



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105123766 A

(43) 申请公布日 2015. 12. 09

(21) 申请号 201510653569. 2

A01P 7/04(2006. 01)

(22) 申请日 2015. 10. 10

(71) 申请人 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所

地址 571101 海南省海口市龙华区城西学院路 4 号

(72) 发明人 白成 龙海波 岳建军 孙燕芳
刘丽平 彭正强

(74) 专利代理机构 广州三环专利代理有限公司
44202

代理人 郝传鑫

(51) Int. Cl.

A01N 63/02(2006. 01)

A01N 63/00(2006. 01)

A01N 25/04(2006. 01)

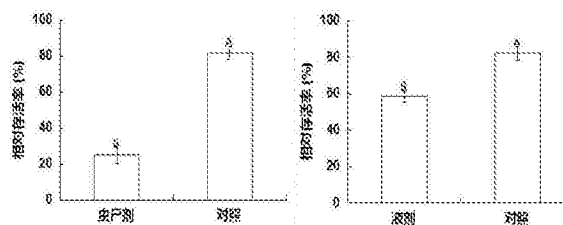
权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54) 发明名称

昆虫病原线虫 HbSD、其杀虫剂及制备方法和应用

(57) 摘要

本发明公开了昆虫病原线虫 HbSD、其杀虫剂及制备方法和应用,其中悬浮液制剂的制备方法包括将 HbSD 感染末龄黄粉虫幼虫,第 6 天获得颜色变为红棕色的死虫,继续培养至第 10 天, HbSD 从死虫尸体内爬入水中,即得悬浮液;往悬浮液加入 Triton X-100 制得昆虫病原线虫 HbSD 悬浮液制剂;虫尸剂的制备方法包括将昆虫病原线虫 HbSD 感染末龄黄粉虫幼虫,第 6 天获得颜色变为红棕色的死虫,继续培养至第 9 天获得虫尸剂。本发明制备的悬浮液制剂和虫尸剂具有效果稳定、生产简易、成本低廉、无污染、杀害虫活性高等优点。



1. 昆虫病原线虫 HbSD, 其特征在于: 所述昆虫病原线虫 HbSD 感染末龄黄粉虫幼虫, 使末龄黄粉虫幼虫变为红棕色的死虫。

2. 昆虫病原线虫 HbSD 悬浮液制剂, 其特征在于: 包括权利要求 1 所述的昆虫病原线虫 HbSD 和 Triton X-100。

3. 根据权利要求 2 所述的昆虫病原线虫 HbSD 悬浮液制剂, 其特征在于: 包括浓度为 27-30 条 /mL 的昆虫病原线虫 HbSD 和体积占比为 0.05% 的 Triton X-100。

4. 根据权利要求 2 或 3 所述的昆虫病原线虫 HbSD 悬浮液制剂的制备方法, 其特征在于: 用昆虫病原线虫 HbSD 感染末龄黄粉虫幼虫, 第 6 天获得颜色变为红棕色的死虫, 继续培养至第 10 天, HbSD 从死虫尸体内爬出并进入水中, 即得悬浮液; 往悬浮液加入 Triton X-100 制得昆虫病原线虫 HbSD 悬浮液制剂。

5. 昆虫病原线虫 HbSD 虫尸剂的制备方法, 其特征在于: 采用权利要求 1 所述的昆虫病原线虫 HbSD 感染末龄黄粉虫幼虫, 第 6 天获得颜色变为红棕色的死虫, 继续培养至第 9 天获得虫尸剂。

6. 昆虫病原线虫 HbSD 虫尸剂, 其特征在于: 采用权利要求 5 所述的昆虫病原线虫 HbSD 虫尸剂的制备方法制得。

7. 根据权利要求 6 所述的昆虫病原线虫 HbSD 虫尸剂, 其特征在于: 所述虫尸剂中每个虫尸体内至少含有 5000 条昆虫病原线虫 HbSD。

8. 权利要求 2 或 3 所述的昆虫病原线虫 HbSD 悬浮液制剂用于防治昆虫, 所述昆虫为末龄大蜡螟幼虫、3 龄甘蔗黄螟幼虫、末龄黄粉虫幼虫、末龄椰心叶甲幼虫或末龄大袋蛾幼虫。

9. 权利要求 6 或 7 所述的昆虫病原线虫 HbSD 虫尸剂用于防治昆虫, 所述昆虫为末龄大蜡螟幼虫、3 龄甘蔗黄螟幼虫、末龄黄粉虫幼虫、末龄椰心叶甲幼虫或末龄大袋蛾幼虫。

昆虫病原线虫 HbSD、其杀虫剂及制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及生物杀虫剂,尤其涉及昆虫病原线虫 HbSD、其杀虫剂及制备方法和应用。

背景技术

[0002] 昆虫病原线虫是一类体内携带共生细菌的昆虫寄生性线虫,该类线虫作为国际上新型的生物杀虫剂,具有寄主范围广泛;对脊椎动物、植物以及其他非靶标生物安全,利于环境保护;易于进行活体或离体大量培养,使用方便;能主动寻找寄主,快速杀死害虫;在环境中能循环利用,能与多种化学和生物杀虫剂混用等优点,在防治多种土壤害虫和隐蔽害虫方面发挥了重要的作用。

[0003] 昆虫病原线虫隶属于动物界线虫动物门(Nematoda),尾感器(Secernentea),小杆目(Rhabditida),至今为止,已知的寄生于昆虫的线虫约为 40 多个科,其中使用较多的杀虫线虫包括斯氏线虫(*Steinernema carpocapsae*, Sc)和嗜菌异小杆线虫(*Heterorhabditis bacteriophora*, Hb)。线虫与其体内共生的细菌协同作用来杀死昆虫。用于杀虫的线虫被认为是对环境和人类友好的生物杀虫剂。目前杀虫线虫已广泛应用于土栖性害虫,如金龟子、金针虫、地老虎、蝼蛄、根蛆、韭菜蛆等害虫的防治。施用方法包括线虫喷雾悬浮液和线虫感染后的虫尸,但由于其喷雾悬浮液需加 4-5 种助剂和保护剂(如抗蒸发剂、保水剂、粘合剂、紫外保护剂),导致其生产成本低,且所制备的杀虫剂杀虫效率低等缺点影响其应用。

发明内容

[0004] 本发明提供一种昆虫病原线虫 HbSD,提高了杀虫效率。

[0005] 另一方面,本发明提供的悬浮液制剂解决了生物杀虫剂生产过程需增加多种助剂和保护剂导致成本高等问题。

[0006] 本发明的昆虫病原线虫 HbSD,通过将幼龄黄粉虫置放于线虫中,若干天后使末龄黄粉虫变为红棕色的死虫,进一步筛选出线虫 HbSD。

[0007] 昆虫病原线虫 HbSD 悬浮液制剂的制备方法,包括将 HbSD 感染末龄黄粉虫幼虫,第 6 天获得颜色变为红棕色的死虫,在湿滤纸上继续培养至第 10 天虫 HbSD 感染期幼虫从死虫尸体内爬出,进入水中,即得悬浮液,保持在 10-12℃;使用时往悬浮液加入 Triton X-100 制得 HbSD 悬浮液制剂。

[0008] 昆虫病原线虫 HbSD 悬浮液制剂,包括昆虫病原线虫 HbSD 和 Triton X-100。

[0009] 昆虫病原线虫 HbSD 悬浮液制剂,使用时将浓度为 900-1000 条/mL 的昆虫病原线虫 HbSD 原液配成 27-30 条/mL 昆虫病原线虫 HbSD 和体积占比为 0.05%的 Triton X-100。

[0010] 昆虫病原线虫 HbSD 虫尸剂的制备方法,使用昆虫病原线虫 HbSD 感染末龄黄粉虫幼虫,第 6 天获得颜色变为红棕色的死虫,继续培养至第 9 天获得虫尸体。

[0011] 昆虫病原线虫 HbSD 悬浮液制剂用于防治昆虫,昆虫为末龄大蜡螟幼虫、3 龄甘蔗

黄螟幼虫、末龄黄粉虫幼虫、椰心叶甲幼虫或末龄大袋蛾幼虫。

[0012] 昆虫病原线虫 HbSD 虫尸剂用于防治昆虫,昆虫为末龄大蜡螟幼虫、3 龄甘蔗黄螟幼虫、末龄黄粉虫幼虫、末龄椰心叶甲幼虫或末龄大袋蛾幼虫。。

[0013] 本发明通过筛选获得了昆虫病原线虫 HbSD,并发现其对防治害虫具有良好的效果。

[0014] 进一步地,本发明的线虫悬浮液制剂和虫尸剂。这两种制剂作为杀虫剂,制备方法和应用方法均较简单。与现有技术相比,简化了线虫杀虫剂的制备和使用方法。

[0015] 本发明的昆虫病原线虫 HbSD 悬浮液制剂和虫尸剂均具有效果稳定、生产简易、成本低廉、无污染、杀菌活性高等优点。

附图说明

[0016] 图 1 为 4 种异小杆线虫属线虫对末龄大蜡螟幼虫的杀虫性实验结果图;

[0017] 图 2 为昆虫病原线虫 HbSD 感染期幼虫分别对 3 龄甘蔗黄螟幼虫和末龄黄粉虫幼虫的杀虫性实验结果图;

[0018] 图 3 为昆虫病原线虫 HbSD 虫尸剂和昆虫病原线虫 HbSD 悬浮液制剂分别对甘蔗黄螟的防治效果图;

[0019] 图 4 为庭院喷施昆虫病原线虫 HbSD 悬浮液制剂防治香樟大袋蛾害虫的实验结果图。

具体实施方式

[0020] 下面通过具体实施方式结合附图对本发明作进一步详细说明。

[0021] 本发明的昆虫病原线虫 HbSD (Hb 为异小杆线虫简称,SD 为编号) 为一种异小杆线虫,可通过在野外诱捕方获得,具体方法为:将末龄黄粉虫幼虫置于尼龙网内,埋入野外土中,第六天收获颜色变为红棕色的黄粉虫,寄生于黄粉虫内的线虫为本发明的昆虫病原线虫 HbSD。HbSD 具有很好的生殖能力,也可以通过人工大量培养获得其后代。

[0022] 昆虫病原线虫 HbSD 感染期幼虫 (IJs) 为感染昆虫病原线虫 HbSD 后的昆虫幼虫。

[0023] 实施例一:昆虫病原线虫 HbSD 悬浮液制剂的制备方法

[0024] 第一种昆虫病原线虫 HbSD 杀虫剂为悬浮液制剂,其制备方法包括:

[0025] 昆虫病原线虫 HbSD 悬浮液制剂的制备方法:在塑料盒底部放一层滤纸,挑选生长健康的末龄黄粉虫幼虫 100 头置于滤纸上,用移液枪吸取浓度为 1000 头 /ml 的 HbSD 线虫悬浮液滴加在末龄黄粉虫上,盖上,在室温放置 4-5 天后检查虫体颜色变化情况:第六天,正常感染昆虫病原线虫的黄粉虫颜色变为红棕色,弃掉颜色不正常的黄粉虫后继续培养,第 10 天收获感染了昆虫病原线虫 HbSD 的黄粉虫。通过“白色诱捕”法,即利用 HbSD 感染期幼虫 (IJs) 的趋水性收集线虫,线虫从昆虫尸体内部爬进水里,第一天收获的弃掉,将第 2-3 天的感染期幼虫悬浮液在显微镜下检查存活率,线虫的存活率要大于 95%;然后存放于 10-15℃ 冰箱供下一步实验接用。

[0026] 使用前将存储的线虫悬浮液浓度稀释到 900-1000 条线虫 / 毫升,稀释到 27-30 条 /mL 的昆虫病原线虫 HbSD,按溶液体积 0.05% 的比例加入 Triton X-100。

[0027] Triton X-100 为聚乙二醇辛基苯基醚,是一种非离子型表面活性剂,具有均匀分

散和粘稠的作用。

[0028] 本实施例选用 Triton X-100 作为线虫 HbSD 悬浮液的单一助剂,成本低、杀虫效率高且不影响线虫寻找寄生的能力。

[0029] 实施例二:昆虫病原线虫 HbSD 虫尸剂的制备

[0030] 第二种昆虫病原线虫 HbSD 杀虫剂为虫尸剂,其制备方法包括:

[0031] 昆虫病原线虫 HbSD 虫尸剂的制备方法:第 1 天将用收获的昆虫病原线虫 HbSD 感染期幼虫感染末龄黄粉虫幼虫。第 6 天选择颜色变为红棕色的黄粉虫,继续培养,第 9 天收获虫尸体,置于 50-100mL 离心管内,在 10-14℃条件下保存备用。

[0032] 昆虫病原线虫 HbSD 的存活率要大于 95%,虫尸剂为 HbSD 感染后的末龄黄粉虫幼虫,每个虫尸体至少含有 5000 条昆虫病原线虫 HbSD。

[0033] 本发明的两种 HbSD 线虫杀虫剂:线虫悬浮液制剂和虫尸剂。制备方法和应用方法均较简单。与现有技术相比,简化了线虫杀虫剂的制备和使用方法。

[0034] 实施例三:昆虫病原线虫 HbSD 的杀虫特性实验

[0035] 供试线虫品系:4 种嗜菌异小杆线虫属线虫 HbSD、HbI、HbII 和 HbIII。

[0036] 供试昆虫:末龄大蜡螟幼虫

[0037] 测试方法:室内生物测定方法,即测定 4 种异小杆线虫属线虫悬浮液对末龄大蜡螟幼虫的毒力,6 天后统计死亡率。对照组没有添加线虫。

[0038] 结果与分析:4 种异小杆线虫属线虫对末龄大蜡螟幼虫的杀虫性如图 1 所示,在四种供试线虫品系 (HbSD、HbI、HbII、HbIII) 中,本发明的昆虫病原线虫 HbSD 的杀虫效力最高,生殖能力强。选择 HbSD 用于进一步的毒力测定。

[0039] 实施例四:

[0040] 供试线虫品系:昆虫病原线虫 HbSD 感染期幼虫

[0041] 供试昆虫:甘蔗黄螟 (*Tetramoera schistaceana*) 3 龄幼虫和黄粉虫末龄幼虫

[0042] 室内生物测定方法,分别将 3 龄甘蔗黄螟幼虫或黄粉虫末龄幼虫与昆虫病原线虫 HbSD 感染期幼虫的个数比例为 1:100 放入培养皿,各加入 200u1 自来水处理,每个处理 36 头甘蔗黄螟 3 龄幼虫或黄粉虫末龄幼虫,在室温下放置,对照实验以不加昆虫病原线虫 HbSD 感染期幼虫,只加入自来水,6 天后统计死亡率。

[0043] 如图 2 所示,实验结果表明昆虫病原线虫 HbSD 对甘蔗黄螟 3 龄幼虫和末龄黄粉虫幼虫均具有显著的毒力,甘蔗黄螟 3 龄幼虫的 LC_{50} 值为 9.00 条/头,黄粉虫末龄幼虫的 LC_{50} 值为 16.80 条/头。

[0044] 实施例五:

[0045] 供试材料:昆虫病原线虫 HbSD 感染期幼虫;

[0046] 供试昆虫:大蜡螟 (*Galleria mellonella*.) 末龄幼虫、椰心叶甲 (*Brontispa longissima*) 末龄幼虫、大袋蛾 (*Cryptothoelea variegata*) 末龄幼虫。用人工饲料养殖大蜡螟,用新鲜椰子树叶喂食椰心叶甲;从香樟树叶喂食大袋蛾幼虫,均置于 25℃人工气候箱养殖。

[0047] 所有昆虫感染昆虫病原线虫感染期幼虫的比例一样,将昆虫和病原线虫感染期幼虫加入底部铺有贝曼滤纸的培养皿底部,供试昆虫大袋蛾 200 头,椰心叶甲 300 头,大蜡螟 400 头。每个处理重复 4 次,6 天后记录死亡率。

[0048] HbSD 感染期幼虫对椰心叶甲末龄幼虫、大袋蛾末龄幼虫、大蜡螟末龄幼虫的毒力如表 1 所示,用 8.6-11.7 个 HbSD 头 /mL 剂量,能够杀死 50% 的椰心叶甲、大袋蛾、大蜡螟末龄幼虫。

[0049] 表 1

[0050]

供试昆虫	试虫数	处理时间 (h)	LC ₅₀	95%置信区间
椰心叶甲	300	144	9.3522	5.5273-16.5735
大袋蛾	200	144	11.7551	4.3112-32.0518
大蜡螟	400	144	8.5598	5.1402-14.2524

[0051] 实施例六:

[0052] 供试材料:实施例 1 制备昆虫病原线虫 HbSD 悬浮液制剂和实施例二制备的昆虫病原线虫 HbSD 虫尸剂

[0053] 供试田块:有黄螟虫危害的甘蔗田块

[0054] 采用悬浮液制剂的喷雾方法,悬浮液喷雾量为 1.02×10^4 条 /m²,一周喷雾一次,连续三周,每个小区面积 4m²,小区间 5 米的缓冲带,每个处理 6 个重复小区。

[0055] 在解剖镜下计数实施例二的虫尸内的感染期幼虫,每头虫尸内约含 7.71×10^4 昆虫病原线虫 HbSD 感染期幼虫,虫尸填埋于甘蔗植株周围土下 5-8 厘米深处,间隔 85 厘米一个洞,每个洞内填埋 2 头虫尸,6 个重复。以不加虫尸为对照组,30 天后分别调查记录结果。每个土坑(间隔 1 米)埋 2 个 HbSD 线虫感染期虫尸体,可以减少填埋次数,提高杀虫效率,达到防治害虫的目的。

[0056] 如图 3 的实验结果表明,HbSD 虫尸剂(HbSD 线虫侵染的黄粉虫尸体)和 HbSD 悬浮液制剂对甘蔗黄螟的防治。应用 HbSD 悬浮液制剂处理 30d 后,甘蔗黄螟幼虫的相对存活率比对照组降低至 30% 以下。虫尸剂处理 30d 后,甘蔗黄螟幼虫的相对存活率比对照组降低至 61% 以下。应用 HbSD 悬浮液制剂和 HbSD 虫尸剂对甘蔗黄螟虫均具有较好的防治效果。

[0057] 实施例七:

[0058] 供试材料:实施例一制备的昆虫病原线虫 HbSD 悬浮液制剂;

[0059] 试验田块:香樟树大袋蛾发病较严重的地区

[0060] 使用实施例一制备的昆虫病原线虫 HbSD 悬浮液制剂对发病较严重的香樟树进行叶背喷施;每 15 天喷施一次,共 3 次,3 个月后调查防治结果。

[0061] 庭院喷施 HbSD 悬浮液制剂防治香樟大袋蛾害虫结果如图 4 所示,庭院喷施 HbSD 悬浮液制剂 3 次能够有效地防治香樟大袋蛾害虫爆发。

[0062] 以上内容是结合具体的实施方式对本发明所作的进一步详细说明,不能认定本发明的具体实施只局限于这些说明。对于本发明所属技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干简单推演或替换。

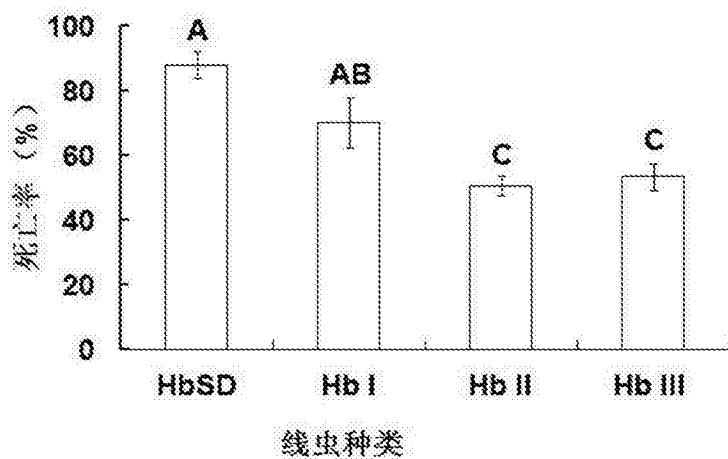


图 1

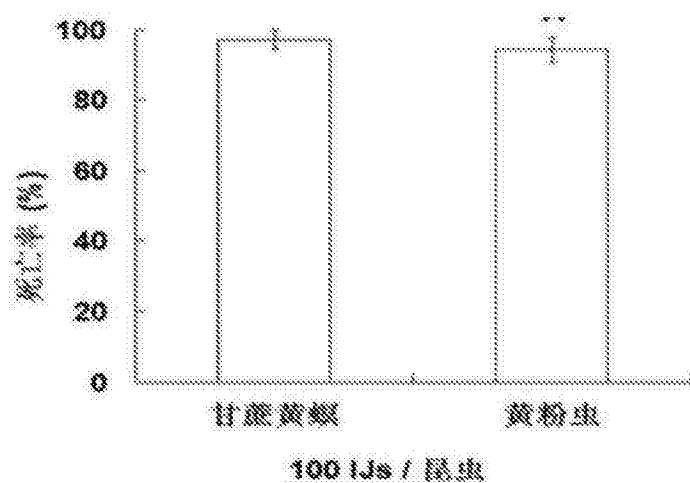


图 2

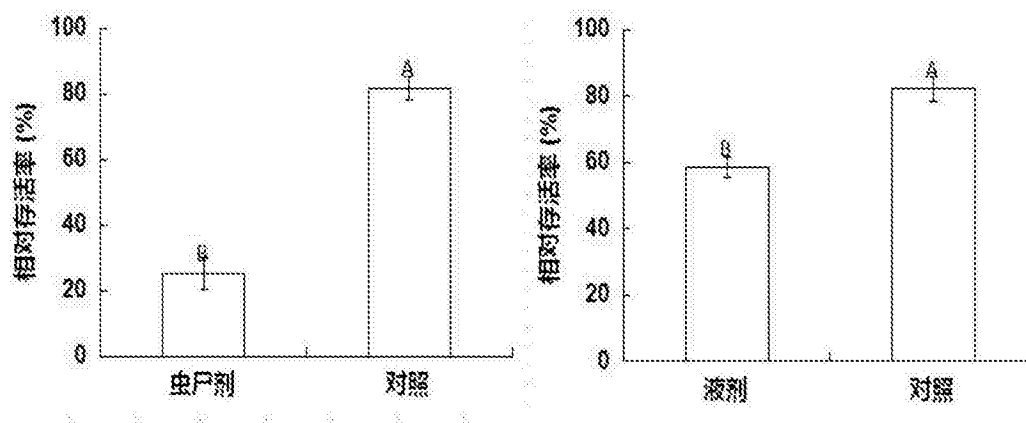


图 3

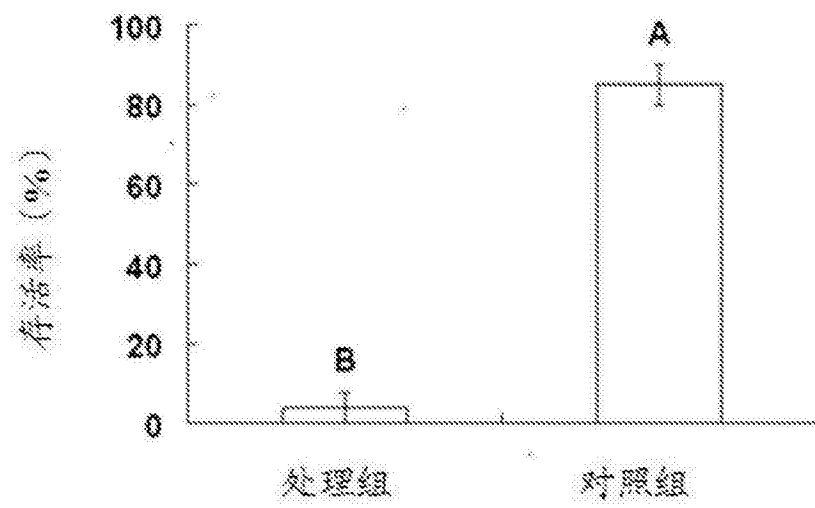


图 4