор веса личинок и нисхождения на фактор продолжительности развития:

$$\text{Норм.Вес} = \frac{\text{Вес} - 0,387}{0,116}$$

$$\text{Норм.Дни} = 1 - \frac{\text{Дни} - 21,3}{17,0}$$



AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIK KARANTINI

Таблица 5

№	X1	X2	X3	вес(мг)	ср.вес (мг)	продол (дн)	ср.прод-ол (дн)
1	-1	-1	0	0,41	0,403	38	38,3
				0,41		38	
				0,39		39	
2	1	-1	0	0,39	0,393	26	27,0
				0,39		28	
				0,40		27	
3	-1	1	0	0,51	0,483	24	23,7
				0,47		22	
				0,47		25	
4	1	1	0	0,51	0,503	20	21,3
				0,52		22	
				0,48		22	
5	-1	0	-1	0,39	0,407	39	37,7
				0,42		37	
				0,41		37	
6	1	0	-1	0,45	0,427	35	35,3
				0,42		36	
				0,41		35	
7	0	0	1	0,44	0,427	24	24,7
				0,44		25	
				0,40		25	
8	0	0	1	0,49	0,477	26	25,0
				0,48		24	
				0,46		25	
9	0	-1	-1	0,37	0,387	37	37,7



AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIKLAR KARANTINI

				0,38		39	
				0,41		37	
10	0	1	-1	0,44	0,433	34	34,3
				0,45		34	
				0,41		35	
11	0	-1	1	0,40	0,407	27	27,0
				0,40		27	
				0,42		27	
12	0	1	1	0,45	0,457	25	26,3
				0,46		26	
				0,46		28	
13	0	0	0	0,52	0,490	25	24,7
				0,47		24	
				0,48		25	
14	0	0	0	0,47	0,483	24	24,7
				0,48		25	
				0,50		24	
15	0	0	0	0,49	0,483	25	25,7
				0,48		25	
				0,48		27	



AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIK KARANTINI

Затем введем обобщенный показатель U по весу и продолжительности с равными весами 0,5/0,5. $U=0,5*\text{н.вес}+0,5*\text{н.дни}$. Рассчитаем значения U для 15 опытов табл. №6.

Таблица 6

№	X1	X2	X3	н.вес	н.дни	U
1	-1	-1	0	0.138	0.000	0.069
2	1	-1	0	0.052	0.665	0.358
3	-1	1	0	0.828	0.859	0.844
4	1	1	0	1.000	1.000	1.000
5	-1	0	-1	0.172	0.035	0.104
6	1	0	-1	0.345	0.176	0.261
7	0	0	1	0.345	0.800	0.573
8	0	0	1	0.776	0.782	0.779
9	0	-1	-1	0.000	0.035	0.018
10	0	1	-1	0.397	0.235	0.316
11	0	-1	1	0.172	0.665	0.419
12	0	1	1	0.603	0.706	0.655
13	0	0	0	0.888	0.800	0.844
14	0	0	0	0.828	0.800	0.814
15	0	0	0	0.828	0.741	0.785

уравнение регрессии в кодированном виде

$$U = 0.814 + 0.110 X_1 + 0.219 X_2 - 0.345 X_3 - 0.130 X_1^2 - 0.148 X_2^2 - 0.092 X_3^2 - 0.012 X_1 X_2 - 0.041 X_1 X_3 - 0.039 X_2 X_3$$

после пересчета из кодированных коэффициентов ($X_1=(M-350)/100$, $X_2=(S-200)/100$, $X_3=(T-30)/5$) уравнение регрессии $U(M,S,T)$ в натуральном масштабе выглядит:

$$U(M,S,T) = -6,0067 + 0,01771 M + 0,03020 S + 0,18399 T - 0,000130 M^2 - 0,0001483 S^2 - 0,003678 T^2 - 0,0000123 MS - 0,000164 MT - 0,000782 ST$$





AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIK KARANTINI

Статистический анализ модели №2 для садового разведения.

Показатель	Значение
R^2	0,95
R^2 (скорр)	0,90
F-модели	19,4
p-value	<0,001
Адекватность(p)	0,35(н.з.)

как видим модель высоко значима и адекватна.

t-критерии для коэффициентов модели:

Член	Коэфф.	Ст.ошибка	t-стат	p-value	Значимость
b_0	0,814	0,031	26,3	0,001	***
$b_1(X_1)$	0,110	0,019	5,79	0,001	***
$b_2(X_2)$	0,219	0,019	11,5	0,001	***
$b_3(X_3)$	0,345	0,019	18,2	0,001	***
b_{11}	-0,130	0,028	-4,64	0,002	**
b_{22}	-0,148	0,028	-5,29	0,001	**
b_{33}	-0,092	0,028	-3,29	0,013	*

*** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$ - незначимо.

Таким образом, все три фактора (кук.мука, суммарный углеводный фактор, температура) - высокозначимы линейно; квадратичные члены значимы - есть оптимум внутри диапазона; парные взаимодействия незначимы (на уровне $\alpha = 0,05$) - эффекты аддитивны.

ВЫВОДЫ

Итоговая схема двухфазного кормления выглядит следующим образом. На первом этапе, начиная от момента отрождения личинок БПО до 4 возраста используется ИПС №1, температуру и влажность среды поддерживают на уровне 30-32° С, 60-75%. затем биоматериал переводят на кормление ИПС №2 до 6-7 возраста постепенно изменяя условия до 33-35°С, 75-90% и начинают сбор личинок. Прогноз для личинок 6-7 возраста 0,51 мг, на период 22-23 дня. Компоненты сред указаны в таблице ниже.





AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIKLAR KARANTINI

ИПС №1 фаза 1(возр. лич 1-4)⇒		ИПС №2 фаза 2 (возр. лич 5-7)	
компонент	количество(г/кг)	компонент	количество(г/кг)
мерва (slumgum)	273	кук.мука	390
дрожжи	78	пш.мука	137
кук.патока	150	кук.патока	137
кук.мука	250	пш.отруби	100
пш.мука	200	маргарин	35
пш.отруби	70	жир внутр	35
маргарин	35	дрожжи	78
жир внутр.	35	мерва (slumgum)	0

Следующим этапом программы вычислений данного направления работы является построение графических моделей и интерпретация результатов на основе достижений искусственного интеллекта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Величко Н.А. Мерва пасечная как ингредиент напитков. Вестник КрасГАУ 2012, №5, стр 363-366
2. Коновалова Т.В. Методические рекомендации по лабораторному содержанию и разведению большой восковой огневки *Galleria mellonella* L. // Современные средства и методы обеспечения ветеринарного благополучия по инфекционной и протозойной патологии животных, рыб и пчел: сб. статей. М.: Агентство творческих технологий, 2011. С. 156-178.
3. Ивона Войда ,Бернард Станиек , Михал Сулек , Якуб Кордачук 2020, Большая восковая моль *Galleria mellonella* : биология и применение в иммунологических исследованиях. *Патогены и болезни* , том 78, выпуск 9, декабрь 2020 г.
5. Шагов Е.М., Уланова Г.И., Асланян Е.М Искусственный корм для большой вощинной пчелиной огневки: пат. СССР № 3662964/30-15
6. Исмаилов В.Я., Ж.А. Ширинян Ж.А., О.И. Квасенков О.И..Способ разведения *Galleria mellonella* L. Патент RU 2210210C1
7. Мирзалиева Х.Р. «Биологический метод борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур» (Таш СХИ, учебное пособие, 1986 г.54 стр.)



8. Ulrike Binder, Elisabeth Maurer, Cornelia Lass-Flörl *Galleria mellonella*: An invertebrate model to study pathogenicity in correctly defined fungal species, *Fungal Biology*, February 2016
9. Kwadha CA, Ong'amo GO, Ndegwa P et al. The biology and control of the greater wax moth, *Galleria mellonella* *Insects*. 2017;8:61
10. Lionakis MS. *Drosophila* and *Galleria* insect model hosts: new tools for the study of fungal virulence, pharmacology and immunology. *Virulence*. 2011;6:521-7.
11. Pereira TC, de Barros PP, Fugisaki LRO et al. Recent advances in the use of *Galleria mellonella* model to study immune responses against human pathogen. *J Fungi (Basel)*. 2018;4:pii: E128.
12. Lionakis MS. *Drosophila* and *Galleria* insect model hosts: new tools for the study of fungal virulence, pharmacology and immunology. *Virulence*. 2011;6:521-7.
13. Pereira TC, de Barros PP, Fugisaki LRO et al. Recent advances in the use of *Galleria mellonella* model to study immune responses against human pathogen. *J Fungi (Basel)*. 2018;4:pii: E128.
14. Wedde M, Weise C, Nuck R et al. The insect metalloproteinase inhibitor gene of the lepidopteran *Galleria mellonella* encodes two distinct inhibitors *Biol Chem*. 2007;388:119-27
15. Wedde M, Weise C, Kopacek P et al. Purification and characterization of an inducible metalloprotease inhibitor from the hemolymph of greater wax moth larvae, *Galleria mellonella* *Eur J Biochem*. 1998;255:535-43
16. Vilcinskas A, Wedde M. Insect inhibitors of metalloproteinases. *IUBMB Life*. 2002;54:339-43.
17. R. Morales-Corts, M. A. Gómez-Sánchez, R. Pérez-Sánchez¹ and C. Prieto-Calvo Characterization of beekeeping wastes for using in seedling production. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2010 8(2), 493-500
18. Marston N., Campbell B. Comparison of nine diets for rearing *Galleria mellonella* // *Annals of the Entomological Society of America*. - 1973. - T. 66. - C. 132-136.