芫菁夜蛾线虫和嗜菌异小杆线虫寄生特性的比较*

万航宇** 钱海涛 董 辉 丛 斌***

（沈阳农业大学植物保护学院 植物病虫害生物防治研究室 沈阳 110161）

Comparison of parasitization of *Steinernema feltiae* and *Heterorhaditis bacteriphora*. WAN Hang-Yu**, QIAN Hai-Tao, DONG Hui, CONG Bin***(*College Of Plant Protection, Shenyang Agriculture University, Laboratory For Biological Control Of Noxious Insects And Plants*, Shenyang 100161, China)

Abstract The biological characteristics of *Steinernema feltiae* Filipjev Otio strain and *Heterorhaditis bacteriphora* Poinar 15-2 strain were reported in this paper. The results showed that Otio strain took 220～230 h to complete an infective cycle in *Galleria mellonella* L. at 25℃, and 15-2 strain took 200～210 h at the same time. 15-2 strain could produce more infective juvenile than Otio strain could do. Otio strain and 15-2 strain's infective temperature to *G. mellonella* ranged from 15 to 35℃. at this time rang, Otio strain had higher infectivity and mobility compared with 15-2 strain. The favorable moisture of soil is 5%～15%, the lower the moisture of soil, the weaker the infectivity of Otio strain and 15-2 strain.

Key words *Steinernema feltiae*, *Heterorhaditis bacteriphora*, biological characteristics

摘　要　对2种昆虫病原线虫(芫菁夜蛾线虫 *Steinernema feltiae* Filipjev 和嗜菌异小杆线虫 *Heterorhaditis bacteriphora* Poinar)的生物学特性进行研究。结果表明:在25℃下,在大蜡螟 *Galleria mellonella* L. 幼虫体内完成1个侵染周期芫菁夜蛾线虫 Otio 品系需220～230 h,嗜菌异小杆线虫15-2品系需200～210 h。15-2品系比 Otio 品系具有较强的繁殖力。2种线虫侵染大蜡螟幼虫的温度范围均为20～30℃,在此温度范围内,Otio 品系的侵染力和运动能力均强于15-2品系。当土壤含水量(w/w)为5%～15%,线虫的侵染活性最高,随湿度降低线虫的侵染活性明显降低。

关键词　芫菁夜蛾线虫,嗜菌异小杆线虫,生物学特性

昆虫病原线虫(entomopathogenic nematodes)是一类重要的害虫生物防治因子,它的研究从20世纪30年代起距今已有70多年的历史,特别是携带共生菌的斯氏属线虫 *Steinernema* 和异小杆属线虫 *Heterorhabditis*,已成为近几年国内外生物防治领域研究的热点之一,是害虫生物防治中最有潜力的类群[1]。

昆虫病原线虫作为一种理想的生物防治因子,具有以下优点:对昆虫专性寄生;寄主范围广;对寄主昆虫具有主动搜索能力;能够从寄主昆虫的自然开口(如口器,气门和肛门),伤口或节间膜进入寄主昆虫体内,并能够迅速杀死寄主昆虫;可离体培养;能够人工大量生产;同大多数化学农药相兼容;对环境安全;可以防治一些其他方法不易控制的土栖性和钻蛀性害虫。

作者对芫菁夜蛾线虫 *Steinernema feltiae* Filipjev 和嗜菌异小杆线虫 *Heterorhaditis bacteriphora* Poinar 进行了生物学特性的研究和比较,以期为该2种线虫今后的防治应用提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　供试线虫和供试昆虫

芫菁夜蛾线虫 Otio 品系,嗜菌异小杆线虫

*辽宁省农业科技攻关项目(2001208001),辽宁省自然科学基金资助项目(20022084)。

** Email: why_930@yahoo.com.cn

*** 通讯作者,Email: bin1956@163.com

收稿日期:2006-10-17,修回日期:2007-01-23,接受日期:2007-02-14

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

15-2 品系,均由沈阳农业大学害虫生物防治实验室保存。2 种线虫均用大蜡螟幼虫活体培养。大蜡螟幼虫 *Galleria mellonella* L. 由实验室人工饲料饲养。

1.2 二种线虫的个体发育

采用 Dutky[2] 的滤纸法感染大蜡螟幼虫,以 60 条线虫/头大蜡螟幼虫的剂量,在 25 ℃进行侵染,24 h 后取出放入线虫收集盘内,收集盘置于 25 ℃恒温室内,每隔 8 h 解剖 3 条幼虫,在显微镜下观察并记录 2 种线虫的发育情况。

1.3 二种线虫繁殖力的比较

以 60 条线虫/头大蜡螟幼虫的剂量,在 25 ℃下侵染 24 h 后取出大蜡螟,用电子天平逐一称量大蜡螟幼虫的重量,待大蜡螟死亡后,单头移入收集盘中收集线虫,每种线虫感染 10 头大蜡螟幼虫,1 ~ 2 周后待线虫收集完毕,用稀释计数法计数单头大蜡螟所繁线虫的数量,比较两种线虫的产量。线虫的产量用条/g 表示。

1.4 温度对二种线虫侵染活性的影响

在装有 30 g 经高温消毒的细砂的指形管内放入 3 头大蜡螟老熟幼虫,用细砂埋好。分别将 2 种线虫以无菌水稀释成约 1 mL 含 180 条的线虫悬浮液,每个指形管内加入线虫悬浮液 1 mL,使平均每头试虫感染 60 条线虫,摇匀后再盖上纱网,砂土的含水量为 10%(w/w)左右。按每组 30 头大蜡螟幼虫分 6 个组分别置于 10, 15, 20, 25, 30 和 35 ℃恒温及相对湿度 80%的培养箱内培养,每处理同时设不加线虫的同量清水处理作对照。分别于处理后 24, 48, 72 和 96 h 检查大蜡螟感染死亡数,计算死亡率。

1.5 土壤湿度对二种线虫侵染活性的影响

生测方法及线虫接种量同 1.4。砂土含水量分别调节为 1%, 2%, 5%, 10%和 15%,不同湿度处理同时设不加线虫处理作对照。所有处理置于 25 ℃恒温培养箱内培养,分别于 24, 48, 72 和 96 h 后检查大蜡螟的死亡数,并计算死亡率。

1.6 二种线虫的运动能力比较

参照 Wright 的方法并加以修改[4],将体积浓度为 1%的琼脂溶化后倒入直径为 12 cm 的培养皿内,冷却后在中心打一直径为 2 cm 的圆形孔,在孔内滴入 1 mL 用磷酸缓冲液提取的大蜡螟幼虫体液,围绕圆形孔放一宽为 1 cm 内经到孔边缘的距离为 3 cm 的滤纸圈,将 1 mL 含 1 000条线虫的线虫悬液均匀滴加在滤纸圈上,然后分别将 2 种线虫放到 20, 25, 30 ℃, 3 个温度处理的恒温培养箱内,检查并记录 24 h 后运动到孔内的线虫数量,每个处理做 3 个重复。

2 结果和分析

2.1 二种线虫的个体发育

观察表明,在 25 ℃下,2 种线虫在大蜡螟体内发育均为 2 个世代,芫菁夜蛾线虫完成 1 个侵染周期共需 220 ~230 h,嗜菌异小杆线虫完成 1 个侵染周期共需 200 ~ 210 h。2 种线虫各虫态的发育情况见表 1。

表 1 芫菁夜蛾线虫 Otio 品系和嗜菌异小杆线虫 15-2 品系在 25℃下的个体发育

发育状况	Otio 品系发育时间(h)	15-2 品系发育时间(h)
侵染期幼虫侵入寄主	24	24
幼虫发育成 4 龄	32	40
Otio 品系幼虫发育为成虫,雌虫阴门突出,体长与雄虫差别不大;15-2 品系幼虫发育为雌雄同体大母虫	42	50
Otio 品系雌虫体长明显大于雄虫,2 种品系雌虫多数体内充满卵粒,少数体内可见子 1 代幼虫	65	72
子 1 代幼虫大量从母体产出	89	86
幼虫发育为 3、4 龄	110~ 128	104~ 120
子 1 代雌,雄成虫出现,雌虫个体比母代雌虫小	132~ 148	128~ 134
子 1 代雌虫体内充满卵粒	162	142
卵粒孵化为幼虫,大量子 2 代幼虫钻出母体	186	166
幼虫部分发育为侵染期幼虫,钻出寄主	210	190
侵染期幼虫大量钻出寄主体外	220~ 230	210~ 220

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

2.2　芫菁夜蛾线虫和嗜菌异小杆线虫繁殖力的比较

由图 1 所示，Otio 品系和 15-2 品系线虫分别在大蜡螟体内繁殖时，每 g 昆虫组织所繁殖线虫的产量分别为 0.53×10^6 条和 1.1×10^6 条，15-2 品系的产量约为 Otio 品系产量的 2 倍，这可能是由于 15-2 品系线虫个体较小，发育所消耗的养分较少。因此利用等量的大蜡螟幼虫组织，15-2 品系的繁殖力要强于 Otio 品系。

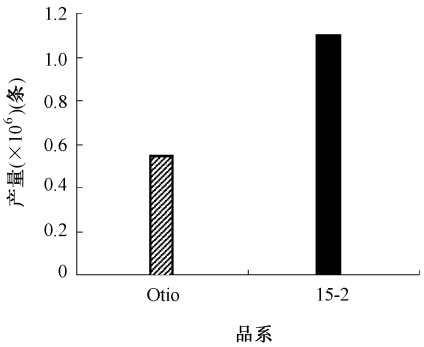

图 1　二种线虫繁殖力的比较

2.3　温度对二种线虫侵染活性的影响

从表 2 可看出，温度在 10 ℃和 15 ℃时，2 种线虫均不能侵染大蜡螟，大蜡螟在 96 h 的死亡率仍为 0 或很低；当温度在 20，25 和 30 ℃时，Otio 对大蜡螟的侵染活性较高，在 48 h 大蜡螟的死亡率均可达到 100%；而 15-2 品系线虫在此温度范围对大蜡螟的侵染活性稍低于 Otio 品系线虫，对大蜡螟的致死时间稍长，72 h 大蜡螟的死亡率在 80% 以上。当温度上升至 35 ℃时，2 种线虫丧失侵染活性，对大蜡螟不侵染。结果表明，芫菁夜蛾线虫和嗜菌异小杆线虫的侵染适温均为 20 ~ 30 ℃。

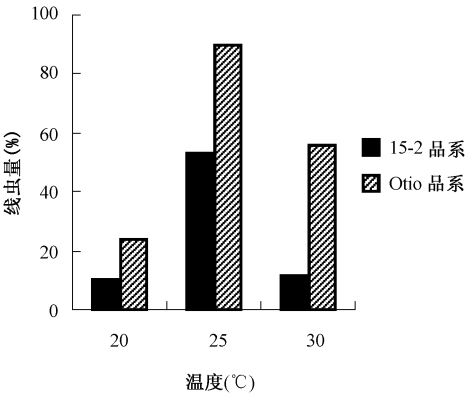

图 2　二种线虫运动能力比较

2.4　土壤湿度对二种线虫侵染活性的影响

表 2　温度对 2 种线虫感染活性的影响

温度(℃)	芫菁夜蛾线虫 Otio 品系				嗜菌异小杆线虫 15-2 品系			
	24	48	72	96	24	48	72	96(h)
10	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	16.7	0	0	0	0
20	20.0	100.0	100.0	100.0	0	20.0	86.6	100.0
25	73.3	100.0	100.0	100.0	46.7	100.0	100.0	100.0
30	50.0	100.0	100.0	100.0	6.7	56.7	83.3	100.0
35	0	0	0	0	0	0	0	0

注：表中数据为大蜡螟幼虫校正死亡率(%)。(表 3 同)。

表 3　土壤湿度对 2 种线虫感染活性的影响

土壤含水量(%)(w/w)	芫菁夜蛾线虫 Otio 品系				嗜菌异小杆线虫 15-2 品系			
	24	48	72	96	24	48	72	96(h)
1.0	0	0	0	0	0	0	6.7	13.3
2.0	0	3.3	3.3	3.3	0	3.3	16.7	30.0
5.0	33.3	80.0	100.0	100.0	20.0	63.3	93.3	100.0
10	66.7	100.0	100.0	100.0	50.0	100.0	100.0	100.0
15	73.3	100.0	100.0	100.0	60.0	100.0	100.0	100.0

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

从表 3 可以看出，砂土含水量低于 2%时，Otio 品系和 15-2 品系 2 种线虫的侵染致死活性均较低，但此时 15-2 品系的侵染活性高于 Otio 品系，这说明 15-2 品系线虫的耐干燥能力强于 Otio 品系线虫；当砂土含水量为 5%时，2 种线虫的侵染活性明显提高，在 48 h 寄主昆虫的死亡率均在 50%以上，96 h 寄主死亡率为 100%；当砂土含水量大于 10%时，含水量的变化对 Otio 品系和 15-2 品系 2 种线虫的侵染活性影响不大，48 h 及大于 48 h 大蜡螟死亡率均为 100%。结果表明，适宜线虫侵染寄主的土壤含水量为 5%～15%。

2.5 二种线虫的运动能力比较

由图 2 所示，在各不同温度处理中，芫菁夜蛾线虫 Otio 品系运动到圆孔中的线虫量明显高于嗜菌异小杆线虫 15-2 品系。在 25℃下，Otio 品系 24 h 运动到圆孔中的线虫数量达到 89.7%，并且很活跃，而 15-2 品系运动到圆孔中的线虫数量仅为 53.2%，近半数线虫在 24 h 内不能运动到孔中。在 20℃和 30℃下，15-2 品系运动能力更低，仅有 10%左右的线虫能够运动到孔中，而 Otio 品系运动到孔中的线虫量分别为 23.5%和 55.8%。这与沙埋法测定的线虫侵染温度范围是吻合的。

3 讨论

线虫作为特定类群生活于一定的环境中，它与各种环境因子有着密切的联系。在自然条件下，应用昆虫病原线虫防治害虫的效果与许多复杂的环境非生物因素有关。环境中的气候因子，土壤因子等都影响到线虫的存活、发育、繁殖及其侵染力[3]。而且在田间应用中，不同的线虫种类表现出的防治效果也不同[4]。本实验结果表明，在 20～30℃温度下，及土壤含水量大于 5%时，芫菁夜蛾线虫 Otio 品系对大蜡螟幼虫有很强的侵染力。Molyneux 认为线虫的地理起源对线虫的温度要求是很重要的[7]。Burman 等建议通过长期的筛选有可能使线虫适应不同的温度范围[5]。因此，结合 Otio 品系的地理起源对其进行长期的筛选培养，可能会使该品系线虫的侵染温度范围扩大。实验结果还表明，当土壤含水量低于 5%时，2 种线虫的侵染活性都减弱；而随着含水量的增加，侵染活性也增高。这充分证明了线虫在土壤中的运动和迁移需要土壤间隙中充有一定厚度和连续的水层。但当土壤水分过多时，间隙中的空气减少，又限制了线虫的需氧呼吸[7]。因此，在田间应用中，控制土壤的含水量对线虫的防治效果是很关键的。有学者研究，目前广泛应用的小卷蛾线虫 *Steinernema carpocapsae* 搜寻寄主的能力比较差，对移动性较强的地下害虫防治效果不明显[4, 6]。而本实验中结果显示，在 25℃下，Otio 品系运动到大蜡螟幼虫提取液中的线虫量达到 89.7%，小卷蛾线虫在同样条件下运动的线虫量不到 40%[4]。由此可见，今后可以考虑用芫菁夜蛾线虫来防治移动性较强的地下害虫，以达到预期的防治效果。

本实验仅对芫菁夜蛾线虫 Otio 品系和嗜菌异小杆线虫 15-2 品系 2 种线虫的生物学特性进行了初步的室内研究，结果表明 2 种线虫都有较好的生防效果和较大的应用潜力，今后需在这 2 种线虫的制剂研究，与其他杀虫药剂混用[8]以及应用技术方面进行更深入的探索，并在田间应用中进行验证。

参 考 文 献

1 Gaugler R. *J. Nematology*, 1981, **13**: 241～249.

2 Dutky S. R., Thompsion G. E. *J. Insect Pathol.*, 1964, **6**: 417～422.

3 余向阳，王冬兰，刘济宁，解平，卢子华，等. 江苏农业学报，2003，**19**(1)：13～17.

4 杨秀芬，简恒，杨怀文，董亚敏. 中国生物防治，1999，**15**(4)：150～153.

5 Burman M., Pye A. E. *Nematological*, 1980, **26**: 214～219.

6 张中润，韩日畴，许再福. 昆虫知识，2004，**41**(5)：387～392.

7 金永玲，韩日畴，丛斌. 昆虫天敌，2003，**25**(4)：176～183.

8 张中润，曹莉，刘秀玲，王果红，许再福，等. 昆虫知识，2006，**43**(1)：68～73.

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n