

ПРОИЗВОДСТВО ЭНТОМОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ТРИХОГРАММЫ

Валерий Дубровин, Геннадий Голуб, Олег Марус

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины
Украина, г. Киев, ул. Героев Обороны, 15

Аннотация. Биотехнологический процесс производства энтомологического препарата трихограммы состоит из операций, что касаются хозяина трихограммы: подготовка и заражение зерна; его увлажнение та перемешивание; загрузка в бокс; получение мотыльков и яиц зерновой моли; очистка и хранение яиц зерновой моли; утилизация отходов производства та операций, которые используют при разведении самой трихограммы: накатывание яиц зерновой моли; заражение их трихограммой; сбор та очищение зараженных яиц; определение качественных показателей препарату та его хранение. Использование современных методов та методик определения оптимальных конструкционно-технологических параметров калибратора позволит повысить качественные показатели энтомологического препарата трихограммы.

Ключевые слова: биотехнологический процесс, энтомологический препарат трихограмма, яйца зерновой моли, пневматический калибратор.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМЫ

Использование химических препаратов против вредителей сельскохозяйственных культур приводит к негативным последствиям для окружающей среды, а соответственно и для человека.

Использование энтомологических препаратов в защите растений, в том числе трихограммы, приводит к уменьшению использования химических средств защиты, что в свою очередь положительно влияет на качество самой продукции.

Но качество и эффективность трихограммы зависит от своевременного проведения обновления культуры, от применения операции гетерозиса, от необходимости введения культуры в диапаузу, а также и от качества яиц зерновой моли, а именно их чистоты, количества деформированных, а главное от их размеров.

Разведение трихограммы на крупных яйцах зерновой моли позволяет поддержать ее качественные показатели, а потому операция калибрования должна быть неотъемлемой частью биотехнологического процесса производства препарата.

Эта операция позволяет также уменьшить количество пасажування

трихограммы на яйцах природного энтомофага, которая является более трудоемкой операцией.

Одной из причин частичного отказа от применения препарата было то, что в биотехнологическом процессе производства трихограммы недостаточно внимания уделялось процессу производства яиц зерновой моли, качественные показатели которых влияют на энтомологический препарат.

АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОСЛЕДНИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Одним из первых кто предложил идею использовать паразитические организмы в борьбе с вредными насекомыми у 1879 г. был известный ученый Советского Союза И.И. Мечников [1].

Массовое применение трихограммы в борьбе с вредителями с.-х. культур в бывшем Советском Союзе начали с 1933 г. [2, 3], но до этих лет к биологической защите растений относились с недоверием.

Трихограмма - это мелкие насекомые длиной 0,4-0,9 мм, бурого, желтого или черного цвета, с красными глазами, одинаковым телосложением у разных видов,

является насекомым паразитом, поскольку живет за счет яиц хозяина. Но естественной популяции трихограммы не хватает для борьбы с вредителями, так как фазы ее развития не совпадают с массовым вылетом вредителя [4, 5, 6].

Яйцеед появляется весной за месяц до яйцекладки основных хозяев [7], и потому трихограмма, которая возродилась раньше не находя яйца вредителя погибает так и не использовавшая свой естественный потенциал продолжения и размножения популяции, или находят яйца дополнительные, обычно мало распространенного хозяина.

В 70-х годах прошлого столетия биологическая защита на основе разведения трихограммы приобретает значительные масштабы, ставятся задачи относительно повышения объемов производства трихограммы.

В 1972 г. трихограммы было выпущено на 4 млн. сельскохозяйственных площадей Украины [8].

Также проводились исследования по определению влияния химических препаратов к стойкости энтомофага [9, 10, 11] с целью их сочетания в защитных действиях против вредителей, при этом изучались разные фазы развития энтомофага, при которых он наиболее стойкий к химическим воздействиям [12, 13, 14].

Еще изучали влияние химических препаратов на продолжительность жизни и плодотворность самок.

Проводили изучение динамики роста численности энтомофага с учетом уменьшения количества химических обработок и объемов их использования [15, 16].

При использовании трихограммы вместе с химическими средствами было установлено, что необходимо изымать инсектициды широкого спектра действия, с высокой токсичностью.

Химические обработки должны проводиться не раньше 3-4 суток после выпуска трихограммы.

Выпуски трихограммы после проведения химических обработок менее эффективны.

При этом должны обязательно учитывать длительность токсичного действия пестицидов. Но значительное количество научных трудов обращает внимание именно на пагубное действие ядохимикатов на энтомологические препараты, не исключением является и трихограмма [17, 18, 19, 20], было зафиксировано увеличение отрицательного влияния химических препаратов в течение нахождения трихограммы в стадии куколки и имаго [21].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Целью работы является разработка биотехнологического процесса производства энтомологического препарата трихограммы и методики определения оптимальных конструкционно-технологических параметров калибратора яиц зерновой моли.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Процесс производства трихограммы состоит из двух этапов: первый этап - производство яиц хозяина трихограммы (зерновой моли).

При маточном биотехнологическом производстве трихограммы используют яйца естественного фитофага, а именно кукурузного стеблевого мотылька, ряда совок и др., но проводить сбор этих яиц в течение всего периода разведения трихограммы достаточно сложно.

Биотехнологическое производство зерновой моли состоит из таких операций: подготовка и заражение зерна; получения мотыльков и яиц зерновой моли; очистка и калибрование яиц; оценка качества и хранения яиц зерновой моли; утилизация отходов производства.

Для разведения зерновой моли используют высококачественный, очищенный сортовой ячмень, который включает в среднем 20-21 тыс. шт. зерен в 1 кг [2].

На данном этапе современного производства трихограммы для обеззараживания и увлажнения зерна используют кондиционер зерна (рис. 1).

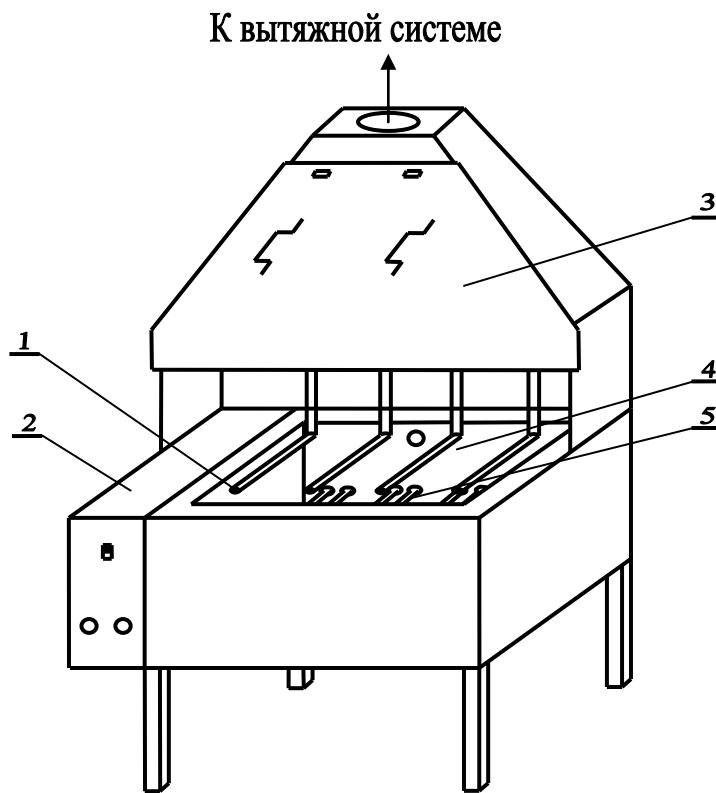


Рис. 1. Кондиционер зерна:
1 – металлические стержни; 2 – блок управления с системой блокирования; 3 – крышка; 4 – ванна; 5 – тени.

Кондиционер зерна работает в полуавтоматическом режиме. Позволяет регулировать время обработки зерна и синхронизировать начало работы цикла с установленной температурой воды. Существует система блокирования кюветы с зерном на погружение ее в воду, пока вода не достигнет заданной температуры. Работа кондиционера начинается с заливания воды в ванну, только после этого включают тени и в течение 60 мин. вода нагревается до температуры 90 °С. Только после этого можно начинать процесс пропаривания: насыпают зерно ячменя в кювету и устанавливают ее на металлические стержни, которые самостоятельно опускают на заданное время и поднимают ее назад.

Обеззараженное зерно рассыпают по кюветам слоем не больше 4 см и в течение 1-2 дней доводят до влажности 15-16 %, которую необходимо поддерживать в течении всего периода развития зерновой моли. После обеззараживания влажность зерна как правило выше оптимальной, потому его периодически перемешивают, а в помещении обеспечивают

постоянную вентиляцию. Если влажность зерна ниже оптимальной, его дополнительно увлажняют.

Рассыпанное зерно по кюветам устанавливают на стеллажи (рис. 2), предназначенные для размещения кассет с зерном, проведения операции заражения зерна зерновой молью и ее развития от стадии яйца до стадии передимагового возраста. После 4-5 суток с начала заражения зерно тщательным образом перемешивают, определяют его влажность и при необходимости доводят до заданной. Чтобы контролировать развитие ситотроя необходимо проводить анализ зерна через каждых две недели после проникновения в него гусеницы. С этой целью отбирают три пробы по 200 зерен, разрезают их и подсчитывают количество целых зерен, а также с гусеницами и куколками. Степень заселения определяют отношением количества зерен с гусеницами и куколками ситотроя к общему количеству зерен в каждой партии.

Когда начинает вылетать зерновая моль зерно загружают в бокс (рис. 3), который предназначен для сбора имаго зерновой моли.

В боксе размещены кассеты с зерном, закрытые крышками на период выхода из зерна имаго зерновой моли. Установленные в боксе направляющие ролики облегчают загрузку и выгрузку кассет. Угол наклона боковых поверхностей конфузора обеспечивает хороший сток мотыльков в

приемник. Пружинное устройство в основе приемника обеспечивает плотность прилегания садка к исходному отверстию конфузора, а также облегчает установление и удаление его.

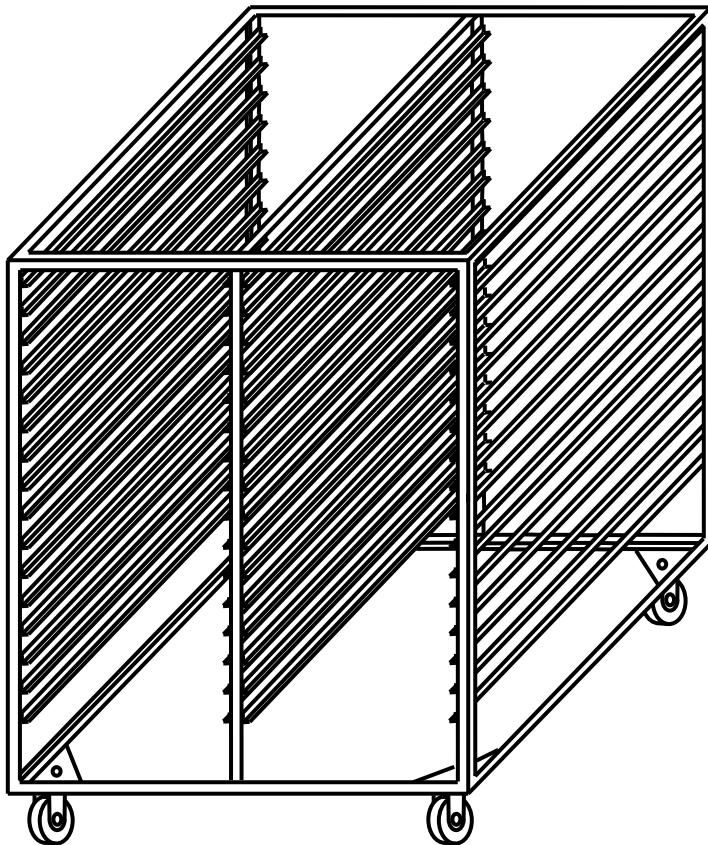


Рис. 2. Стеллаж заражения зерна (передвижной).

Зерновую моль собирают один раз на сутки. Для удержания и откладывания яиц зерновую моль размещают в специальные садки, которые устанавливают на стеллаж (рис. 4). Садки имеют вид сита, где мотыльков содержат в течение 5 суток, также для содержания используют специальные садики.

Собранные яйца очищают от разных примесей. Очищенные яйца суточного сбора взвешивают и расфасовывают в бумажные пакеты, на которых обязательно необходимо указывать дату их сбора, чтобы знать срок их использования.

Для разделения навесок на фракции, а также для удаления примесей (пыли, лапок, крыльышек и др.) из массы яиц зерновой моли используют очиститель яиц (рис. 5).

Полученные яйца зерновой моли используют для дальнейшего производства моли и разведения трихограммы. В первом

случае используют свежеполученные яйца зерновой моли или яйца, которые хранились не больше от 3 до 4 суток при температуре от 1 к 3 °C и относительной влажности воздуха от 85 до 90 %. Хранение проводят в холодильниках.

В биотехнологический процесс производства энтомологического препарата трихограммы был внедрен калибратор яиц (рис. 6), который предназначен для распределения яиц зерновой моли по размеру на три фракции и доочистки их от пыли для повышения качества наработки культуры маточной и промышленной трихограммы.

Вторым этапом биотехнологического производства трихограммы является разведение самого препарата, который включает следующие операции: накатування яиц зерновой молі; заражение их трихограммой; сбор и очистка паразитованих

яиц; определение качественных показателей препарата и его хранение.

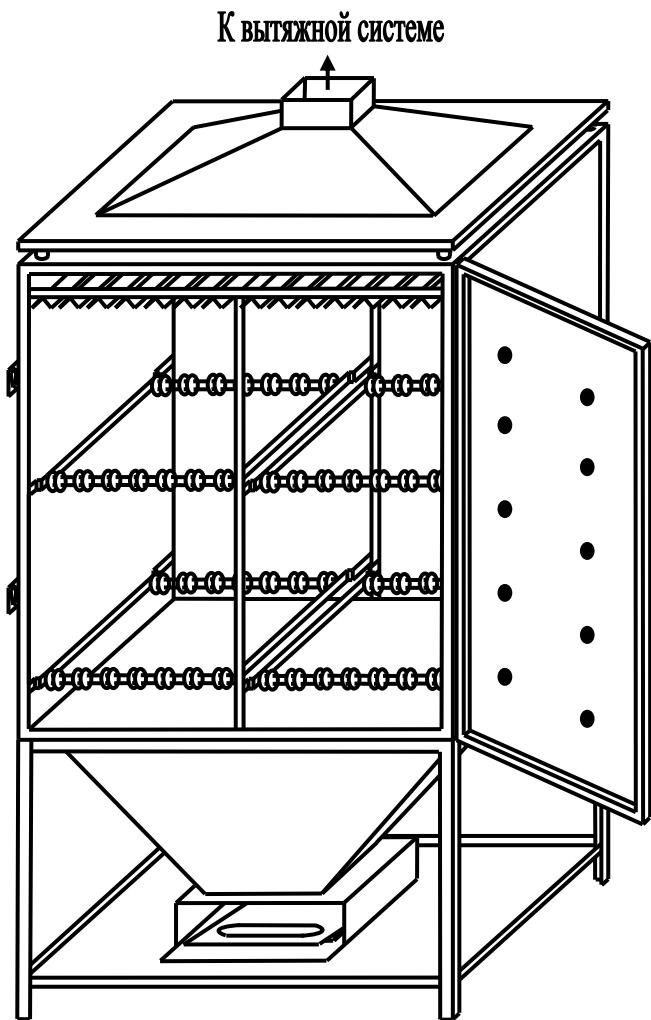


Рис. 3. Бокс ситотройный.

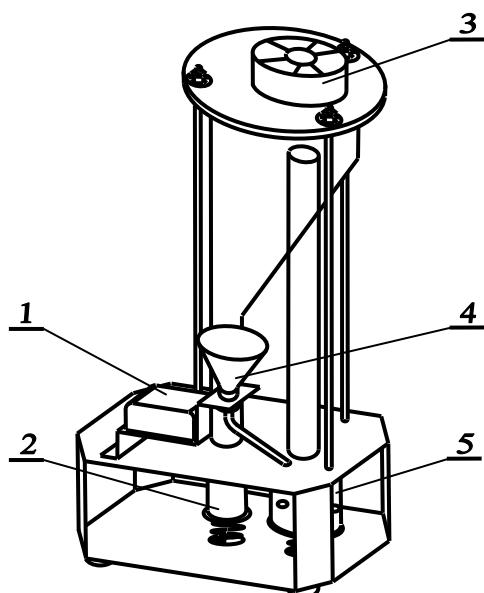


Рис. 4. Очиститель яиц:

1 – вибрационное устройство; 2 – контейнер сбору примесей;
3 – вентилятор; 4 – бункер; 5 – контейнер сбору яиц.

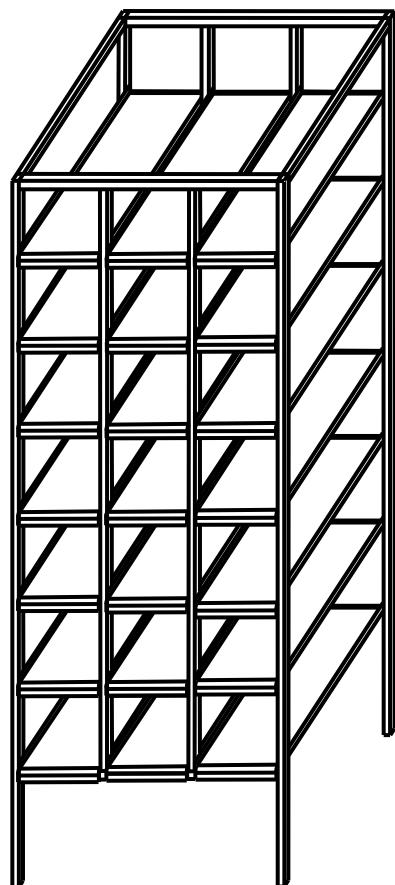


Рис. 5. Стеллаж для садков с зерновою молью.

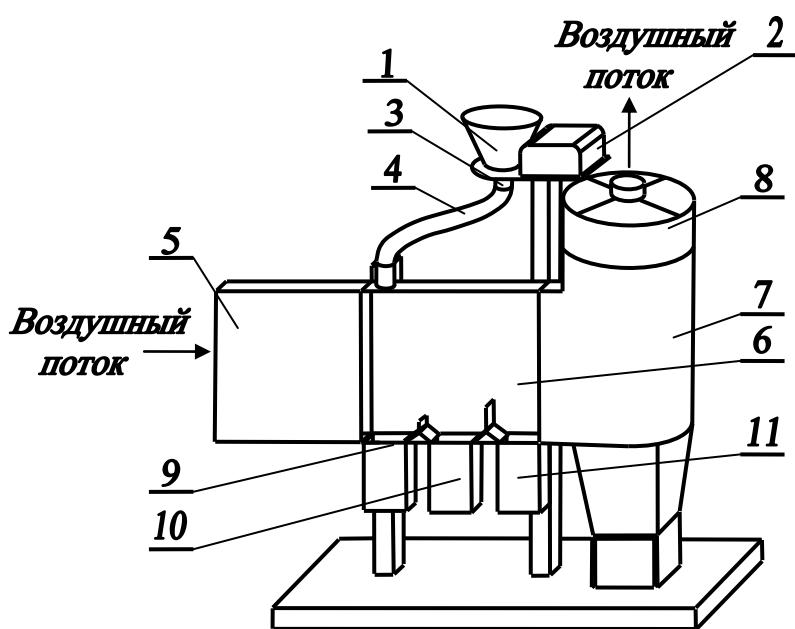


Рис. 6. Калибратор яиц зерновой моли:

1 – бункер; 2 – вибрационное устройство; 3 – дозатор; 4 – стабилизирующий патрубок; 5 – воздушный коллектор; 6 – камера разделения; 7 – циклонный сепаратор; 8 – вентилятор вытяжного типа; 9, 10, 11 – контейнеры.

Для получения зараженных трихограммой яиц зерновой моли с целью повышения производительности труда за счет создания надлежащих условий для паразитации яиц и осуществления технологического процесса производства трихограммы в биолабораториях и биофабриках используют виварий для трихограммы (рис. 7).

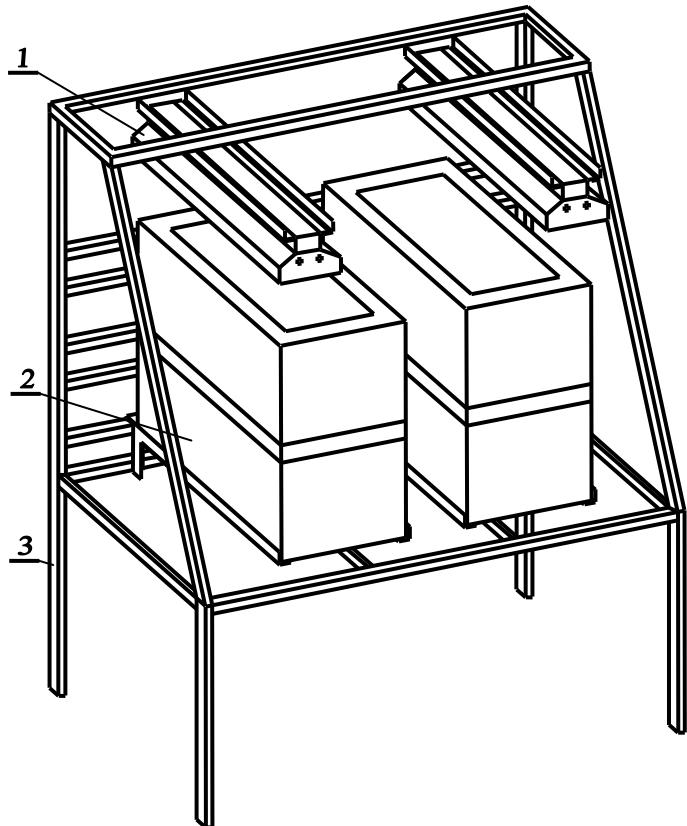


Рис. 7. Виварий:
1 – осветлитель; 2 – контейнер; 3 – рама.

Для одновременного нанесения яиц зерновой моли на рабочие поверхности пластин вивария используют устройство нанесения яиц (вертушка).

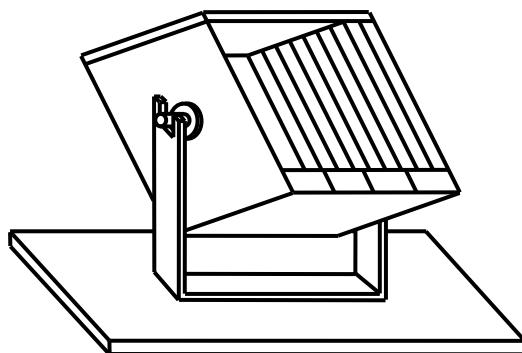


Рис. 8. Устройство нанесения яиц (вертушка).

Неподвижная стойка устройства используется для установки подвижного корпуса, который предназначен для установки пластин вивария. Решетчатая вставка

используется для равномерного распределения яиц зерновой моли на поверхности пластины.

Через 5-6 суток яйца зерновой моли, которые были паразитированы трихограммой,

которые изменили цвет, счищают из стенок банок или вивария, пакуют ее в бумажные пакеты и откладывают на хранение (до 30 суток) или используют для биологической защиты.

Внесение трихограммы проводят разными способами: вручную, который является самим эффективным для небольших участков, так как при этом методе трихограмма вносится вылетевшая из яиц и она сразу начинает работать, но этот способ теряет свою актуальность при использовании на больших площадях; механизированный метод заключается в применении опылителей, которые устанавливают на трактор. На сегодня этот метод почти не используют, поскольку он приводит к повреждению энтомологического материала. Также к этому методу относится расселение трихограммы в капсулах, с помощью сельскохозяйственной техники, но он требует дополнительных затрат на производство капсул и их заправку препаратом.

Наиболее распространенным в наше время является авиационный способ внесения. В начале использовали самолеты АН-2, а на данном этапе развития технологий биологической защиты используют беспилотные летательные аппараты, электронная бортовая система которых обеспечивает управление самолетом в автоматическом и радиоуправляемом режимах полета. Для эксплуатации беспилотных летательных аппаратов не нужно оборудованной взлетно-посадочной полосы и места для стоянки, которая дает возможность использовать его значительно эффективнее, чем другие средства. Использование авиационного внесения трихограммы позволяет в сжатые сроки обрабатывать большие площади, что очень важно при борьбе с вредителями с/х культур.

При совершенствовании биотехнологического процесса производства энтомологического препарата трихограммы была выбрана операция калибрования яиц зерновой моли, так как крупность яиц влияет на качественные показатели трихограммы.

Для определения оптимальных конструкционных параметров и режимов пневматического калибратора яиц зерновой моли использовали метод планирования многофакторных экспериментов, с

использованием трехуровневой матрицы оптимального плана Бокса-Бенкина. Однородность дисперсий полученных результатов проверялась по критерию Кохрена при 95 % уровне доверительной вероятности. Адекватность полученной математической модели проверяли по критерию Фишера. Во время исследований учитывались наиболее существенные факторы, которые влияют на процесс разделения, а именно скорость воздушного потока v (м/с), высота пластины-заслонки H_3 (мм) и высота камеры разделения H_k (мм).

Критерием оптимизации параметров калибратора использовано качество отбора крупных яиц во втором контейнере, которая выражалась через интегральную вероятность I_m (рис. 9) того, что размер яиц зерновой моли находится в диапазоне, который превышает минимальный предельный объем для крупных яиц, - $0,0247 \text{ mm}^3$ но меньше объема конгломератов - $0,04717 \text{ mm}^3$.

Исследования проводились в трехкратной повторности, при этом измеряли размеры случайных 50-ти яиц. С помощью микроскопа стереоскопического МБС-10 типа АЦ 3.850.005 Р€ (рис. 10) проводили измерение длины и ширины яиц (рис. 11) и подсчитывали количество конгломератов в каждом контейнере, при каждой повторности, чтобы определить состав фракции. Для определения скорости воздушного потока в воздушной системе калибратора яиц зерновой моли использовали современный анемометр модели УК - 2001 ТМ (рис. 12), который предназначен для измерения высоких и низких скоростей воздушного потока и измерения температуры.

После усовершенствования калибратора яиц зерновой моли проводили исследование по определению влияния операции калибрования на качественные показатели энтомологического препарата трихограммы. Которые определяли с помощью методик, приведенных в методических рекомендациях к применению трихограммы против вредителей сельскохозяйственных культур "Показники якості трихограми", а также ДСТУ 5016:2008 "Ентомологічні препарати трихограми. Загальні технічні умови".

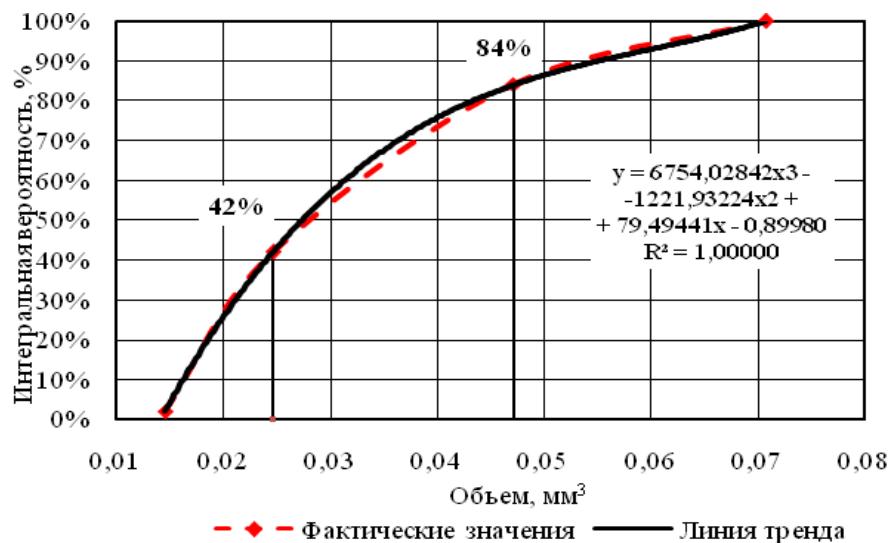


Рис. 9. Интегральная вероятность распределения фракций яиц зерновой моли.



Рис. 10. Микроскоп МБС – 10.

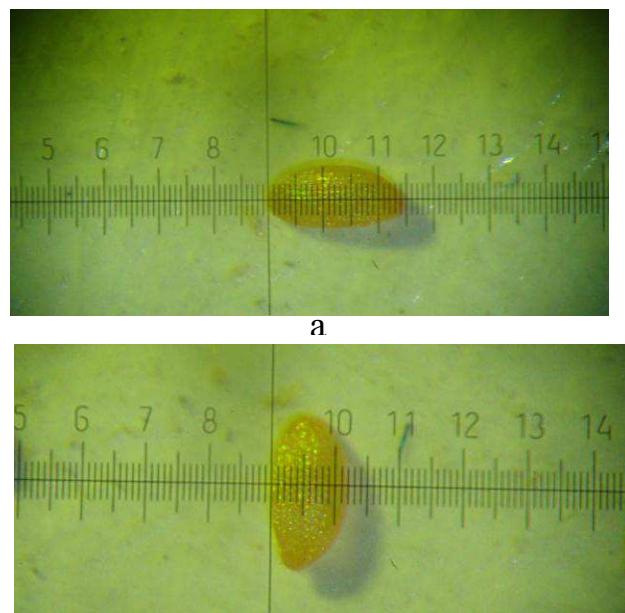


Рис. 11. Измерения размеров яиц:
а – длина; б – ширина.



Рис. 12. Анемометр YK-2001 TM.

После проведения многофакторного эксперимента была установлена зависимость в

$$I_m = -2428,9 + 1124,439v_e - 5,7362H_3 + 4,1715H_k - 166,1294v_e^2 - \\ - 0,0665H_3^2 - 0,0138H_k^2 + 2,6882v_eH_3 + 0,3750v_eH_k - 0,0050H_3H_k,$$

где I_m - вероятность отбора крупных яиц зерновой моли, %; H_3 - высота пластины-заслонки, мм; H_k - высота камеры разделения, мм; v_e - скорость воздушного потока, м/с.

На основе использования методики планирования экспериментальных исследований установлены оптимальные значения конструкционно-технологических параметров и режимов усовершенствованного пневматического калибратора, а именно скорость воздушного потока на уровне 3,8 м/с, высота камеры разделения – от 198 до 199 мм и высоты пластины-заслонки – от 26 до 27 мм. Вероятность отбора крупных яиц во втором контейнере калибратора, при этом составила 58 %, что на 31 % больше по сравнению с базовой конструкцией.

ВЫВОД

Использование современных методов и методик позволило установить оптимальные конструкционно-технологические параметры калибратора яиц зерновой моли и повысить на 31 % вероятность отбора крупных яиц во втором контейнере, что в свою очередь положительно повлияло на качественные показатели энтомологического препарата трихограммы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шумаков Е.М. Насекомые защищают растения / Е.М. Шумаков, В.А. Щепетильникова. – М.: Знание, 1970. – 46 с.
2. Теленга Н.А. Руководство по размножению и применению трихограммы для борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур / Н.А. Теленга, В.А. Щепетильникова. – К.: Издательство Академии наук Украинской ССР, 1949. – 99 с.
3. Мейер Н.Ф. Биологический метод борьбы с вредными насекомыми / Н.Ф. Мейер // Биологический метод борьбы с вредителями виде уравнения регрессии, которое имеет вид:
- $I_m = -2428,9 + 1124,439v_e - 5,7362H_3 + 4,1715H_k - 166,1294v_e^2 - \\ - 0,0665H_3^2 - 0,0138H_k^2 + 2,6882v_eH_3 + 0,3750v_eH_k - 0,0050H_3H_k,$ сельскохозяйственных культур. – М.: Издательство Всесоюзной агадемии с/х наук им. В.И. Ленина, 1937. – С. 3–12.
4. Дядечко М.П. Основи біологічного методу захисту рослин / Дядечко М.П. – К.: Урожай, 1973. – 352 с.
5. Мейер Н.Ф. Биологический метод борьбы с вредными насекомыми / Мейер Н.Ф. – М.: Государственное издательство сельскохозяйственной и колхозно-кооперативной литературы, 1931. – 120 с.
6. Щепетильникова В.А. Применение трихограммы в СССР / В.А. Щепетильникова // Биологические средства защиты растений. М.: Колос, 1974. – С. 138–158.
7. Тряпицын В.А. Паразиты и хищники вредителей сельскохозяйственных культур / Тряпицын В.А., Шапиро В.А., Щепетильникова В.А. – Л.: Колос, 1982. – 254 с.
8. Цыбульская Г.Н. Применение трихограммы в борьбе с вредителями полевых культур на Украине / Г.Н. Цыбульская // Биологические средства защиты растений. М.: Колос, 1974. – С. 172–181.
9. Гринберг Ш.М. Трихограмма не эффективна? Давайте искать причину / Гринберг Ш.М., Пынзарь Б.В., Боубэтрын И.Н. // Защита растений. – М., 1992. – № 12. – С. 4–8.
10. Кот Я. Биология и экология *Trichogramma* spp. / Я. Кот, Т. Плевка // Биологические средства защиты растений. М.: Колос, 1974. – С. 159–171.
11. Новожилов К.В. Путесохранения энтомофагов при химических обработках / К.В. Новожилов, В.А. Шапиро // Биологические средства защиты растений. М.: Колос, 1974. – С. 21–34.
12. Васильев А.Л. Оценка действия демилина на трихограмму *Trichogramma jaxarticum* Sor. (Hymenoptera, Trichogrammatidae) / А.Л. Васильев // Биологические средства защиты растений, технологии их применения и изготовления. – Санкт-Петербург, 2005. – С 192–196.

13. Сазонова И.Н. Проблемы селективной токсичности и механизма действия инсектицидов и акарицидов на членистоногих / И.Н. Сазонова // Проблемы избирательного действия инсектицидов и акарицидов: Сб. тр. – Л.: ВИЗР, 1986. – С. 23–32.
14. Brunner J.F. Effect of pesticides on *Colpoclypeus florus* (Hym.: Eulophidae), and *Trichogramma platneri* (Hym.: Trichogrammatidae), parasitoids of leafrollers in Washington / J.F. Brunner, J.E. Dunley, M.D. Doerr, E.H. Beers / J. Econ. Entomol. – 2001. – 94 (5). – P. 1075–1084.
15. Бабидорич М.М. Влияние антропогенного фактора на численность энтомофагов сада / М.М. Бабидорич // Охрана живой природы. – М., 1983. – С. 16–17.
16. Скляров Н.А. Рекомендации по сокращению объемов применения пестицидов в яблоневых садах интенсивного типа и методика анализа фитосанитарного состояния насаждений / Скляров Н.А. // ВАСХНИЛ. – Кишинёв, 1986. – 40 с.
17. Капустина О.В. Действие некоторых пестицидов на трихограмму / Капустина О.В. // Труды ВИЗР. – Л., 1975. – 44 с.
18. Коваленков В.Г. Повышение биоценотической роли природных ентомофафов, резистентных к пестицидам, применяемым в современных агробиозенозах Ставрополья / В.Г. Коваленков // Биологические средства защиты растений, технологии их применения и изготовления. – Санкт-Петербург, 2005. – С. 176–186.
19. Brar K.S. Effect of insecticides on *Trichogramma chilonis* Ishii (Hym.: Trichogrammatidae), an egg parasitoid of sugarcane borers and cotton bollworms / K.S. Brar, G.C. Varma, M.R. Shenhmar // Entomol. – 16 (1). – 1991. – P. 43–48.
20. Hagley A.C. Effect of pesticides on parasitism of artificially distributed eggs of the codling moth, *Cydia pomonella* (Lep.: Tortricidae) by *Trichogramma* spp. (Hym.: Trichogrammatidae) / A.C. Hagley, J.E. Laing // Proceedings of the entomological society of Ontario 120. – 1989. – P. 25–33.
21. Smith S.M. Biological control with *Trichogramma*: Advances, successes and potential of their use / S.M. Smith // Annu. Rev. Entomol. Vol. 41. – Polo Alto (Calif.), – 1996. – P. 375–406.

PRODUCTION ENTOMOLOGICAL PREPARATION OF TRICHOGRAMMA

Summary. The biotechnological process of production entomological preparation of *Trichogramma* consists of operations which touch the owner of *Trichogramma*: preparation and infection of grain; moistening of grain and interfusion; load it in boxing; receipt of butterflies and eggs of corn moth; cleaning and storage of eggs of corn moth; utilization of wastes of production and operations, which execute at breeding of *Trichogramma*: dropping of eggs of corn moth in the bottles; infection it by *Trichogramma*; collection and cleaning of infected eggs; determination of high-quality indexes of preparation and his storage. Using a contemporary methods of determination of optimum construction technological parameters of calibrator will allow to promote the high-quality indexes of preparation of entomologist of *Trichogramma*.

Key words: biotechnological process, entomological preparation of *Trichogramma*, egg of corn moth, pneumatic calibrator.