

Полярно-альпийский ботанический сад-институт
им. Н. А. Аврорина
Федерального исследовательского центра
Кольского научного центра Российской академии наук

Н.С.Рак, С.В.Литвинова, Н.С.Кожевникова

**ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ
РЕГЛАМЕНТ
НА ПРОИЗВОДСТВО**

**ХИБИНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ СЕМИТОЧЕЧНОЙ КОРОВКИ
COCCINELLA SEPTEMPUNCTATA L.
(COLEOPTERA, COCCINELLIDAE)**

Апатиты
2022

Полярно-альпийский ботанический сад - институт
им. Н.А.Аврорина
Федерального исследовательского центра
Кольского научного центра Российской академии наук

**ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ РЕГЛАМЕНТ
НА ПРОИЗВОДСТВО
ХИБИНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ СЕМИТОЧЕЧНОЙ КОРОВКИ
COCCINELLA SEPTEMPUNCTATA L.
(COLEOPTERA, COCCINELLIDAE)**

Апатиты
2022

Печатается по рекомендации ученого совета
Полярно-альпийский ботанический сад-институт им. Н.А.Аврорина
Федерального исследовательского центра Кольского научного центра
Российской академии наук

УДК 631.5:635.21
Р 19

Редактор - к. б. н. Е. Ю. Полоскова

Рак, Н. С.

Р 19 Технологический регламент на производство Хибинской популяции семиточечной коровки *Coccinella septempunctata* L./ Н.С.Рак, С.В.Литвинова, Н.С. Кожевникова - Апатиты: ФИЦ КНЦ РАН, 2022. – 15 с.

Методические указания предназначены для специалистов биологических лабораторий, занимающихся вопросами разведения и использования энтомофагов против вредителей в защищенном грунте.

Исследования выполнены в соответствии с планами НИР.

Тема: «Коллекционные фонды ПАБСИ как основа сохранения биоразнообразия, развития биотехнологий, оптимизации условий городской среды, фитореабилитации и экологического образования» (№ 0229-2016-0001)

Раздел: «Разработка зональной экологически обоснованной системы биологической защиты оранжевых растений от вредителей и болезней».

Работа выполнена на Уникальной научной установке «Инсектарий Полярно-альпийского ботанического сада-института», рег. № 588532»

Регламент одобрен и рекомендован ученым советом ПАБСИ (27.09.2022г.)

УДК 631.5:635.21

© Рак Н. С., Литвинова С. В., Карионова Л. В., 2022
© Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Полярно-альпийский ботанический сад-институт им. Н.А. Аврорина КНЦ РАН, 2022

ВВЕДЕНИЕ

Настоящий технологический регламент составлен на производство хибинской популяции семиточечной коровки - *Coccinella septempunctata* L., (Coleoptera, Coccinellidae) для биологической защиты оранжерейных растений от вредителей и основан на лабораторных опытах разведения этого энтомофага в инсектарии Полярно-альпийского ботанического сада.

Исходно популяция семиточечной коровки была заложена в 2017 году от сбора жуков с двух площадок ПАБСИ: г. Кировск (питомники), г. Апатиты (дендрарий, школа). Путем искусственного отбора сформирована маточная культура энтомофага. В лабораторных условиях семиточечная коровка способна размножаться в течение года без диапаузы. Жуки обладают высокой плодовитостью. Имаго и личинки пластичны, прожорливы, питаются различными видами тлей, личинками трипсов.

Разработанный нами метод массового разведения семиточечной коровки является доступным, позволяет круглый год поддерживать маточную культуру и нарабатывать в достаточном количестве биоматериал для защиты растений от вредителей в оранжереях Полярно-альпийского ботанического сада. Метод не требует применения дорогостоящего оборудования, является экологически чистым.

1. ХАРАКТЕРИСТИКА КОНЕЧНОГО ПРОДУКТА ПРОИЗВОДСТВА

Продуктом производства являются личинки III-IV возраста и имаго семиточечной коровки, предназначенные для борьбы с вредителями на декоративных, цветочных и овощных культурах в защищенном грунте. По морфологическим и биологическим показателям получаемый биоматериал соответствует требованиям, указанным в табл. 1.

Таблица 1

Морфологические и биологические показатели семиточечной коровки
(*Coccinella septempunctata*)

Показатель	Регламентируемые требования к качеству
Внешний вид и цвет	Жуки длиной 6.5-8.0, шириной 3.5-5.0 мм. Надкрылья у жука красные с семью черными точками. Личинка удлинённо-овальная, серого или голубовато-серого цвета, с оранжевыми пятнами. Длина тела 10-12 мм
Половой индекс	0.5-0.7
Плодовитость суточная при $t = 22 \pm 1^\circ\text{C}$	30-50 яиц/самка
Плодовитость общая (за 90 суток) при $t = 22 \pm 1^\circ\text{C}$	2000-3500 яиц/самка
Продолжительность жизни имаго при $t = 22 \pm 1^\circ\text{C}$	80-100 суток
Продолжительность преимагинального развития при $t = 22 \pm 1^\circ\text{C}$ при $t = 15 \pm 2^\circ\text{C}$	15-17 суток 20-22 суток
Отрождение жуков от числа яиц, %	52
Прожорливость личинок (III-IV возраста) при питании бобовой тлей при $t = 22 \pm 1^\circ\text{C}$	150-300 особей на личинку за сутки
Прожорливость жуков при питании бобовой тлей при $t = 22 \pm 1^\circ\text{C}$	100-250 особей на личинку за сутки

Семиточечная коровка в лабораторных условиях, при температуре 22 ± 1 °С и влажности воздуха 50-60 % с дополнительным искусственным освещением, развивается в течение года без диапаузы в 10 поколениях.

Наработанный материал (жуки) размещают в емкости разного размера в зависимости от количества биоматериала (в расчете 50 особей коровок на 0.5 л) сверху покрывают тюль-органзой.

Личинки семиточечной коровки на срезанных проростках бобов, заселенных тлями, помещают в емкости (в расчете ~ 50 особей на 0.5 л), на дно которых укладывают слегка увлажненную фильтровальную бумагу для поддержания влажности воздуха и сверху покрывают тюль-органзой.

На каждую упаковку (емкость) наклеивают этикетку, в которой указывают:

- ✓ наименование организации-изготовителя;
- ✓ наименование энтомофага;
- ✓ номер партии;
- ✓ дата;
- ✓ количество упаковок в партии;
- ✓ количество фасовок в упаковке;
- ✓ количество особей энтомофага в единице фасовки;
- ✓ условия и сроки хранения.

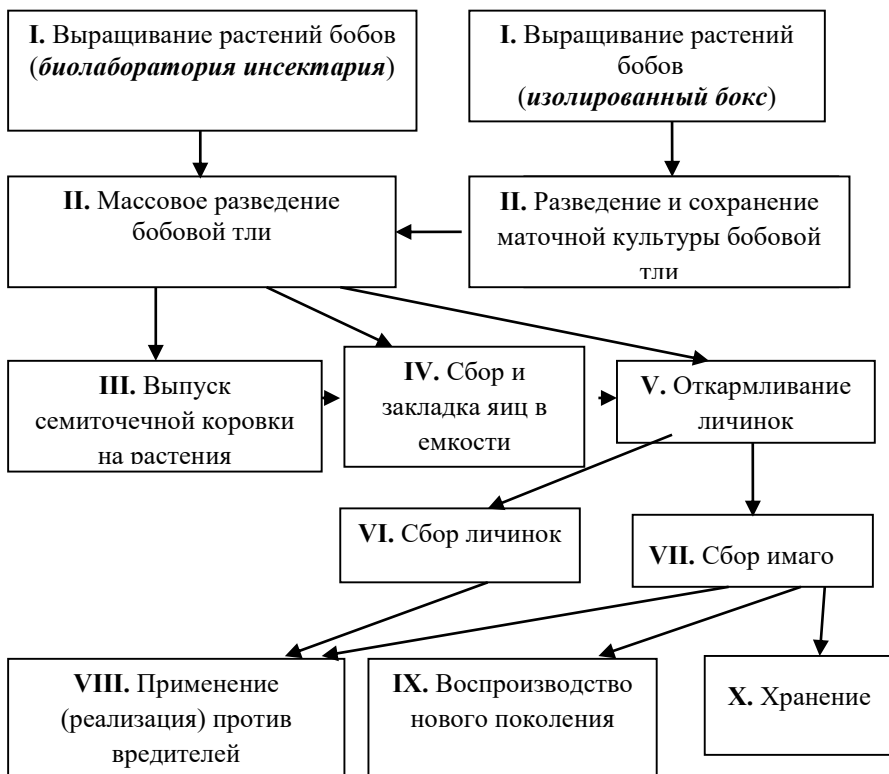
Биоматериал можно транспортировать любым видом транспорта с предохранением от атмосферных осадков, прямых солнечных лучей при температуре 20 ± 5 °С. Нельзя подвергать биоматериал рентгеновскому облучению при досмотре багажа при перевозке авиатранспортом.

Маточную культуру хибинской популяции семиточечной коровки для массового производства можно приобрести в инсектарии Полярно-альпийского ботанического сада-института (ПАБСИ).

184256 Мурманская область, г. Кировск-6, Ботанический сад, Инсектарий.

Заказ по e-mail: pabgi@ksc.ru, тел. 8-81555-6-33-50, fax 81555-79-448

2. ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ СХЕМА СОДЕРЖАНИЯ И ПРОИЗВОДСТВА В ПАБСИ



3. СЫРЬЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для производства (массового разведения) семиточечной коровки используют следующие сырье и материалы:

- ✓ маточную культуру семиточечной коровки;
- ✓ маточные культуры *Aphis fabae* Scop. (бобовая тля);
- ✓ семена бобов;
- ✓ земляную смесь, для выращивания кормовых растений;
- ✓ речной песок;

- ✓ емкости для выращивания растений;
- ✓ полиэтиленовые емкости (ведра) для выкармливания личинок и имаго, объемом 5, 12, 15 л;
- ✓ стеклянные аквариумы, объемом 20, 30, 40 л;
- ✓ минеральные удобрения;
- ✓ бумагу фильтровальную (лигнин) по ГОСТ 12026-76;
- ✓ вату медицинскую гигроскопическую, марлю;
- ✓ тонкий поролон для изготовления цветочков;
- ✓ стеклянные или пластмассовые чашки Петри;
- ✓ бязь, марля; тюль-органза;
- ✓ резинку для укуповивания емкостей;
- ✓ пинцеты, иглы препаровальные, волосяные кисточки;
- ✓ бумага писчая;
- ✓ сахар, мед, цветочная пыльца;
- ✓ пластиковые емкости 0.5, 1.0 л для упаковки биоматериала.

4. ПРОИЗВОДСТВЕННЫЕ ПОМЕЩЕНИЯ И ОБОРУДОВАНИЕ

Для содержания и сохранения маточной культуры семиточечной коровки необходимы следующие помещения:

- ✓ для выращивания растений-бобов и накопления на них тлей (5-10 м²);
- ✓ помещение с дополнительным освещением для содержания имаго и личинок в садках (30 – 40 м²);
- ✓ лаборантская комната с микроскопом;
- ✓ для подготовки и хранения почвенного грунта, песка (не менее 20 м²);
- ✓ моечная (10-15 м²).

Для производства и массового разведения семиточечной коровки используют следующее оборудование:

- ✓ 2-х ярусные стеллажи с полезной площадью 10 м²;
- ✓ аквариумы (садки) для содержания маточной культуры семиточечной коровки размером 25x35x40, 30x30x50 см – 10 шт.;
- ✓ емкости для разведения семиточечной коровки пластиковые

- ✓ прозрачные круглые ведра объемом 12, 15 л, - 50 шт.;
- ✓ холодильные шкафы или холодильники бытовые, с объемом холодильной камеры 1000см³ (1 шт.);
- ✓ весы лабораторные ВЛКТ-500;
- ✓ бинокляр МБС-11 - 2 шт.;
- ✓ лупы;
- ✓ лампы дневного света по 40 W;
- ✓ лампы ДРЛФ-400;
- ✓ контактный термометр – 10 шт.;
- ✓ увлажнители воздуха;
- ✓ пульверизатор для увлажнения песка в садках и емкостях - 5 шт.;
- ✓ термограф недельный - 2 шт.;
- ✓ гигрограф недельный - 2 шт.;
- ✓ обогреватели бытовые электрические - 2 шт.;
- ✓ стол - мойка - 1 шт.;
- ✓ столы лабораторные - 2 шт.;
- ✓ инструменты (лопата, грабли, лейки, ведра, шланги, веники).

5. ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

Для разведения культуры семиточечной коровки рекомендуем использовать в качестве корма бобовую тлю.

Технологический процесс разведения жуков состоит из трех этапов:

1. выращивание кормовых растений;
2. разведение тлей;
3. разведение семиточечной коровки.

5.1. Выращивание кормовых растений

В качестве кормовых растений для размножения тлей используют бобы, которые выращивают при температуре 18-25 °С и относительной влажности воздуха от 60-80 % при круглосуточном освещении.

Для этих целей можно использовать любой сорт бобов с высокой всхожестью семян (не ниже 90%). Семена высевают сухими в кюветы на глубину 0,5 см в субстрат, состоящий из земли, песка (2:1). Расход семян бобов составляет 350-400 штук на 1м². Выращивание растений осуществляют по типу "зеленого конвейера". Посев проводят через день, чтобы постоянно иметь молодые зеленые растения бобов.

5.2. Разведение тлей

Разведение тли проводят в изолированном боксе и в биолaborатории инсектария при температуре 18-25 °С, относительной влажности 60-80 % и при круглосуточном освещении. Залогом успеха является изолированный маточник с высокой численностью тлей.

Бобы высевают в кюветы, площадью 130 см², слой грунта 6-8 см. Когда проростки достигнут высоты 2-3 см, их заселяют бобовой тлей. Через 3-5 суток высота проростков достигает 5-10 см с численностью тли от 290-300 особей на 1 растение. Такие растения используют для содержания жуков, получения яйцекладок семиточечной коровки, выкармливания личинок до образования куколок.

5.3 Разведение семиточечной коровки

Разведение семиточечной коровки проводят при температуре 18-25°С, относительной влажности 60-80 % и при круглосуточном освещении.

Технология разведения семиточечной коровки включает циклически повторяющиеся этапы:

- ✓ выпуск семиточечной коровки на растения, заселенные бобовой тлей;
- ✓ сбор яиц семиточечной коровки;
- ✓ откармливание личинок до куколки.

5.3.1 Содержание имаго семиточечной коровки и получение яиц

Имаго, 30-35 особей, вылетевших из куколок в течение одних суток, содержат в стеклянных аквариумах размером 25x35x40, 30x30x50 см, сверху затянутых тюль-органзой. Предлагают корм (бобовая тля) в избытке и как дополнительный корм (ставят поролоновый цветочек, смоченный 10 % раствором меда с цветочной пылью, или кладут кусочек сахара). В садки устанавливают кюветы (10x13 см) с проростками бобов, высотой 6-8 см с высокой плотностью заселения тлями, более 300 ос./проросток. Для откладки яиц раскладывают бумажную черную «гармошку» размером 6x10 см и зеленые листья растений, свернутые в трубочку. Это упрощает сбор яйцепродукции. Сбор яиц с одного садка ведут в течение 60 суток после начала яйцекладки. Отложенные яйца на стенки садка и кюветы смывают.

5.3.2. Сбор и закладка яиц в емкости

Самки семиточечной коровки откладывают яйца всюду. Сбор яйцепродукции осуществляют ежедневно с разложенных зеленых листьев, с черной бумажной «гармошки» и с листьев растений бобов.

Яйцекладки переносят в садок (объемом 12-15 л), куда устанавливают кюветы с растениями бобов, заселенные тлями, где яйца инкубируются, развиваются личинки до окукливания и отрождаются жуки. Рекомендуем 80-100 яиц на кювет площадью 130 см² с проростками бобов (50 штук) высотой 5-10 см при плотности тлей 150-200 ос./проросток.

5.3.3. Выкармливание личинок и сбор имаго

В садке необходимо поддержание избыточной численности тлей в течение всего периода личиночной стадии семиточечной коровки. Для этого в садок добавляют корм в виде срезанных ростков бобов, заселенных тлей 280-300 ос./росток. Гибель личинок семиточечной коровки в результате каннибализма составляет 15-30 %. Период выкармливания длится 15-18 суток. Вылетевших в течение суток молодых жуков отсаживают в новые садки, часть используют для дальнейшего воспроизводства популяции, остальные передают на применение по назначению и реализацию.

5.3.4. Хранение

При необходимости (для сбора большой партии) возможно не длительное (в течение двух недель) хранение жуков с подкормкой (сахар) в холодильнике при температуре 10±1 °С.

6. ОТХОДЫ ПРОИЗВОДСТВА И СОДЕРЖАНИЕ ОБОРУДОВАНИЯ

Растительные остатки от выращивания бобов и выкармливания личинок компостируют. Садки, для содержания имаго и личинок, регулярно промывают проточной водой.

7. КОНТРОЛЬ ПРОИЗВОДСТВА И КАЧЕСТВА ГОТОВОЙ ПРОДУКЦИИ

7.1. Параметры, контролируемые при разведении

Таблица 2

Перечень контрольных точек производства

Наименование стадий производственного процесса, места измерения параметров или отбора проб	Контролируемый параметр	Регламентируемый норматив
1. Выращивание растений	Температура Влажность воздуха Освещенность Длина светового дня	18-25 °С 60-80 % 9000 лк круглосуточная
2. Разведение тлей 2.1. Заселение растений тлей	Высота растений бобов Количество тлей на росток Температура Влажность воздуха Освещенность Длина светового дня	5-10 см 280-300 особей 18-25 °С 60-80 % 9000 лк круглосуточная
3. Разведение семиточечной коровки 3.1. Внесение имаго в садок для получения яиц	Количество имаго Высота растений с колониями тлей Количество тлей на росток Температура Влажность воздуха Освещенность Длина светового дня	30-35 особей 5-10 см 300 особей 18-25 °С 60-80 % 9000 лк круглосуточная
3.2. Сбор и закладка яиц	Количество яиц Высота растений с колониями тлей Количество тлей на росток	80-100 шт. 5-10 см 150-200 особей

3.3.Откармливание личинок	Температура	18-25 °С
	Влажность воздуха	60-80 %
	Освещенность	9000 лк
	Длина светового дня	круглосуточная
	Высота растений с колониями тлей	7-10 см
	Количество тлей на росток	300 особей
	Температура	18-25 °С
	Влажность воздуха	60-80 %
	Освещенность	9000 лк
	Длина светового дня	круглосуточная
4. Хранение в холодильнике	Температура	10 °С
	Влажность воздуха	60-70 %
	Продолжительность	до 14 суток

7.2. Контроль качества биоматериала.

Тестирование всех показателей осуществляется не менее чем в трех одновременных повторностях с обязательной регистрацией результатов в рабочем журнале.

Половой индекс или соотношение полов определяют как долю самок в популяции и рассчитывают по формуле $i = f: (m+f)$, где i - половой индекс; f (female) - количество самок; m (male) - количество самцов в популяции. Точность определения полового индекса зависит от объема выборки, на основании которого его рассчитывают.

Прожорливость. В каждый садок с личинками III-IV возрастов и имаго помещают определенное количество тли. Через сутки подсчитывают количество особей тли, съеденных личинками и имаго. Тест проводят трижды.

Плодовитость. Для определения плодовитости, в садок с растениями бобов, заселенными тлей, отсаживают десятидневных молодых жуков во время спаривания (5 пар). Ежедневно учитывают отложенные яйца. Затем суммируют количество отложенных яиц и делят на количество самок в опыте. Тест проводят трижды.

Отрождаемость жуков от числа яиц. Отбирают суточные яйца (по 50 шт. в 4-5 повторностях) и помещают в садки с растениями бобов, заселенными тлей. Личинок выкармливают, предлагая бобовую тлю в избытке. После завершения преимагинального развития подсчитывают количество вылетевших имаго, рассчитывают отрождаемость жуков из числа отобранных яиц и выражают в процентах.

8. НОРМЫ РАСХОДА СЫРЬЯ И МАТЕРИАЛОВ

Таблица 4

Нормы расхода сырья и материалов на 100 жуков семиточечной коровки *C. septempunctata*

Наименование	Единицы измерения	Норма расхода
Маточная культура семиточечной коровки	шт. особей	100
Маточная культура тлей	шт. особей	20000
Семена бобов	кг	0.3
Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026-76	кг	0.15
Почвенный грунт	кг	1
Чашки Петри	шт.	10
Аквариумы	шт.	2
Пластмассовые емкости	шт.	10
Спирт этиловый ректификат	мл	100
Бумага писчая по ГОСТ 18510-87Е	кг	0.01
Тюль-органза	м	1.5

9. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ МАССОВОМ РАЗВЕДЕНИИ СЕМИТОЧЕЧНОЙ КОРОВКИ

Семиточечная коровка - специализированный хищник тлей, безопасен для человека, теплокровных животных.

При производстве энтомофагов в массовом количестве должны соблюдаться правила безопасности в соответствии Постановлением

Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 № 4 Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней" (вместе с "СанПиН 3.3686-21. Санитарные правила и нормы...")

Разведение энтомофагов ведется в инсектариях, небольших разводочных теплицах, или в изолированных боксах. Помещения оборудуются приточно-вытяжной вентиляцией и устройствами для естественной вентиляции (форточки, фрамуги, вентиляционные каналы) с сетками для предотвращения залета или вылета насекомых.

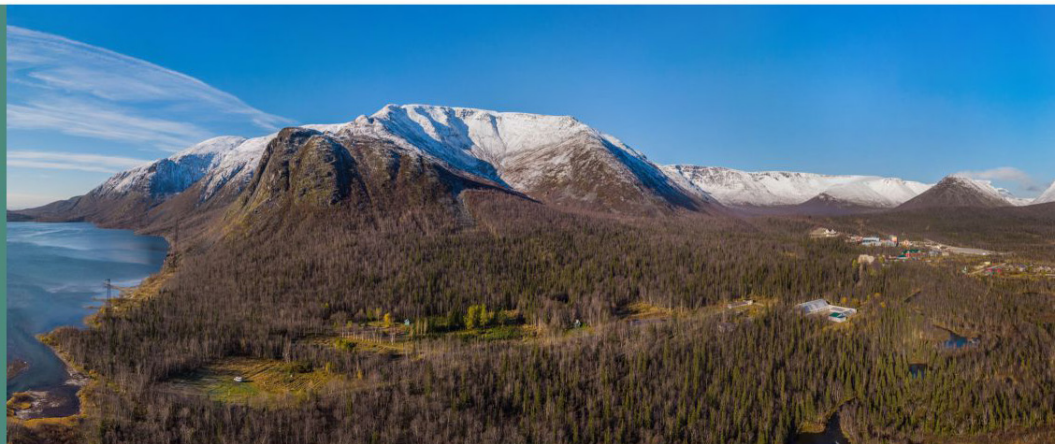
Сотрудники, выполняющие все операции по производству энтомофагов, должны иметь необходимую квалификацию или пройти специальное обучение в соответствии с их должностными обязанностями.

Работы по производству семиточечной коровки выполняются в специальной одежде с использованием средств индивидуальной защиты.

К работам не допускаются лица, с хроническими заболеваниями органов дыхания, зрения, кожи, склонные к аллергическим заболеваниям.

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
Введение	3
1. Характеристика конечного продукта производства и его транспортировка	3
2. Технологическая схема производства	6
3. Сырье и материалы	6
4. Оборудование	7
5. Описание технологического процесса	8
6. Отходы производства	10
7. Контроль производства и качества готовой продукции	10
8. Нормы расхода сырья и материалов на производство	13
9. Требования безопасности при массовом разведении	13



Полярно-альпийский ботанический сад-институт им. Н.А.Аврорина

Россия, 184256, Мурманская область, г. Кировск, ул. Ботанический сад
www.pabgi.ru