

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A01N 63/00 (2006.01)

A01P 7/00 (2006.01)



## [12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810197522.X

[43] 公开日 2009年4月1日

[11] 公开号 CN 101396024A

[22] 申请日 2008.11.4

[21] 申请号 200810197522.X

[71] 申请人 武汉武大绿洲生物技术有限公司

地址 430070 湖北省武汉市珞狮南路 519 号  
明泽丽湾

[72] 发明人 胡家鑫 邬开朗 王柏海 李胜林  
杨 明 姜 飞

[74] 专利代理机构 武汉宇晨专利事务所

代理人 王敏锋

权利要求书 4 页 说明书 15 页

### [54] 发明名称

松毛虫质型多角体病毒苏云金杆菌杀虫可湿性粉剂及制备方法

### [57] 摘要

本发明公开了一种松毛虫质型多角体病毒苏云金杆菌杀虫可湿性粉剂及制备方法。该剂型中主要成份是松毛虫质型多角体病毒和苏云金杆菌，其中松毛虫质型多角体病毒包涵体含量  $5.0 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^9$  PIB/g、苏云金杆菌含量 15 ~ 89%。并加入适量的白炭黑、云母粉、亚甲基二萘磺酸钠、十二烷基硫酸钠和木质素磺酸钠等助剂。该配方经过科学筛选，杀虫谱广，操作方便，提高了杀虫效果，防治效果达到了 75% 以上。本发明对环境生物、人畜无害，无环境污染，无农药残留，能有效控制松毛虫的发生和危害，适于在松树上大量施用。同时又加快了昆虫病毒杀虫速度，使病毒杀虫剂的杀虫时间缩短到 2-3 天。

1、一种松毛虫质型多角体病毒苏云金杆菌杀虫剂，它包括松毛虫质型多角体病毒  $5.0 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^9$  PIB/g，其特征在于：

原料	重量百分比
苏云金杆菌含量	15~89%
白炭黑	3~23%
云母粉	5~45%
亚甲基二萘磺酸钠	1~6%
十二烷基硫酸钠	1~5%
木质素磺酸钠	1~6%。

2、根据权利要求1所述的一种松毛虫质型病毒苏云金杆菌杀虫剂，其特征在于：

原料	重量百分比
苏云金杆菌含量	20~87%
白炭黑	5~20%
云母粉	5~45%
亚甲基二萘磺酸钠	1~5%
十二烷基硫酸钠	1~5%
木质素磺酸钠	1~5%。

3、根据权利要求1所述的一种松毛虫质型病毒苏云金杆菌杀虫剂，其特征在于：

原料	重量百分比
苏云金杆菌含量	80%
白炭黑	12%
云母粉	5%
亚甲基二萘磺酸钠	1%
十二烷基硫酸钠	1%
木质素磺酸钠	1%。

4、根据权利要求 1 所述的一种松毛虫质型病毒苏云金杆菌杀虫剂，其特征  
在于：

原料	重量百分比
苏云金杆菌含量	20%
白炭黑	20%
云母粉	45%
亚甲基二萘磺酸钠	5%
十二烷基硫酸钠	5%
木质素磺酸钠	5%。

5、根据权利要求 1 所述的一种松毛虫质型病毒苏云金杆菌杀虫剂，其特征  
在于：

原料	重量百分比
苏云金杆菌含量	40%
白炭黑	8%
云母粉	37%
亚甲基二萘磺酸钠	5%
十二烷基硫酸钠	5%
木质素磺酸钠	5%。

6、根据权利要求 1 所述的一种松毛虫质型病毒苏云金杆菌杀虫剂，其特征  
在于：

原料	重量百分比
苏云金杆菌含量	50%
白炭黑	13%
云母粉	29%
亚甲基二萘磺酸钠	3%
十二烷基硫酸钠	2%
木质素磺酸钠	3%。

7、根据权利要求 1 所述的一种松毛虫质型病毒苏云金杆菌杀虫剂，其特征  
在于：

原料	重量百分比
苏云金杆菌含量	60%
白炭黑	14%
云母粉	17%
亚甲基二萘磺酸钠	4%
十二烷基硫酸钠	3%
木质素磺酸钠	2%。

8、根据权利要求 1 所述的一种松毛虫质型病毒苏云金杆菌杀虫剂，其特征在于：

原料	重量百分比
苏云金杆菌含量	70%
白炭黑	16%
云母粉	6%
亚甲基二萘磺酸钠	3%
十二烷基硫酸钠	2%
木质素磺酸钠	3%。

9、根据权利要求 1 所述的一种松毛虫质型病毒苏云金杆菌杀虫剂，其特征在于：

原料	重量百分比
苏云金杆菌含量	75%
白炭黑	9%
云母粉	10%
亚甲基二萘磺酸钠	2%
十二烷基硫酸钠	1%
木质素磺酸钠	3%。

10、根据权利要求 1 所述的一种松毛虫质型病毒苏云金杆菌杀虫剂，其特征在于：

原料	重量百分比
----	-------

---

苏云金杆菌含量	60%
白炭黑	15%
云母粉	17%
亚甲基二萘磺酸钠	4%
十二烷基硫酸钠	3%
木质素磺酸钠	1%。

## 松毛虫质型多角体病毒苏云金杆菌杀虫可湿性粉剂及制备方法

### 技术领域

本发明涉及生物杀虫剂,更具体涉及一种松毛虫质型多角体病毒苏云金杆菌杀虫可湿性粉剂,适用于生物防治,该药剂无污染,有利于天敌繁衍,对保护森林生物多样性,维护生态平衡有积极的作用。此外,还涉及松毛虫质型多角体病毒苏云金杆菌杀虫可湿性粉剂的制备方法。

### 背景技术

松毛虫,鳞翅目(Lepidoptera),枯叶蛾科(Lasiocampidae),松毛虫属(Tolype)昆虫,又名毛虫、火毛虫和辣毛虫等,古称松蚕。危害松科、柏科植物。中国最早的记载见于1530年广东《龙川县志》:“明嘉靖九年,大旱时连年发生,毛黑,食松叶尽而立枯,作茧松枝上,冬末乃化尽。”至今,松毛虫仍是森林害虫中发生量大、危害面广的主要森林害虫。从南到北,遍及全中国各省(自治区),常年发生面积达3000~5000万亩次,每年因松毛虫灾害使木材生长量减少约500万立方米,危害严重时,大片松林的针叶被吃光,远看象火烧过一样,群众形容为“不冒烟的火灾”。松毛虫毒毛碰到人的皮肤,会引起红肿,甚至造成关节肿痛,影响人的身体健康。

截止到1985年,全世界有记载的松毛虫为28种,中国除欧洲松毛虫、巴基斯坦松毛虫外,其他26种都有发现包括台湾省的两个特有种。其中造成严重灾害的有落叶松毛虫、赤松毛虫、油松毛虫、马尾松毛虫、云南松毛虫、思茅松毛虫、德昌松毛虫、文山松毛虫8种,尤以马尾松毛虫危害最烈。此外,中国还有侧柏松毛虫,分布于山东,危害侧柏;明纹侧柏松毛虫,分布于山西、陕西、山东,危害侧柏、白皮松、油松和黑松;黄山松毛虫,分布于福建、浙江,危害黄山松(短叶松);宁陕松毛虫,分布于陕西,危害油松;天目松毛虫,分布于浙江、福建、江西;丽江松毛虫,分布于云南、四川;室纹松毛虫,分布于福建、陕西;秦岭松毛虫,分布于陕西;旬阳松毛虫,分布于陕西;海南松毛虫,分布

于广东，危害南亚松；高山松毛虫，分布于云南、四川；双波松毛虫，分布于云南、西藏；喜马拉雅松毛虫，分布于西藏；华山松毛虫，分布于陕西，危害华山松；大地松毛虫，分布于陕西，危害华山松和油松；太白松毛虫，分布于陕西，危害油松、华山松；花缘松毛虫，分布于台湾，危害黄山松；阿里山松毛虫，分布于台湾，危害台湾五针松。

松毛虫每年发生的世代，因种类和气候条件不同而有很大差异。落叶松毛虫在东北一年或两年完成1代，在新疆阿尔泰林区3年完成1代，幼虫越冬2次，幼虫期长达22个月。赤松毛虫、高山松毛虫一年1代。德昌松毛虫一年1~2代。云南松毛虫在高海拔地区一年1代，低海拔地区一年2代。侧柏松毛虫一年2代。油松毛虫在东北一年1代，在北京一年1~2代，在四川一年2~3代；思茅松毛虫一年1~3代；文山松毛虫一年2代；马尾松毛虫在黄淮流域一年2代，在长江流域一年2~3代，在广东、广西南部一年4代；分布越向南方，世代越多。在同一地区，每年发生世代数虽较固定，但每年产生1~2代、2~3代、3~4代的百分比却不尽同。这主要与温度、光照、松树生长状况及受害程度有关。世代分化一般在幼虫由4龄进入5龄时表现出来。不同种类的松毛虫，不论世代多少，生活习性大致近似。雌蛾多产卵于松针上，成块状，每一雌蛾产卵200~800粒，云南松毛虫最高产卵量高达1700多粒。幼虫在上午6~9时孵化，初孵幼虫在3龄前比较集中，有吐丝下垂习性，借风力传播，3龄以后分散活动，幼虫期共有6~9龄，以3~5龄幼虫越冬。长江以南除高海拔地区的思茅松毛虫下树越冬外，一般均以幼林松针丛为越冬场所。大树则有部分在大树树干皮层中越冬。在黄河、淮河流域，赤松毛虫、马尾松毛虫大部分在树干皮层，一部分在树冠针叶丛中越冬。华北地区的油松毛虫以树皮下或地面石块下为越冬场所，东北的落叶松毛虫在地被物以下越冬。幼虫以最后一个龄期取食量最大，占整个幼虫总食量的70~80%。老熟幼虫在树枝上、针叶丛中或地被灌木上结茧化蛹，老熟幼虫体上及茧上均有毒毛。成虫多在傍晚羽化，交尾、产卵均在夜间进行，趋向生长好的松林产卵。成虫飞迁是扩散的主要方式，飞迁的距离与地形地势、松林分布、受害程度、光源有关。

松毛虫发生区一般可划分为常灾区、偶灾区、无灾区。常灾区多分布于大面积纯林地带。马尾松毛虫成灾，多在海拔500米以下的低山丘陵地区。云南松

毛虫、德昌松毛虫则猖獗发生于 500~1000 米的山区。文山松毛虫的成灾区可高达 1200 米。落叶松毛虫灾害幅度较广，在天然林区，成灾区高度可达 2000 米。在自然生态环境下，几种主要松毛虫都具有周期性猖獗成灾的规律。猖獗周期的长短，与地理分布、世代多少、天敌资源、地形地势、森林类型、食料数量和质量、植被情况及林区气候条件有密切关系。一般是年发生世代多的马尾松毛虫间隔时间短，约 3~4 年爆发一次；年发生 1 世代的赤松毛虫约 10 年左右爆发一次；油松毛虫在 2~3 代区，约 3~5 年爆发一次。

松毛虫只能在环境条件对它特别有利时，才能产生数量积累和逐步发展到猖獗成灾。这个首先形成的最适的小生境，称为发生基地。害虫发生基地是可变的，常随着林木的成长、采伐、更新、演替而变迁或形成新的基地。在营养丰富的条件下，幼虫生长健壮，成虫体长、翅展增大，雌雄性比、蛹长、蛹重、产卵量、世代分化比率等均有利于后代增殖。营养不良至少可引起雄性比增高、蛹重减轻、产卵量减少，相差可达一倍以上。爆发区往往由于食量不足而引起断食死亡。气候不但直接影响松毛虫的分布和世代的多少，同时也影响整个生物种群间的动态平衡，从而诱发间歇性周期发生和数量变动。在光、热充足的条件下，生长发育期缩短；在气候不适宜的情况下则可造成松毛虫大量死亡。长期干旱时寄主植物内部水分减少、糖分增加，可使幼虫的取食量增大，间接地促使害虫增加繁殖量。短时的暴风骤雨可以冲刷树上的幼虫，长期连绵雨会影响幼虫的结茧、化蛹和成虫的羽化。

目前，防治松毛虫的药剂主要有 8000IU/毫克苏云金杆菌、300 亿孢子/克球孢白僵菌油悬浮剂、25%除虫脲可湿性粉剂、10%阿维·除虫脲、1.2%烟碱·苦参碱、25%除虫脲、25%灭幼脲、10%醚菊酯悬浮剂、24%虫酰肼悬浮剂、26%辛硫·高氯氟、90%敌百虫可溶粉剂、40%氧乐果乳油、20%啶嗪硫磷乳油、12%高氯·毒死蜱和 2%敌敌畏烟剂等。其中化学农药和生物药剂均推广使用，但是松毛虫质型多角体病毒仍未普及使用。

松毛虫质型多角体病毒大面积地防治松毛虫，可以获得较好的经济、社会和生态效益。防治原理是：在林内释放松毛虫质型多角体病毒，通过松毛虫的取食，造成松毛虫大面积地流行病，最终导致大量死亡。一般当代感染率在 70%以上，因而大大地降低虫口密度，促进生态的良性循环，此外，该病毒还具有水平和垂



直传播的效果，不污染环境，不杀伤天敌，释放一代，可以控制多代松毛虫的发生，这不但大大降低防治费用，而且增加木材和松香的收益，同时带来的生态效益是无法估量的。

昆虫病毒是一种很好的生物杀虫剂，是生物防治的重要手段之一。昆虫病毒杀虫剂的优点在于特异性强、致病力高、稳定性好、安全、不污染环境，用后能引起害虫群体病毒性疾病流行传播，可自然控制害虫消长，并导致相继世代持续带毒，染毒死亡。但是昆虫病毒杀虫剂仍存在诸多问题，解决病毒增殖技术和降低生产成本是病毒商品化生产的关键问题之一。目前这个问题已经得到解决。专利（99116353.2）利用银纹夜蛾作为生产松毛虫质型多角体病毒的替代寄生，用人工饲料群体饲养银纹夜蛾，用松毛虫质型多角体病毒感染后收集染病死虫，再经后处理加工制备松毛虫质型多角体病毒杀虫剂。该方法以廉价的人工饲料对银纹夜蛾进行群体饲养，饲养方便，可批量生产，成本低，所得杀虫剂可用于防治文山松毛虫、德昌松毛虫和马尾松毛虫；专利（03114048.3）提供一种松毛虫质型多角体病毒油剂的生产方法，把感病松毛虫中肠的病毒多角体从虫体分离出来，并与其它固相物质分开，然后加工浓缩，加入溶剂乙二醇、助悬剂十二烷基苯磺酸钠混配搅拌、研磨而制得。其松毛虫质型多角体病毒的纯度高、粒度小，悬浮效果好，解决了沉淀分层、阻塞喷头的问题，从而满足超低容量喷雾的要求，按照本方法制成的松毛虫质型多角体病毒油剂，杀虫率达到 92% 以上，其生产成本低、不污染环境、对人畜安全，有良好的经济效益和社会效益。

苏云金杆菌与松毛虫质型多角体病毒混用可产生增效作用（Bwll M R, Romine C L. *Heliothis viresens* and *H. zea* (Lepidoptera:Noctuidae):dosage effects of feeding mixtures of *Bacillus thuringiensis* and a nuclear polyhedrosis virus on mortality and growth. Environ. Entomol.,1986,15(6):1161-1165)。松毛虫质型多角体病毒和苏云金杆菌复配，集中了昆虫杆状病毒杀虫持效期长及苏云金杆菌杀虫谱效宽且速效的优点，施用一次能有效的控制松毛虫在 3-5 年内不产生大面积危害。其作用机理是通过苏云金杆菌作用于昆虫中肠，降低了昆虫对有害因子的抵抗力，而使病毒更易侵染幼虫，使其停食或取食很少，从而失去危害作物的能力，直至死亡。病死虫又可作为病源，传染其它害虫，在种群中引发流行病（虫瘟），并可通过成虫感染虫卵及次代幼虫，从而有效控制松毛虫的种群数量。

## 发明内容

本发明的目的是在于提供了一种松毛虫质型多角体病毒苏云金杆菌杀虫可湿性粉剂,该配方经过科学筛选,杀虫谱广,操作方便,提高了杀虫效果,防治效果达到了75%以上。

本发明的另一个目的是在于提供了一种松毛虫质型多角体病毒苏云金杆菌杀虫可湿性粉剂的制备方法。该方法工艺简单,操作方便,减少了对环境的污染,提高了经济效益和社会效益。

本发明提供的松毛虫质型多角体病毒苏云金杆菌组合物,松毛虫质型多角体病毒对苏云金杆菌有增效作用,增效系数为141.91,充分发挥了苏云金杆菌杀虫谱效宽且速效和松毛虫质型多角体病毒杀虫持效期长的优点,施用一次能有效的控制松毛虫在3-5年内不产生危害。

本发明中提供的松毛虫质型多角体病毒苏云金杆菌杀虫可湿性粉剂,对松毛虫的杀虫速度明显优于单用松毛虫质型多角体病毒或苏云金杆菌,具有很好的应用价值。本领域的普通技术人员都知道,通过大量室内毒力测定和田间药效试验,可以得到剂型中组分的优选含量,其中剂型中松毛虫质型多角体病毒含量 $5.0 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^9$  PIB/g,苏云金杆菌含量15~89%。一种松毛虫质型多角体病毒苏云金杆菌杀虫可湿性粉剂,它由以下重量配比的原料制成:

松毛虫质型多角体病毒	$5.0 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^9$ PIB/g
苏云金杆菌含量	15~89%
白炭黑	3~23%
云母粉	5~45%
亚甲基二萘磺酸钠	1~6%
十二烷基硫酸钠	1~5%
木质素磺酸钠	1~6%。

配制时依次在松毛虫质型多角体病毒和苏云金杆菌中加入助剂,预混,搅拌均匀,所述的助剂为云母粉、白炭黑、十二烷基硫酸钠、木质素磺酸钠和亚甲基二萘磺酸钠,用气流粉碎机粉碎后,过筛,然后用超微粉碎机粉碎后,检验分装,即可得到可湿性粉剂(参考刘步林2003年10月出版《农药剂型加工技术(第二版)》)。

一种松毛虫质型多角体病毒苏云金杆菌杀虫剂，它由以下重量百分比的原料制成（优选范围）：

松毛虫质型多角体病毒	$5.0 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^9$ PIB/g
苏云金杆菌含量	20~87%
白炭黑	5~20%
云母粉	5~45%
亚甲基二萘磺酸钠	1~5%
十二烷基硫酸钠	1~5%
木质素磺酸钠	1~5%。

配制时依次在松毛虫质型多角体病毒和苏云金杆菌中加入助剂，预混，搅拌均匀，用气流粉碎机粉碎后，过筛，然后用超微粉碎机粉碎后，检验分装，即可得到可湿性粉剂（参考刘步林 2003 年 10 月出版《农药剂型加工技术（第二版）》）。

所述的松毛虫质型多角体病毒不占本发明的任何重量百分比，加了所述的松毛虫质型多角体病毒含量使本发明的产品更加好，杀虫优势非常好。

一种松毛虫质型多角体病毒苏云金杆菌杀虫可湿性粉剂的制备步骤如下：

1. 在松毛虫质型多角体病毒和苏云金杆菌中加入助剂，所述的助剂为白炭黑、云母粉、亚甲基二萘磺酸钠、十二烷基硫酸钠、木质素磺酸钠，在松毛虫质型多角体病毒和苏云金杆菌中按顺序按比例依次加入白炭黑、云母粉、亚甲基二萘磺酸钠、十二烷基硫酸钠、木质素磺酸钠，预混，混匀。
2. 混匀后，经过气流粉碎机粉碎。
3. 粉碎后过筛，98%以上通过 325 目筛。
4. 然后进行超微粉碎，98%以上可通过 800 目筛。
5. 抽样检验松毛虫质型多角体病毒和苏云金杆菌含量。
6. 产品合格后，分装，打包后入库。

即可得到可湿性粉剂（参考刘步林 2003 年 10 月出版《农药剂型加工技术（第二版）》）。

本发明与现有技术相比，具有以下优点和效果：

(1) 松毛虫质型多角体·苏云金杆菌杀虫可湿性粉剂是一种新型的生物农药，由专一性的病毒、广谱性的苏云金杆菌和化学助剂经筛选研究复配而成，显示出病毒与苏云金杆菌协同作用防治松毛虫的优势，克服了单纯用病毒潜伏期长和单独用苏云金杆菌防效期短的缺陷。

(2) 能防、治结合，有利于控制松毛虫种群的数量。

(3) 病毒专一性强，对人畜、家禽、植物无毒无害，不伤害天敌，有利于维护森林的生态平衡，对环境无不良影响，是一种安全无毒，又不使害虫产生抗药性的高效生物农药。

(4) 用量少，药效期长，即经济实惠，又可以达到在较长时间内控制害虫的目的，施药一次，3~5年内无虫灾爆发。这都是化学农药不能相比的。

#### 具体实施方式

实施例 原料	1	2	3	4	5	6	7	8
松毛虫质型多角体 病毒 (PIB/g)	$5.0 \times 10^6$	$1.0 \times 10^7$	$2.0 \times 10^7$	$5.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^8$	$2.0 \times 10^8$	$5.0 \times 10^8$	$1.0 \times 10^9$
苏云金杆菌	86	80	75	70	65	60	55	50
白炭黑	6	11	12	9	11	13	15	17
云母粉	5	5	7	14	13	17	19	24
亚甲基二萘磺酸钠	1	1	3	2	4	5	4	3
十二烷基硫酸钠	1	2	2	3	4	1	2	3
木质素磺酸钠	1	1	1	2	3	4	5	3
质量含量 (%)	100	100	100	100	100	100	100	100

实施例 原料	9	10	11	12	13	14	15	16
松毛虫质型多角体 病毒 (PIB/g)	$5.0 \times 10^6$	$1.0 \times 10^7$	$2.0 \times 10^7$	$5.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^8$	$2.0 \times 10^8$	$5.0 \times 10^8$	$1.0 \times 10^9$
苏云金杆菌	45	50	35	40	25	20	30	40
白炭黑	20	14	20	14	20	20	19	13
云母粉	20	25	30	35	40	45	40	35

亚甲基二萘磺酸钠	5	1	5	3	5	5	5	4
十二烷基硫酸钠	5	5	5	4	5	5	4	3
木质素磺酸钠	5	5	5	4	5	5	2	5
质量含量 (%)	100	100	100	100	100	100	100	100

实施例 原料	17	18	19	20	21	22	23	24
松毛虫质型多角体 病毒 (PIB/g)	$5.0 \times 10^6$	$1.0 \times 10^7$	$2.0 \times 10^7$	$5.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^8$	$2.0 \times 10^8$	$5.0 \times 10^8$	$1.0 \times 10^9$
苏云金杆菌	50	60	70	80	70	60	50	40
白炭黑	8	10	12	5	16	18	18	18
云母粉	31	20	9	7	7	13	22	31
亚甲基二萘磺酸钠	1	2	3	4	5	4	3	2
十二烷基硫酸钠	5	4	3	2	1	3	4	5
木质素磺酸钠	5	4	3	2	1	2	3	4
质量含量 (%)	100	100	100	100	100	100	100	100

一种松毛虫质型多角体病毒苏云金杆菌杀虫可湿性粉剂的制备步骤如下:

1. 在松毛虫质型多角体病毒和苏云金杆菌中依次加入助剂, 所述的助剂为白炭黑、云母粉、亚甲基二萘磺酸钠、十二烷基硫酸钠、木质素磺酸钠, 在松毛虫质型多角体病毒和苏云金杆菌中按顺序按比例依次加入白炭黑、云母粉、亚甲基二萘磺酸钠、十二烷基硫酸钠、木质素磺酸钠, 预混, 混匀。

2. 混匀后, 经过气流粉碎机粉碎。

3. 粉碎后过筛, 98%以上通过 325 目筛。

4. 然后进行超微粉碎, 98%以上可通过 800 目筛。

5. 抽样检验松毛虫质型多角体病毒和苏云金杆菌含量。

6. 产品合格后, 分装, 打包后入库。

即可得到可湿性粉剂(参考刘步林 2003 年 10 月出版《农药剂型加工技术(第二版)》)。

### 试验例 1 松毛虫质型多角体病毒 (DpCPV>10<sup>9</sup>PIB/克) 对鲤鱼毒性试验

试验单位: 化学工业农药安全评价质量监督检验中心

试验时间: 2001 年 3 月 12 日

对武汉武大绿洲生物技术有限公司提供的松毛虫质型多角体病毒 (DpCPV>10<sup>9</sup>PIB/克) 进行了鲤鱼毒性试验。根据预备试验结果, 设计了 5000mg/L 1 个试验浓度, 同时进行空白试验。试验采用半静水式鱼毒测定方法, 试验用水以日本 PCF-1200 型活性炭过滤装置处理。按设计剂量称取试药, 搅拌均匀后倒入试验用水中, 配置成设计浓度的药液, 以不加药为空白对照。被试物浓度、水溶氧量、水 pH 值在试验开始时进行测定, 而后每 48 小时测定 1 次。水硬度和碱度只测定空白对照缸, 试验开始时测定 1 次。染毒后, 观察 96 小时内中毒症状和死亡率。试验结果表明, 武大绿洲松毛虫质型多角体病毒 (DpCPV>10<sup>9</sup>PIB/克) 对鲤鱼的 LC<sub>50</sub> (96 小时) 大于 5000mg/L。根据国家环保局《化学农药环境安全评价试验准则》中规定的鱼毒分级标准, 该物质在本实验室条件下对鱼的毒性为“低毒级”。

### 试验例 2 松毛虫质型多角体病毒 (DpCPV>10<sup>9</sup>PIB/克) 对鹌鹑经口毒性试验

试验单位: 化学工业农药安全评价质量监督检验中心

试验时间: 2001 年 3 月 13 日

对武汉武大绿洲生物技术有限公司提供的武大绿洲松毛虫质型多角体病毒 (DpCPV>10<sup>9</sup>PIB/克) 进行了鹌鹑毒性试验。根据预备试验结果, 设计了 5000mg/L 1 个试验剂量, 采用经口染毒方式, 雌、雄分别进行, 各为 10 只鹌鹑, 同时进行空白试验。给药后观察 7 天, 记录中毒症状和死亡数, 根据死亡结果计算半数致死量, 求出该药对鹌鹑的 LD<sub>50</sub> 值。试验结果表明, 武大绿洲松毛虫质型多角体病毒 (DpCPV>10<sup>9</sup>PIB/克) 对鹌鹑的 LD<sub>50</sub> 均大于 5000mg/L。根据国家环保局《化学农药环境安全评价试验准则》中对鸟类毒性分级标准的规定, 该物质在本实验室条件下对鸟的毒性为“低毒级”。

### 试验例 3 松毛虫质型多角体病毒原药对蜜蜂急性接触毒性试验

试验单位: 化学工业农药安全评价质量监督检验中心

试验时间：2005年8月22日

对武汉武大绿洲生物技术有限公司提供的松毛虫质型多角体病毒原药进行了蜜蜂接触毒性试验。根据预试验结果，设计了100.0 $\mu\text{g}$  a.i./只一个试验组，每组20只蜜蜂。同时设立空白对照组、溶剂对照组，各组均设三个平行。采用接触染毒方法，用丙酮配制设计剂量的被试物溶液，再以微量注射器进行染毒，每只蜜蜂接触染毒1.5 $\mu\text{L}$ 。观察和记录12h、48h受试蜜蜂的中毒症状及死亡数。计算48hLD<sub>50</sub>值和95%可信限。

试验结果表明：松毛虫质型多角体病毒原药对蜜蜂的半数致死量LD<sub>50</sub>(48h) >100.0 $\mu\text{g}$  a.i./只。

据此结果和中华人民共和国农业部《化学农药环境安全评价试验准则》规定的蜜蜂毒性分级标准，该物质在本实验室条件下对蜜蜂的急性接触毒性为“低毒”级。

#### 试验例4 松毛虫质型多角体病毒原药对家蚕96h饲喂毒性试验

试验单位：化学工业农药安全评价质量监督检验中心

试验时间：2005年8月29日

本中心对武汉武大绿洲生物技术有限公司提供的松毛虫质型多角体病毒原药进行了家蚕96h饲喂毒性试验。

根据预试结果，设计1000.0mg/L、1585.0mg/L、2512.0mg/L、3981.0mg/L、6310.0mg/L、10000.0mg/L 6个药液浓度，公比为1.58，同时设计空白对照组。试验组和空白对照组均设三个平行。采用食下毒叶法进行染毒，以设定浓度药液定量浸渍桑叶，以6mL药液浸渍6g桑叶，晾干后将染毒桑叶饲喂家蚕，整个试验期间饲喂处理桑叶，观察记录处理后24h、48h、72h、96h的中毒症状和死亡情况。

根据试验结果，松毛虫质型多角体病毒原药对家蚕24h及48h的半数致死浓度LC<sub>50</sub>大于10000.0mg/kg；对家蚕96h的半数致死浓度LC<sub>50</sub>为5064.8mg/kg桑叶，95%置信区间为4217.8mg/kg桑叶—6081.8mg/kg桑叶。

根据中国农业部农药检定所《化学农药环境安全评价试验准则》中农药对家蚕毒性分级标准，松毛虫质型多角体病毒原药对家蚕96h饲喂毒性为“低毒”

级。

#### 试验例 5 松毛虫多角体病毒复合杀虫剂安全性毒理学试验评价报告

鉴定单位：湖北省卫生防疫站劳卫科

由武汉武大绿洲生物技术有限公司提供的松毛虫多角体病毒复合杀虫剂，主要成分为松毛虫质型多角体病毒和苏云金杆菌。根据《农药安全性毒理学评价程序》和 GB15670-1995《农药登记毒理学试验方法》的要求，本报告进行了急性经口 LD<sub>50</sub>、急性经皮 LD<sub>50</sub>、致敏试验和眼刺激试验。根据（99）检字第 80032 号检测报告，结果如下

##### 一、材料

受试样品为松毛虫多角体病毒复合杀虫剂，由武汉武大绿洲生物技术有限公司尹宜农提供，实验动物为 Wistar 大鼠，由同济医科大学动物中心提供，大耳白兔、白色豚鼠由湖北省医学实验动物中心提供。实验前观察一周，符合实验要求。

##### 二、方法

###### 1.急性经口 LD<sub>50</sub> 毒性试验

选用初成年雄性和雌性 Wistar 大鼠各 10 只，雄性大鼠体重 202-268g，雌性大鼠体重 184-220g。动物隔夜禁食后于次日上午称重，将受试样品剂量为 5000mg/kg 稀释液经口一次灌胃染毒。连续 14 天观察动物中毒表现及死亡情况。

###### 2.急性经皮 LD<sub>50</sub> 毒性试验

选用初成年雌、雄性 Wistar 大鼠各 10 只，雄性大鼠体重 194-262g，雌性大鼠体重 182-218g。动物染毒前 24h 电推剪去毛 5×6cm<sup>2</sup>，将受试样品剂量为 4000mg/kg 的样品稀释溶液一次均匀涂在 4×5cm<sup>2</sup> 脱毛皮肤上，用塑料纸盖住、胶布密封。染毒 4 小时后用温水洗净染毒区域终止染毒，连续 14 天观察动物中毒表现及死亡情况。

###### 3.致敏试验

选用封闭群白色豚鼠 20 只，随机分为试验组和阴性对照组两组，每组 10 只，雌、雄各半。方法采用 GB15670-1995 中 3 次诱导，每次诱导剂量为 0.2g；2 次激发，激发剂量为 0.2g。分别于 24h 和 48h 观察致敏反应。

###### 4.眼刺激试验



选用成年大耳白兔4只,经健康观察双眼无异常。受试样品浓度为300mg/mL。按0.1mL/只一次滴入右眼结膜囊内,1分钟后闭合上下眼睑,左眼作对照。于滴眼后1、24、48、72h和第4、7天观察双眼。根据眼损伤程度评分标准进行眼刺激分级。

### 三、结果

#### 1.急性经口 LD<sub>50</sub> 毒性试验

动物染毒后连续观察14天无明显中毒症状,动物无死亡发生。雌、雄性大鼠急性经口 LD<sub>50</sub> 均大于5000mg/kg。

#### 2.急性经皮 LD<sub>50</sub> 毒性试验

动物染毒后中毒表现同经口染毒。动物无死亡发生。雌、雄性大鼠急性经口 LD<sub>50</sub> 均大于4000mg/kg。

#### 3.致敏试验

受试样品组和阴性对照组经皮反复激发均未见明显红斑、水肿发生,致敏率为0,致敏强度为I级。

#### 4.眼刺激试验

经1、24、48、72h和第4、7d观察,右眼有明显红肿,有分泌物,未见角膜红肿反应。I.A.O.I为12分,M.I.O.I48h后小于5,眼刺激强度为轻度刺激性,结果见下表:

DpCPV·Bt 对家兔眼刺激结果

动物号	眼刺激反应积分						I.A.O.I	M.I.O.I	刺激强度
	1h	24h	48h	72h	4d	7d			
1	2	4	2	2	2	0			
2	2	2	2	2	0	0			
3	2	4	4	2	2	0			
4	2	2	2	2	0	0			
总积分	8	12	8	8	4	0	12		
平均刺激指数	2	3	2	2	1	0	3	48h后 小于5	轻度刺激性

#### 四、评价和结论

根据本次试验结果（（99）检字第 80032 号）检测报告，根据我国农药急性毒性分级和眼刺激、致敏试验评价标准，评价如下：由武汉武大绿洲生物技术有限公司提供的松毛虫多角体病毒复合杀虫剂样品雌、雄性大鼠急性经口 LD<sub>50</sub> 均大于 5000mg/kg，属于低毒类；雌、雄性大鼠急性经皮 LD<sub>50</sub> 均大于 4000mg/kg，属低毒类。致敏率为 0，致敏强度为 I 级，属弱致敏类；对兔眼刺激积分指数 12 分，平均指数 3 分，48h 后小于 5，眼刺激强度为轻度刺激性。

#### 试验例 6 1 万 PIB/毫克松质·1.6 万 IU/毫克苏 WP 防治马尾松毛虫田间药效试验

示范试验地点：东至县金寺山林场

示范试验单位：安徽省农药检定所

示范报告日期：2005 年 7 月 1 日

##### 1、示范试验材料与与方法

###### 1.1 概况

示范试验地位于安徽省东至县金寺山林场，造反年生马尾松纯林，树高 3-4 米，地被少杂灌。示范试验地为坡度<30° 的山丘地，土壤为偏酸性黄土。示范试验实施时三代马尾松毛虫幼虫 95% 为 3-4 龄，平均单株有虫 40 头左右。

###### 1.2 示范试验设计与安排

###### 1.2.1 处理

I 1 万 PIB/毫克松毛虫质型多角体病毒·1.6 万 IU/毫克苏云金杆菌 WP100 克/亩（武汉武大绿洲生物技术有限公司生产）

II 1 万 PIB/毫克松毛虫质型多角体病毒·1.6 万 IU/毫克苏云金杆菌 WP150 克/亩（武汉武大绿洲生物技术有限公司生产）

III 1 万 PIB/毫克松毛虫质型多角体病毒·1.6 万 IU/毫克苏云金杆菌 WP200 克/亩（武汉武大绿洲生物技术有限公司生产）

IV 1.6 万 IU/毫克苏云金杆菌 WP100 克/亩（安徽众邦生物工程有限公司）

V 空白对照

1.2.2 示范小区安排：设 5 个处理，4 次重复，共 20 个小区，示范试验前每小区定 5 棵树，并设立保护行。

### 1.2.3 喷药时间和方法

施药在7月3日下午4时后进行,采用NS-16手动喷雾器进行喷雾,亩用药液75kg。施药当天晴天,偏北风1级,气温35℃,示范试验期间无雨。

### 1.2.4 调查方法

防治前挂牌标记所定的每一颗样树,清除树冠下杂草,清点树上虫口基数。防治后24h、48h、72h分别调查幼虫死亡数及活虫数,计算虫口防效。

## 2、试验结果

由表一可知,处理I在施药后24h、48h、72h防效分别为63.4%、71.3%、78.1%,处理II防效分别为68.9%、80.3%、85.7%,与对照药剂BT防效相当(24h、48h、72h防效分别为74.3%、81.8%、83.7%),处理III24h、48h、72h防效为78.0%、88.3%、94.4%,防效最高。

## 3、结论

1万 PIB/毫克松质·1.6万 IU/毫克苏 WP 防治马尾松毛虫大面积示范试验过程中,未见有任何药害产生,森林鸟类也未发现中毒现象。可见该药剂安全性好,对环境温和,无污染,有利于天敌繁衍的特点,对保护森林生物多样性,维护生态平衡有积极的作用,且对马尾松毛虫幼虫有优良的防治效果。1万 PIB/毫克松质·1.6万 IU/毫克苏 WP150-200克/亩的药液喷施72h后的防效高于1.6万 IU/毫克 BT100克/亩。因此,在防治松毛虫时推荐剂量为150-200克/亩,建议1万 PIB/毫克松质·1.6万 IU/毫克苏 WP 在防治马尾松毛虫上大力推广应用。

表一 不同用量防效对比表

处理(克/亩)	防治后24h校正防效	防治后48h校正防效	防治后72h校正防效
1万 PIB/毫克松质·1.6万 IU/毫克苏 WP100	63.4%	71.3%	78.1%
1万 PIB/毫克松质·1.6万 IU/毫克苏 WP150	68.9%	80.3%	85.7%
1万 PIB/毫克松质·1.6万 IU/毫克苏 WP200	78%	88.3%	94.4%
1.6万 IU/毫克 BT100	74.3%	81.8%	83.7%
空白对照	0	1.4%	2.9%

表二 1万 PIB/毫克松质·1.6万 IU/毫克苏 WP 防治松毛虫死亡率调查统计表

单位：头、%

处理（克/亩）	重 复	虫 口 基 数	药后 24h		药后 48h		药后 72h	
			死虫数	死亡率 (%)	死虫 数	死亡率 (%)	死虫 数	死亡率 (%)
1万 PIB/毫 克松质·1.6 万 IU/毫克 苏 WP100	I	162	108	66.7	125	77.2	130	80.2
	II	157	102	65	121	77.1	127	80.9
	III	172	106	61.6	105	61.6	134	77.9
	IV	245	148	60.4	174	71	186	75.9
	$\bar{X}$				63.4		71.7	
1万 PIB/毫 克松质·1.6 万 IU/毫克 苏 WP150	I	146	107	66.4	125	85.6	134	91.8
	II	142	95	66.9	109	76.9	119	83.1
	III	153	106	69.3	125	81.7	131	85.6
	IV	148	108	78.1	116	78.4	124	83.8
	$\bar{X}$				68.9		80.6	
1万 PIB/毫 克松质·1.6 万 IU/毫克 苏 WP200	I	145	113	77.9	124	85.5	188	95.2
	II	168	124	73.8	146	86.9	157	93.5
	III	192	158	82.3	177	92.2	185	96.4
	IV	208	162	77.9	186	89.4	194	93.3
	$\bar{X}$				78		88.5	
1.6万 IU/ 毫克 BT100	I	161	108	67.1	129	80.1	132	82.1
	II	208	152	73.1	160	76.9	163	78.4
	III	186	145	78	158	84.9	164	88.2
	IV	153	121	79.1	132	86.3	135	88.2
	$\bar{X}$				74.3		82.1	
空白对照	I	172			3	1.7	5	2.9
	II	143			2	1.4	4	2.8
	III	141			0	0	3	2.1
	IV	212			5	2.4	8	3.8
	$\bar{X}$	167				1.4		2.9