



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114946770 A

(43) 申请公布日 2022.08.30

(21) 申请号 202210586635.9

(22) 申请日 2022.05.26

(71) 申请人 湖南省林业科学院

地址 410000 湖南省长沙市韶山南路658号

(72) 发明人 谢逸菲 喻锦秀 李密 邓婉

何振

(74) 专利代理机构 深圳泛航知识产权代理事务

所(普通合伙) 44867

专利代理师 邓爱军

(51) Int. Cl.

A01K 67/033 (2006.01)

权利要求书1页 说明书2页

(54) 发明名称

一种耐高温小卷蛾斯氏线虫的筛选与驯化方法及其应用

(57) 摘要

本发明公开了一种耐高温小卷蛾斯氏线虫的筛选与驯化方法及其应用,属于生物技术领域。该方法包括以下步骤:(1)将小卷蛾斯氏线虫悬浮液培养皿置入32℃的摇床3h,之后置于23℃培养箱中恢复1h,最置于摇床中35℃处理5h,处理完成后于23℃培养箱中恢复1h;(2)从同一培养皿中吸取数滴10 μL/滴步骤(1)所处理的悬浮液分别置于载玻片上,统计每滴悬浮液中线虫的存活率;(3)繁殖培养皿中剩余的存活线虫,其产生的后代采用相同方式进行处理,当步骤(2)所统计的存活率都大于等于50%,则下一代的5h温度处理提升1℃,最终从35℃提升至38℃;(4)将38℃5h处理后存活率超过50%的线虫定义为耐热品系线虫。

1. 一种耐高温小卷蛾斯氏线虫的筛选与驯化方法,其特征在于,所述方法包括以下步骤:

(1) 将小卷蛾斯氏线虫悬浮液培养皿置入32℃的摇床中3小时,之后置于23℃培养箱中恢复1小时,最后置于摇床中35℃处理5小时,处理完成后于23℃培养箱中恢复1小时;

(2) 从同一培养皿中吸取数滴10 μ L/滴步骤(1)所处理的悬浮液分别置于载玻片上,每滴所含线虫数为80-100只,统计每滴悬浮液中线虫的存活率;

(3) 繁殖培养皿中剩余的存活线虫,其产生的后代采用上述相同方式进行处理,当步骤(2)所统计的存活率都大于等于50%,则下一代的5小时温度处理提升1℃,最终从35℃提升至38℃;

(4) 将38℃5小时处理后存活率超过50%的线虫定义为耐热品系线虫。

2. 根据权利要求1所述的筛选与驯化方法,其特征在于,所述步骤(2)中分别吸取10滴10 μ L/滴步骤(1)所处理的悬浮液置于载玻片上。

3. 根据权利要求2所述的筛选与驯化方法,其特征在于,所述繁殖培养皿中剩余存活线虫的方式为将其寄生于大蜡螟幼虫上。

4. 权利要求1-3中任一项所述的筛选与驯化方法在耐高温小卷蛾斯氏线虫筛选与驯化中的应用。

一种耐高温小卷蛾斯氏线虫的筛选与驯化方法及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于生物技术领域,尤其涉及一种耐高温小卷蛾斯氏线虫的筛选与驯化方法及其应用。

背景技术

[0002] 昆虫病原线虫是一种新型的生物杀虫剂,生物防治的概念得到越来越多人的认可,同时其能够主动搜寻寄主,对脊椎动物、植物以及人类无害,其对环境安全,使其成为一类应用广泛的防治害虫的生物资源。

[0003] 影响昆虫病原线虫制剂田间的应用效果的因素主要与线虫的生物学特性有关,涉及温度(高温、低温)、湿度、土壤以及寄主种类等。许多研究表明,昆虫病原线虫对环境的要求较高(参见[1]刘树森,李克斌,刘春琴.河北异小杆线虫一品系的分类鉴定及其对蛴螬致病力的测定[J].昆虫学报,2009,52(9):959-966.[2]余向阳,王冬兰,刘济宁.昆虫病原线虫的室内感染活性及其所受温湿度的影响[J].江苏农业学报,2003,19(1):13-17.),一般来说,25℃左右是最适合线虫存活、运动及侵染的温度,过冷和过热的温度都将严重限制昆虫病原线虫的活动能力,杨平(参见[3]杨平,李素春.温度对昆虫病原线虫发育和感染力的影响[J].昆虫天敌,1988,25(3):300-302.)、刘树森(参见[1]刘树森,李克斌,刘春琴.河北异小杆线虫一品系的分类鉴定及其对蛴螬致病力的测定[J].昆虫学报,2009,52(9):959-966.)、谷黎娜(参见[4]谷黎娜,钱秀娟,刘长仲.肃省昆虫病原线虫3个优良品系的生物学特性研究[J].甘肃农业大学学报,2009,(2):85-89.)、于海滨(参见[5]于海滨,马娟,王容燕.昆虫病原线虫对甘薯蚁象的致病力测定[J].中国生物防治学报,2012,28(4):514-520.)等的相关研究也说明了这一点。在我国并未有针对昆虫病原线虫进行耐热性筛选,因此对其进行耐热性筛选从而提升在实际应用中的杀虫效力具有紧迫性。

发明内容

[0004] 本发明的目的之一在于提供一种耐高温小卷蛾斯氏线虫的筛选与驯化方法,所述方法包括以下步骤:

[0005] (1) 将小卷蛾斯氏线虫悬浮液培养皿置入32℃的摇床中3小时,之后置于23℃培养箱中恢复1小时,最后置于摇床中35℃处理5小时,处理完成后于23℃培养箱中恢复1小时。

[0006] (2) 分别吸取数滴10μL/滴步骤(1)所处理的悬浮液分别置于载玻片上,每滴所含线虫数为80-100只,统计每滴悬浮液中线虫的存活率。

[0007] (3) 繁殖培养皿中剩余的存活线虫,其产生的后代采用上述相同方式进行处理,当步骤(2)所统计的存活率都大于等于50%,则下一代的5小时温度处理提升1℃,最终从35℃提升至38℃。

[0008] (4) 将38℃5小时处理后存活率超过50%的线虫定义为耐热品系线虫。

[0009] 更优选地,所述步骤(2)中分别吸取10滴10μL/滴步骤(1)所处理的悬浮液置于载玻片上。

- [0010] 更优选地,所述繁殖培养皿中剩余存活线虫的方式为将其寄生于大蜡螟幼虫上。
- [0011] 本发明的目的之二在于提供上述方法在耐高温小卷蛾斯氏线虫筛选与驯化中的应用。
- [0012] 与现有技术相比,本发明具有如下有益效果:
- [0013] 本发明提供的耐高温小卷蛾斯氏线虫的筛选与驯化方法步骤简单,且重复性好。

具体实施方式

[0014] 实施例1

[0015] 本实施例提供了一种耐高温小卷蛾斯氏线虫的筛选与驯化方法,所述方法包括以下步骤:

[0016] (1) 将小卷蛾斯氏线虫悬浮液培养皿置入32℃的摇床中3小时,之后置于23℃培养箱中恢复1小时,最后置于摇床中35℃处理5小时,处理完成后于23℃培养箱中恢复1小时。

[0017] (2) 从同一培养皿中吸取10滴10 μ L/滴步骤(1)所处理的悬浮液分别置于载玻片上,每滴所含线虫数为80-100只,统计每滴悬浮液中线虫的存活率,将培养皿中剩余存活线虫寄生于大蜡螟幼虫上,其产生的后代采用上述相同方式进行处理,当所统计的存活率都大于等于50%,则下一代的5小时温度处理提升1℃,最终从35℃提升至38℃,将38℃5小时处理后存活率超过50%的线虫定义为耐热品系线虫,本实施例筛选到了耐热品系线虫。

[0018] 以上所述的实施例仅是对本发明的优选方式进行描述,并非对本发明的范围进行限定,在不脱离本发明设计精神的前提下,本领域普通技术人员对本发明的技术方案做出的各种变形和改进,均应落入本发明权利要求书确定的保护范围内。