|  |  |
| --- | --- |
| ICS  | 65.020.01 |
| CCS  | B.17 |

|  |
| --- |
| NY |

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 4195.10—XXXX

农药登记环境影响试验生物试材培养第10部分：七星瓢虫

Guidance on the housing and care of organisms used for environmental impact test of pesticide registration—Part 10: Coccinella septempunctata

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

中华人民共和国农业农村部  发布

1. 前言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件是NY/T 4195《农药登记环境影响试验生物试材培养》的第10部分。NY/T 4195已经发布了以下部分：

——第1部分：蜜蜂；

——第2部分：日本鹌鹑；

——第3部分：斑马鱼；

——第4部分：家蚕；

——第5部分：大型溞；

——第6部分：近头状尖胞藻；

——第7部分：浮萍；

——第8部分：赤子爱胜蚓；

——第9部分：赤眼蜂。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利,本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由农业农村部种植业管理司提出并归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

农药登记环境影响试验生物试材培养

第10部分：七星瓢虫

* 1. 范围

本文件规定了农药登记环境影响试验用瓢虫的引入、验收、培养和繁殖等技术方法，以及记录资料要求。

本文件适用于七星瓢虫（*Coccinella septempunctata*）的实验室饲养与繁殖，其他品种的瓢虫可参照使用。

* 1. 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

NY/T 3088 化学农药 天敌（瓢虫）急性接触毒性试验准则

NY/T 3275.1 化学农药 天敌昆虫慢性接触毒性试验准则 第1部分：瓢虫

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

* + 1. 载体植物 host plant

为七星瓢虫及供其捕食的蚜虫提供栖息地的植物，本文特指蚕豆苗。

* + 1. 羽化 eclosion

瓢虫蛹经过发育变为成虫，破蛹而出的过程。

* + 1. 滞育diapause

昆虫生命活动过程中某一特定的发育时期，出现生长发育暂时停止的现象。瓢虫以成虫滞育。

* 1. 概述

在实验室条件下，利用载体植物繁殖蚜虫，以蚜虫作为饲料培养七星瓢虫，以获得符合农药登记环境影响试验（NY/T 3088、NY/T 3275.1）要求的七星瓢虫二龄幼虫，并实现七星瓢虫的实验室内繁殖获得瓢虫卵，并制作成便于保存和培养孵化的卵卡。

* 1. 载体植物与饲料
		1. 载体植物的培养
			1. 蚕豆种子的筛选

选择发芽率在80%以上、颗粒饱满、未遭受病虫害的健康蚕豆种子作为载体植物种子备用。

* + - 1. 蚕豆催芽

蚕豆催芽前对种子进行浸种处理，将种子浸泡在清水中24h～36h，期间视需要对其进行淘洗、换水，待蚕豆饱胀、无瘪、无皱纹、切开断面无白心、平嘴处皮壳未开裂时，将其捞出。将浸种后的蚕豆装入网袋中，放入3％石灰水中浸泡5分钟进行消毒，然后将其取出用清水冲洗两遍，沥干水分，用棉布包裹，置于温度25±2℃的条件下，避光催芽12 h～24 h。

* + - 1. 蚕豆种植

使用基质土或者蛭石填满容器，将露白后的种子均匀地播撒，使用细土覆盖，在播种后向土壤表面喷洒水分，使土壤浸湿即可。置于温度25±2 ℃、湿度60%～90%的室内日光灯照射良好的环境中，每天浇水。蚕豆苗培育至“三叶一心”时，即可接种蚜虫。

* + 1. 饲料
			1. 饲料采集

选取生命力强、整齐一致、繁殖力强、便于室内培育的蚜虫品系作为七星瓢虫的饲料，可选择豌豆修尾蚜（*Megoura crassicauda*，别名蚕豆修尾蚜）、豌豆蚜（*Acyrthosiphon pisum*）、豆蚜（*Aphis craccivura*，别名花生蚜、苜宿蚜）等。蚜虫可从其他实验室引种或从田间采集。避免将已有寄生蜂寄生或病毒感染的蚜虫引入实验室。

* + - 1. 饲料繁殖

将出生24 h内的蚜虫转接到提前培育好的载体植物上，接种蚜虫时，每株蚕豆幼苗接种蚜虫量在20头左右，一周内蚕豆蚜大量繁殖后，可作为饲料饲喂瓢虫。蚜虫培养条件：温度20℃～25℃，湿度50%～75%，光照周期16 h:8 h（光暗比）或自然光照。

* 1. 引入与验收
		1. 引入与运输
			1. 应从专业的瓢虫研究机构或能够出具品系证明的供应商引种，并由其提供品系证明。
			2. 应向供应单位索取瓢虫或瓢虫卵的详细信息，如产卵日期、孵化日期、数量、品种名称、供应单位名称等信息。
			3. 尽可能缩短瓢虫或瓢虫卵的运输时间，运输过程中应避光避雨，防止剧烈震动和接触有毒有害物质，避免高温（＞30℃）、低温（＜0℃）等恶劣情况。
		2. 验收

七星瓢虫或瓢虫卵接收后，应对其进行检查，包括形态、颜色、数量（估值）检查以及孵化率的检查，孵化率不得低于80%。七星瓢虫的形态特征见附录A。

* + 1. 瓢虫卵的保存

刚收到的七星瓢虫虫卵若不立即孵化应冷藏（2℃～8℃）避光保存，保存时间最长不超过1周，尽早孵化，以免瓢虫体质下降。

* 1. 培养管理
		1. 验收合格的卵卡可在实验室内扩繁用于试验。
		2. 将瓢虫寄生卵卡置于透明盒中，在温度25±2℃，相对湿度60%～90%，光照周期16 h:8 h（光暗比）的人工气候箱（室）内孵化，并始终保持较低的饲养密度，避免瓢虫幼虫出现自残行为。孵化后每天需放入适量爬满蚜虫的蚕豆苗，饲喂充足的活蚜虫，并定期清理培养器皿，以纱布等透气性好的材料封紧培养器皿以防瓢虫逃逸。四龄幼虫最后不再捕食，趴在培养器皿的侧壁静止不动。
		3. 七星瓢虫幼虫4龄末期开始化蛹，蛹期不取食，通常为3 d～4 d。期间将蛹存于干燥整洁的容器内。
		4. 七星瓢虫蛹羽化为成虫后捕食量明显增加，根据取食量及时更换育满蚜虫的蚕豆苗，培养2 d～7 d后便可交尾产卵，雌成虫交配一次后可多次产卵。
	2. 繁殖管理
		1. 成虫繁殖

将七星瓢虫成虫按照雌雄配比1:1～2:1配对后，将繁殖盒放入橘红色环境条件下培养，并在培养器皿中加入干净的纸条、纱布或植物叶片，以便配对成功后的雌虫附着产卵，同时也便于卵的收集。繁殖期间，放入育满蚜虫的蚕豆苗盆栽，根据成虫的取食情况及时更新蚕豆苗。繁殖期间，温度25±2℃，相对湿度60%～90%，光照周期16 h:8 h（光暗比）。

* + 1. 卵的收集

雌虫产卵时不要人为干涉，因成虫有取食卵的行为，产卵后要及时收集卵块，收集的卵块可立即孵化或冷藏（2 ℃～8 ℃）保存。瓢虫产卵没有固定的时间，产卵地点也没有严格的选择性，为收集方便，可使用薄纸条卷成纸筒衬在纸盒内或玻璃器内、3条～5条松散纱布放入黑色不透光塑料袋中，采卵时，可以直接将附有卵粒的薄纸或纱布剪下。在产卵期应定期（每天1次～2次）取出卵块，并制作卵卡。

* + 1. 卵卡的制作

将厚纸按一定的格式裁好作成纸卡，在纸卡上涂一层稀浆糊，把同一天收集的卵块粘在纸卡上，记录日期和时间，即制成便于观察和孵化的卵卡。

* 1. 记录资料

对于每批次七星瓢虫，实验室应保存完整的培养记录，相关原始记录表格参见附录B。主要记录包括：

——引入与验收记录；

——七星瓢虫培养记录；

——七星瓢虫繁殖培养记录

——蚜虫培养记录等。

1.
2. （资料性）
七星瓢虫的形态特征

七星瓢虫属于瓢虫科瓢虫属，一生共有4个虫期：卵、幼虫、蛹、成虫。

* 1. 卵期

刚刚产出的七星瓢虫卵为淡黄色，逐渐变为杏黄色，即将孵化时呈黑褐色。

* 1. 幼虫期

七星瓢虫幼虫经历4个龄期。

* + 1. 一龄

体长2 mm-3 mm，身体全黑色，从中胸至第八腹节，每节各有6个刺疣。

* + 1. 二龄

体长4mm，头部和足黑色，体灰黑色。前胸左右后侧角黄色。腹部每节背面和侧面着生6个刺疣，第一腹节背面左右2刺疣呈黄色，刺黑色。第四腹节背面刺疣黄色斑不显，其余刺疣黑色。

* + 1. 三龄

体长7mm，体灰黑色，头、足、胸部背板及腹末臀板黑色。前胸背板前侧角和后侧角有黄色斑。腹部第一节左右侧刺疣和侧下刺疣桔黄色，刺黑包。第四节背侧2刺疣微带黄色，其余刺疣黑色。

* + 1. 四龄

体长11mm左右，体灰黑色。前胸背板前侧角和后侧角有桔黄色斑。腹部第一节和第四节左右侧刺疣均有桔黄色斑，其余刺疣黑色

* 1. 蛹期

4龄末期，幼虫开始化蛹，蛹长6 mm～7 mm，宽3 mm～5 mm。蛹呈黄色且前胸背板前缘有4个点，2个呈三角形，前胸背板后缘有2个黑点，两侧角有2个黑斑。中胸背板有2个黑斑。腹部第2节～6节背面左右各有4个黑斑。腹末为末龄幼虫黑色蜕皮。

* 1. 成虫

成虫体长一般体长5 mm～6.5 mm，身体卵圆形，背部拱起呈水瓢状。瓢虫雌雄成虫在外部形态结构上的差异主要为腹部腹板第5节和第6节后缘形态不同，雌冲的第六腹节后缘凸出，表面平整，雄虫的第六腹节后缘平截，中部有横凹陷坑，上缘有一排长毛。

1. （资料性）
记录表格（示例）

引入与验收记录见表B.1。

瓢虫培养记录见表B.2。

瓢虫繁殖培养记录见表B.3。

蚜虫培养记录见表B.4。

表B.1 引入与验收记录

|  |  |
| --- | --- |
| 品系： |  |
| 虫态： | □卵 □成虫 |
| 产卵时间： |  |
| 引入日期： |  |
| 引入数量： |  |
| 提供单位： |  |
| 批次（实验室内）： |  |
| 接收状态： |  |
| 保存条件： |  |
| 保存地点： |  |
| 接收人： |  |
| 复核人员： |  |

表B.2 瓢虫培养记录

品系： 批次：

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 日期 | 温度（℃） | 相对湿度（%） | 光照强度 | 喂食 | 虫态 | 记录人 |
|  |  |  |  |  | □卵 □幼虫□蛹 □成虫 |  |
|  |  |  |  |  | □卵 □幼虫□蛹 □成虫 |  |
|  |  |  |  |  | □卵 □幼虫□蛹 □成虫 |  |
|  |  |  |  |  | □卵 □幼虫□蛹 □成虫 |  |
|  |  |  |  |  | □卵 □幼虫□蛹 □成虫 |  |
|  |  |  |  |  | □卵 □幼虫□蛹 □成虫 |  |

表B.3 瓢虫繁殖培养记录

品系： 批次：

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 日期 | 相对湿度（%） | 温度（℃） | 光照强度 | 喂食 | 虫态 | 产卵 | 健康状况 | 记录人 |
|  |  |  |  |  | □卵 □幼虫□蛹 □成虫 |  |  |  |
|  |  |  |  |  | □卵 □幼虫□蛹 □成虫 |  |  |  |
|  |  |  |  |  | □卵 □幼虫□蛹 □成虫 |  |  |  |
|  |  |  |  |  | □卵 □幼虫□蛹 □成虫 |  |  |  |
|  |  |  |  |  | □卵 □幼虫□蛹 □成虫 |  |  |  |

表B.4 蚜虫培养记录

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 日期 | 温度（℃） | 相对湿度（%） | 备注 | 记录人 |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |

参考文献

[1] 郭在彬，崔建新，李闪闪，李广帅，邓静，田橙. 七星瓢虫成虫形态学研究[M]. 河南林业科技，2019.36（2）：34-37.

