

两种复壮方法对昆虫病原线虫致病力、生殖力、存活能力的影响*

狄 斌^{1,2**} 钱秀娟^{1**} 李玉玉³ 刘长仲^{1***}

(1. 甘肃农业大学植物保护学院, 甘肃省农作物病虫害生物防治工程实验室, 兰州 730070;

2. 华中农业大学植物科学技术学院, 昆虫生态实验室, 武汉 430070;

3. 甘肃省临夏县漫路乡人民政府, 临夏 731805)

摘 要 【目的】为探明不同复壮方法对昆虫病原线虫致病力、生殖力等的影响。【方法】选用韭蛆 *Bradysia odoriphaga* Yang et Zhang 和大蜡螟 *Galleria mellonella* 2 种寄主昆虫复壮异小杆线虫 *Heterorhabditis megidis* 0627M 和斯氏线虫 *Steinernema felitiae* 0619HT, 复壮后测定 2 种品系线虫的致病力、生殖力、死亡率, 并观察线虫寄生后 2 种寄主的行为、体色的变化情况及引起寄主死亡时间。【结果】不同复壮方法对 2 种品系线虫存活能力的影响不同。短时间保存 10 d 时, 2 种复壮方法下 2 种品系的线虫死亡率都很低, 且随保存时间递增, 死亡率均有上升; 保存 30 d 时, 经韭蛆复壮的 *S. felitiae* 0619HT 的死亡率高于 *H. megidis* 0627M 品系的, 而经大蜡螟复壮的 *H. megidis* 0627M 和 *S. felitiae* 0619HT 的死亡率相差不大; 韭蛆复壮后的昆虫病原线虫致病力较高; 保存 40 h 时, *H. megidis* 0627M 和 *S. felitiae* 0619HT 对大蜡螟的致死率均为 100%, 侵入率分别为 5.67% 和 2.33%, 均低于用大蜡螟复壮的线虫; 韭蛆复壮后 2 种品系的生殖力高于大蜡螟复壮的且差异显著, 用韭蛆复壮后 *H. megidis* 0627M 和 *S. felitiae* 0619HT 的生殖力分别为 1.461×10^5 头/g 和 2.395×10^5 头/g, 均高于用大蜡螟复壮的生殖力。【结论】与大蜡螟相比, 用寄主韭蛆复壮异小杆线虫和斯氏线虫是比较好的复壮方法, *H. megidis* 0627M 和 *S. felitiae* 0619HT 两种品系可以通过寄主韭蛆复壮使其生殖力、致病力和侵入率都明显升高, 更有利于后期线虫的非生物胁迫提供基础。因此, 室内复壮昆虫病原线虫时, 可采用寄主昆虫回归复壮。

关键词 昆虫病原线虫; 复壮方法; 致病力; 生殖力; 死亡率

Comparison of two rejuvenation methods on the virulence, fecundity and viability of *Heterorhabditis megidis* and *Steinernema felitiae*

DI Bin^{1,2**} QIAN Xiu-Juan^{1**} LI Yu-Yu³ LIU Chang-Zhong^{1***}

(1. College of Plant Protection, Gansu Agricultural University, Biological Control Laboratory of Crop Diseases

and Pests of Gansu Province, Lanzhou 730070, China; 2. College of Plant Science and Technology,

Huazhong Agricultural University, Insect Ecology Laboratory, Wuhan 430070, China;

3. People's Government of Manlu Township Linxia County, Linxia 731805, China)

Abstract 【Objectives】To investigate the effects of different rejuvenation methods on the pathogenicity and fecundity of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis megidis* 0627M and *Steinernema felitiae* 0619HT. 【Methods】The pathogenicity, fecundity and mortality of *H. megidis* 0627M and *S. felitiae* 0619HT with respect to two different host species *Bradysia Odoriphaga* Yang et Zhang and *Galleria mellonella* was measured and compared. Changes in host behavior, body color and time to death of both species were also observed. 【Results】Different methods of rejuvenation had different effects

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金 (31960559); 甘肃农业大学科技创新基金 (GAU-XKJS-151); 甘肃省省级大学生创新创业训练计划 (S202010733092); 甘肃农业大学学生科研计划 (202013015); 甘肃省科技计划项目 (21JR7RA819)

**共同第一作者 Co-first authors, E-mail: 1633560554@qq.com; qianxj@gsau.edu.cn

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: liuchzh@gsau.edu.cn

收稿日期 Received: 2020-11-12; 接受日期 Accepted: 2021-09-17

on nematode survival. Mortality of both strains was very low when they had been stored for a short time (10 d) but increased with increased duration of storage. Mortality of *S. felitiae* 0619HT was higher, but not significantly so, than that of *H. megidis* 0627M. The pathogenicity of both *H. megidis* 0627M and *S. felitiae* 0619HT to *Mellonella mellonella* was 100% after 40 h, and the infection rate was 5.67% and 2.33%, respectively. The fecundity of *H. megidis* 0627M was 1.461×10^5 individuals/g whereas that of *S. felitiae* 0619HT was 2.395×10^5 individuals/g, respectively, higher than that of *S. mellonella*. **[Conclusion]** It is preferable to reinvigorate *H. megidis* 0627M and *S. felitiae* 0619HT by reinvigorating their hosts, which significantly increased the fecundity, pathogenicity and infection rates of both species.

Key words entomopathogenic nematodes; rejuvenation method; pathogenicity; mortality rate

昆虫病原线虫 (Entomopathogenic nematodes) 是指体内携带有具有病原性的共生细菌, 能引起昆虫致病的一类线虫 (杨怀文和周媛月, 1990; 董国伟等, 2001; 谷黎娜, 2008)。昆虫病原线虫的应用对环境无污染, 对地下害虫和钻蛀性害虫防治效果显著, 可以大量使用 (Liu and Glazer, 2000; Liu *et al.*, 2002)。它们不仅可以主动发现寄主, 而且也可以被动接触寄主 (谢钦铭等, 2002)。对靶标昆虫进行控制时, 昆虫病原线虫可以在寄主体内大量繁殖, 新扩繁的侵染线虫可以侵染更多的寄主昆虫 (Qian, 2014)。因此, 昆虫病原线虫作为生物防治中的主要手段, 其在未来的农业害虫生物生态控制系统中将会发挥重要的作用。

昆虫病原线虫推广应用的前提是筛选出致病力较高的种类或品系, 所以昆虫病原线虫对靶标昆虫的致病力测定是开展昆虫病原线虫应用研究的基础 (于海滨等, 2012)。昆虫病原线虫致病力的高低主要是通过其侵染期线虫对靶标昆虫的防治效果来反映。测定线虫致病力是利用大蜡螟活体扩繁复壮的侵染期幼虫, 由于室内扩繁代数 and 保存时间的递增, 侵染期线虫的致病力会下降, 不能真实反映其致病力与对寄主昆虫的控制效果。为了解决现有技术中存在的问题, 本研究选用大蜡螟 *Galleria mellonella* 和常见地下害虫 (薛明等, 2002; 王承香, 2014) 韭菜迟眼蕈蚊 *Bradysia odoriphaga* Yang et Zhang 幼虫作为供试寄主昆虫, 将昆虫病原线虫放入供试寄主昆虫中, 通过模拟自然环境中的生态系统, 使线虫生殖力、存活率、致病力等恢复到自然系统中的真实状态, 为后期昆虫病原线虫致病力、生殖

力和存活率测定的准确性提供保障。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

大蜡螟由甘肃农业大学昆虫生态实验室饲养, 试验选用 5 龄老熟幼虫, 平均重量为 0.3 g, 使用前需经滞育处理, 防止大蜡螟老熟幼虫吐丝、化蛹。

异小杆线虫 *H. megidis* 0627M 和斯氏线虫 *S. felitiae* 0619HT 均由大蜡螟老熟幼虫培养、繁殖, 试验用的感染期线虫均新鲜培养。

韭菜迟眼蕈蚊由甘肃农业大学昆虫生态实验室养殖, 试验选用 3 龄幼虫。

1.2 大蜡螟复壮昆虫病原线虫

采用培养皿滤纸法, 在直径为 90 mm 的培养皿内垫有两层灭菌滤纸, 将 6 头健康的大蜡螟老熟 5 龄幼虫 (虫体表面用 75% 酒精消毒) 置于小培养皿中, 用斯氏线虫 *S. felitiae* 0619HT 和异小杆线虫 *H. megidis* 0627M 的侵染期线虫侵染大蜡螟。根据预试验结果, 侵染剂量选用 1 000 头/mL, 置于 25 °C 恒温培养箱中暗培养。每处理 3 次重复。将死亡大蜡螟挑出并放在收集皿中, 每隔 8 h 观察昆虫病原线虫是否从大蜡螟中爬出, 待昆虫病原线虫爬出后, 每隔 24 h 收集 1 次线虫。收集的线虫用 300 mL 无菌水冲洗 3 次后, 得到线虫悬浮液, 并置于 5-8 °C 的冰箱中储存备用。

1.3 韭蛆复壮昆虫病原线虫

将韭菜种植于底部加入无菌沙壤土的保鲜

盒 (33 cm×22 cm×12 cm) 中, 土壤湿度控制在 20%-25%, 待韭菜长至幼苗期时, 放入 20 头 3 龄韭蛆幼虫在韭菜根部, 在韭菜中施入感染期 3 龄的斯氏线虫 *S. feltiae* 0619HT 和异小杆线虫 *H. megidis* 0627M 悬浮液, 悬浮液浓度为 8 000 头/mL。喷施感染剂 10-14 d 后, 用大蜡螟 (用 100 目的铁丝网制成的袋子装起来) 收集土壤中经韭蛆复壮的线虫, 然后将大蜡螟放在收集皿中, 每隔 8 h 观察线虫是否从大蜡螟中爬出, 爬出后每隔 24 h 收集 1 次线虫。将收集的线虫用 300 mL 无菌水冲洗 3 次后, 得到线虫悬浮液, 置于 5-8 °C 冰箱中储存备用。

1.4 不同复壮方法下昆虫病原线虫对大蜡螟病症的影响

每个培养皿中放入 8 头大蜡螟幼虫, 将复壮得到的浓度为 1 800 头/mL 的线虫悬浮液感染大蜡螟, 将被线虫感染的死亡大蜡螟放入预先加入浓度为 0.1% 的甲醛溶液的培养皿中, 置于培养箱下, 观察大蜡螟体色随时间的变化情况。将死亡的大蜡螟置于超声工作台中解剖, 观察共生菌生长状况, 并比较采用不同复壮方法感染大蜡螟后, 从寄主中爬到水里的线虫的数量。

1.5 不同复壮方法对昆虫病原线虫致病力的测定

在直径为 90 mm 的培养皿底部垫两层滤纸, 加入适量的蒸馏水, 使滤纸保持湿润。每个培养皿放入大蜡螟 5 龄幼虫 8 头, 分别加入经大蜡螟、韭蛆复壮和保存 3 个月的斯氏线虫 *S. feltiae* 0619HT 和异小杆线虫 *H. megidis* 0627M 各 1 800 头, 每一复壮方法作为一个处理, 每个处理 3 次重复。将培养皿置于 (25±1) °C 恒温箱中培养。每隔 8 h 观察并记录大蜡螟的死亡情况, 直至线虫感染 120 h, 计算校正死亡率。昆虫病原线虫感染大蜡螟 48 h 后进行解剖, 统计大蜡螟体内线虫侵入总数, 并计算线虫侵入率。

校正死亡率 (%) =

$$\frac{\text{处理组死亡率} - \text{对照组死亡率}}{1 - \text{对照组死亡率}} \times 100,$$

线虫的侵入率 (%) =

$$\frac{\text{侵入昆虫体内的线虫总数}}{\text{施用线虫总数}} \times 100。$$

1.6 不同复壮方法对昆虫病原线虫生殖力的影响的测定

将不同复壮方法得到的线虫品系置于培养皿中, 培养皿底部垫有湿润滤纸, 每个培养皿中加入 8 头大蜡螟, 加入经不同复壮得到的昆虫病原线虫 1 800 头, 每个处理 3 次重复。每隔 8 h 观察并记录大蜡螟的死亡情况, 取出死亡的蜡螟, 称重后放入线虫扩繁收集盘中, 收集线虫并计算每克大蜡螟产生的线虫数量。

1.7 不同复壮方法对昆虫病原线虫存储时长及存活的影响

不同复壮方法获得的线虫采用薄水层法置于 4 °C 的条件下储存, 于 10、20、30 d 后取出线虫培养皿, 置于室温 2 h, 并于解剖镜下观察线虫死亡情况。线虫经针头机械刺激无反应活动, 则认为个体死亡, 记录和计算线虫存活率。每个处理重复 3 次。

在进行以上试验过程中, 两种品系线虫的死亡率测定公式为:

$$\text{线虫死亡率} (\%) = \frac{\text{死亡线虫数}}{\text{总线虫数}} \times 100。$$

1.8 数据处理与分析

使用 SPSS 20.0 软件对本研究中所有数据进行统计分析。利用 Shapiro-Wilk test 检验数据的正态分布性, 并使用 Levene's test 检测数据的方差齐性 ($P > 0.05$)。分别以两种品系 (异小杆线虫 *H. megidis* 0627M 和斯氏线虫 *S. feltiae* 0619HT) 和不同复壮方法作为两个处理因子, 对生殖力、存活率、侵入率和致病力分别进行单因素方差分析, 并对死亡率进行单因子方差分析, 采用 LSD 检验进行处理间差异显著性检验 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 不同复壮方法的线虫感染大蜡螟的行为差异

接种用韭蛆复壮过的线虫, 大蜡螟虫体表面有线虫不停地蠕动, 特别是口腔、尾部、节间膜

及身体凹陷处聚集较多,活动剧烈。随接种时间的增加,大蜡螟活动力逐渐下降,且经韭蛆复壮的线虫侵染的大蜡螟活动力下降速度和虫体变软的速度较大蜡螟复壮的线虫的速度快。

2.2 不同方法复壮的线虫侵染大蜡螟的体色差异

不同方法复壮的线虫侵染大蜡螟 48 h 后,大蜡螟体色发生变化(图 1)。经韭蛆复壮的斯氏线虫 *S. feltiae* 0619HT 侵染大蜡螟后,体色由乳白色变成黄褐色(图 1: B),异小杆线虫 *H. megidis* 0627M 侵染的大蜡螟体色由乳白色变成红色(图 1: D),而经大蜡螟复壮的 2 种品系侵染的大蜡螟体色没有变红,由乳白色变成黄褐色,最后变成黑褐色(图 1: A, C)。

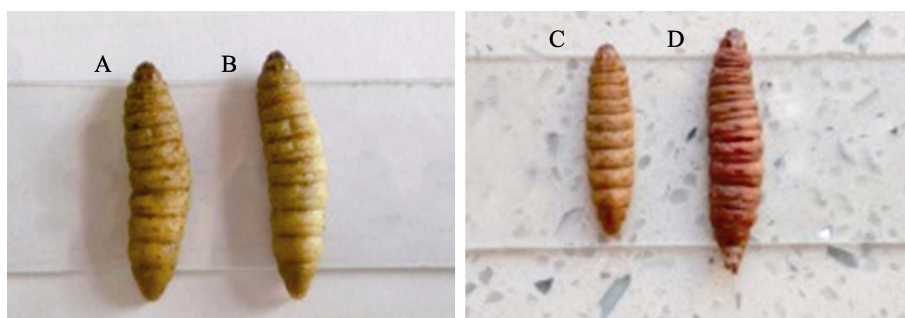


图 1 大蜡螟体色变化

Fig. 1 Changes in body color of the *Galleria mellonella*

A. *S. feltiae* 0619HT 品系大蜡螟复壮; B. *S. feltiae* 0619HT 品系韭蛆复壮;
C. *H. megidis* 0627M 品系大蜡螟复壮; D. *H. megidis* 0627M 品系韭蛆复壮。
A. Rejuvenation of *S. feltiae* 0619HT; B. Rejuvenation of *S. feltiae* 0619HT leetworm; C. Rejuvenation of *H. megidis* 0627M strain; D. Rejuvenation of *H. megidis* 0627M strain leet maggot.

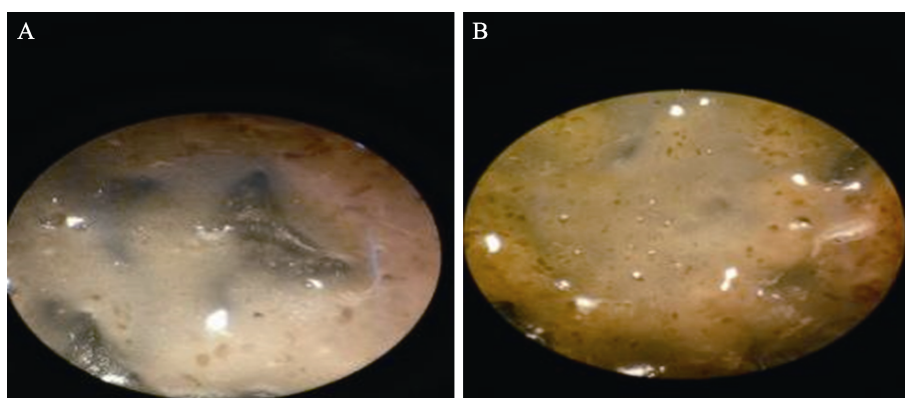


图 2 大蜡螟体内共生菌生长情况

Fig. 2 Growth of symbiotic bacteria in the body of *Galleria mellonella*

A 大蜡螟复壮; B 韭蛆复壮。
A. Rejuvenation of *Galleria mellonella*; B. Rejuvenation of *Bradysia odoriphaga*.

2.3 不同方法复壮的线虫侵染大蜡螟引起寄主产生共生菌数量及产生线虫速度的差异

与大蜡螟复壮的线虫相比,经韭蛆复壮的异小杆线虫 *H. megidis* 0627M 侵染大蜡螟 48 h 后,体内共生菌较粘稠,且体内有大母虫出现(图 2: B)。在解剖镜下观察经大蜡螟复壮的线虫侵染大蜡螟死亡 2-3 d 后,大蜡螟虫体内线虫清晰可见,在大蜡螟口腔、气门、肛门、节间膜等部位有大量的线虫爬出(图 3: A),经韭蛆复壮的线虫爬出大蜡螟虫体的速度比大蜡螟复壮的快且多(图 3: B)。

2.4 不同复壮方法对昆虫病原线虫致死率的影响

用不同复壮方法复壮的 *H. megidis* 0627M

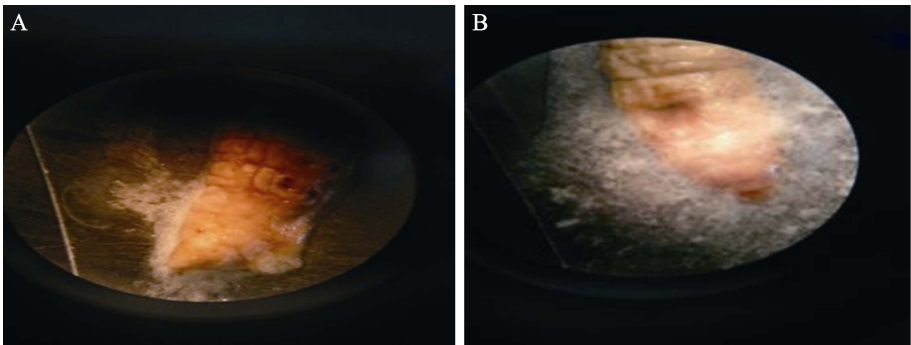


图 3 大蜡螟死亡 2-3 d 后爬出大蜡螟体外的线虫数
Fig. 3 Number of nematodes in vitro after 2-3 days of death of *Galleria mellonella*

A. 大蜡螟复壮; B. 韭蛆复壮。

A. Rejuvenation of *Galleria mellonella*; B. Rejuvenation of *Bradysia odoriphaga*.

对大蜡螟的致死率差异显著 ($P<0.05$) (表 1)。经大蜡螟复壮后 *H. megidis* 0627M 侵染大蜡螟 32 h 后其致死率是 0, 侵染 56 h 后致死率是 24.4%; 经韭蛆复壮的 *H. megidis* 0627M 在 32 h 后致死率为 77.38%, 侵染 40 h 时致死率达到 100%; 从死亡时间看, 经韭蛆复壮的 *H. megidis* 0627M 侵染大蜡螟后 32-40 h 是大蜡螟主要的死亡时间, 大蜡螟复壮的线虫侵染大蜡螟的死亡时间主要集中在侵染后 56 h。

S. feltiae 0619HT 经大蜡螟和韭蛆复壮后, 对大蜡螟的致死率差异显著 ($P<0.05$) (表 2)。经大蜡螟复壮后的 *S. feltiae* 0619HT 侵染大蜡

螟, 侵染 32 h 后其致死率是 14.32%, 侵染 56 h 后致死率是 77.7%; 经韭蛆复壮的 *S. feltiae* 0619HT 侵染 32 h 后致死率 49.41%, 侵染 40 h 时致死率达到 100%; 从死亡时间看, 韭蛆复壮的 *S. feltiae* 0619HT 侵染大蜡螟, 其死亡时间主要集中在 32-40 h, 大蜡螟复壮的死亡时间主要集中 40-56 h。

2.5 不同复壮方法对昆虫病原线虫侵入率的影响

研究结果表明, 不同复壮方法复壮后昆虫病原线虫对大蜡螟侵入率差异显著(表 3) ($P<0.05$)。保存 3 个月的线虫的侵入率最高, 其次是大蜡螟复壮的线虫品系, 韭蛆复壮的侵入率最低, 说明

表 1 不同复壮方法后 *Heterorhabditis megidis* 0627M 对大蜡螟致死率的影响
Table 1 Influence of *Heterorhabditis megidis* 0627M after different rejuvenation methods on the mortality rate of *Galleria mellonella*

复壮寄主种类 Rejuvenated host species	校正死亡率 (%) Corrected mortality (%)			
	32 h	40 h	48 h	56 h
大蜡螟 <i>Galleria mellonella</i>	0.00±0.00a	14.10±7.24a	4.70±4.76b	24.40±12.27b
韭蛆 <i>Bradysia odoriphaga</i>	77.38±4.29a	100.00±0.00b	100.00±0.00b	100.00±0.00b

表中数据为平均数±标准差; 同列数据后标有相同英文小写字母表示没有显著差异 ($P<0.05$)。表 2 同。
Data are mean±SD, and followed by same small letters in the same column indicate no significant difference by Duncan's multiple range test ($P<0.05$). The same as Fig. 2.

表 2 不同复壮方法后 *Steinernema feltiae* 0619HT 对大蜡螟致死率的影响
Table 2 Influence of *Steinernema feltiae* 0619HT on the mortality rate of *Galleria mellonella* after different rejuvenation methods

复壮寄主种类 Rejuvenated host species	校正死亡率 (%) Corrected mortality (%)			
	32 h	40 h	48 h	56 h
大蜡螟 <i>Galleria mellonella</i>	14.32±8.27a	50.00±10.53b	48.00±11.03a	77.00±14.70b
韭蛆 <i>Bradysia odoriphaga</i>	49.41±17.75a	100.00±0.00a	100.00±0.00a	100.00±0.00a

表 3 不同复壮方法对昆虫病原线虫侵入率的影响

Table 3 Effects of different rejuvenation methods on the invasion rate of entomopathogenic nematode

复壮寄主种类 Rejuvenated host species	校正侵入率 (%) Corrected invasion rate (%)	
	异小杆线虫 <i>H. megidis</i> 0627M	斯氏线虫 <i>S. feltiae</i> 0619HT
对照 CK	36.33±7.75aA	20.00±3.12aA
大蜡螟 <i>Galleria mellonella</i>	11.17±1.76bA	6.17±0.76bA
韭蛆 <i>Bradysia odoriphaga</i>	5.67±2.25cA	2.33±0.76cA

同列数据后标有不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著; 同行数据后标有不同大写字母表示 0.05 水平差异显著。表 4 同。

Data followed by different lowercase letters in the same column indicate significant difference at the 0.05 level, while followed by different uppercase letters in the same row indicate significant difference at the 0.05 level. The same as Fig. 4.

侵入率越低, 致病性越好。*H. megidis* 0627M 和 *S.feltiae*0619HT 经不同方法复壮, 与对照组差异均显著, 韭蛆复壮的线虫侵入率与大蜡螟复壮线虫侵入率差异显著。同一种复壮方法复壮不同品系, 两品系间线虫侵入率差异不显著, 但 *H. megidis* 0627M 的侵入率比 *S. feltiae*0619HT 的高, 用韭蛆复壮后 *H. megidis* 0627M、*S. feltiae* 0619HT 的侵入率分别为 5.67% 和 2.33%, 用大蜡螟复壮后的两种品系分别为 11.17% 和 6.17%。说明韭蛆复壮效果比大蜡螟的好, 并且对 *S. feltiae* 0619HT 的侵入率的影响比 *H. megidis* 0627M 的大。

2.6 不同复壮方法对昆虫病原线虫生殖力的影响

与保存 3 个月未进行复壮的线虫比较, 采用韭蛆和大蜡螟复壮的昆虫病原线虫 *S. feltiae* 0619HT 和 *H. megidis* 0627M 在大蜡螟体内的生殖力均有不同程度的上升, 并且各处理与对照组比较生殖力差异显著 ($P<0.05$) (表 4)。*H. megidis* 0627M 和 *S. felitae* 0619HT 经韭蛆复壮后, 其在大蜡螟体内的生殖力最高, 分别为 146 129 条/g 和 239 520 条/g, 其次是大蜡螟复壮的, 分别为 109 400 条/g 和 138 429 条/g, 未复壮的生殖力最

低, 为 74 980 条/g 和 55 593 条/g, 三者之间差异均显著 ($P<0.05$)。*H. megidis* 0627M 品系的生殖力对照比 *S. felitiae* 0619HT 低, 但经过大蜡螟复壮和韭蛆复壮的线虫 *S. felitiae* 0619HT 品系的生殖力显著高于 *H. megidis* 0627M 品系。

2.7 不同复壮方法对昆虫病原线虫存储时长及存活的影响

将前期复壮得到的具优良生物学特性的昆虫病原线虫品系进行死亡率影响的测定, 结果显示 (图 4), 短时间 (10 d) 保存对昆虫病原线虫死亡率有显著影响。*H. brevicaudis* 0627M、*S. feltiae* 0619HT 两个品系经过大蜡螟复壮保存 10 d 后, 死亡率分别为 2.38% 和 8.20%, 经过韭蛆复壮后, *H. brevicaudis* 0627M、*S. feltiae* 0619HT 两个品系的死亡率分别为 0 和 6.67%, 低于大蜡螟复壮后的死亡率, 保存至 20 d 时, 死亡率均有上升, 经过大蜡螟复壮的 *H. brevicaudis* 0627M 和 *S. feltiae* 0619HT 两个品系死亡率分别为 10.35% 和 20.34%, 经过韭蛆复壮的 *H. brevicaudis* 0627M 和 *S. feltiae* 0619HT 两个品系死亡率分别为 2.27% 和 16.21%; 保存至 30 d 时, 经大蜡螟

表 4 不同复壮方法对昆虫病原线虫生殖力的影响 (头/g)

Table 4 Effects of different rejuvenation methods on the fertility of entomopathogenic nematodes (ind./g)

供试昆虫种类 Type of host tested	校正生殖力 Corrected fecundity	
	<i>H. megidis</i> 0627M	<i>S. feltiae</i> 0619HT
3 个月 (CK) Three months (CK)	74 980±19 525aA	55 593±6 834aA
大蜡螟 <i>Galleria mellonella</i>	109 400±75 257bA	138 429±22 984bA
韭蛆 <i>Bradysia odoriphaga</i>	146 129±11 800cA	239 520±42 563cA

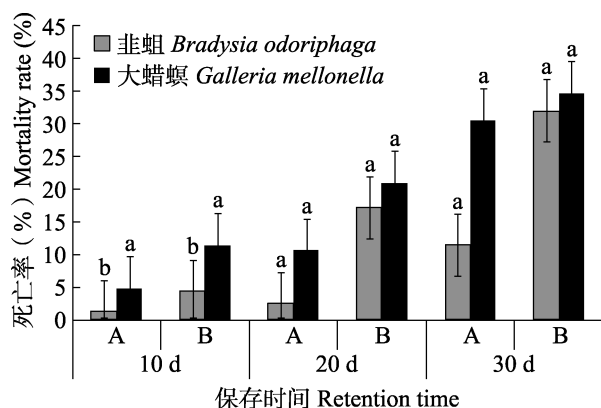


图 4 不同复壮方法对昆虫病原线虫存储时长及存活的影响

Fig. 4 Effects of different rejuvenation methods on the storage duration and survival of entomopathogenic nematodes

A. *H. brevicaudis* 0627M 品系; B. *S. feltiae* 0619HT 品系。
A. *H. brevicaudis* 0627M strain;
B. *S. feltiae* 0619HT strain.

复壮的 *H. megidis* 0627M 和 *S. feltiae* 0619HT 的死亡率分别为 31.03% 和 33.33%，而经非蛆复壮的 *H. megidis* 0627M 和 *S. feltiae* 0619HT 的死亡率分别为 10.92% 和 32.33%

3 结论与讨论

本研究结果表明, 用非蛆复壮的线虫可以恢复线虫在自然生态中线虫感染寄主以后的颜色, 而长期在室内进行大蜡螟复壮的线虫有些症状会消失; 与大蜡螟复壮的线虫相比, 用非蛆复壮的线虫能够显著提高线虫对大蜡螟的感染致死速度, 且感染大蜡螟后共生菌生长速率和线虫爬出寄主体外的速度均较快。用非蛆复壮的 *H. megidis* 0627M 和 *S. feltiae* 0619HT 两个品系的致病力、存活率、侵入率和生殖力都明显高于用大蜡螟复壮的线虫, 说明用寄主昆虫非蛆复壮的线虫能使其最大程度恢复到自然生境状态下, 也有效缓解了在室内用大蜡螟复壮后产生的部分功能上的退化。

S. feltiae 0619H 品系的致病力和生殖力明显高于 *H. megidis* 0627M, 并且 *S. feltiae* 0619HT 的侵入率的影响比 *H. megidis* 0627M 的大, 表明 *S. feltiae* 0619H 品系在搜寻寄主、致病速度和线虫繁殖能力强于 *H. megidis* 0627M。在短期 (10 d)

H. megidis 0627M 的存活能力比 *S. feltiae* 0619HT 的强, 但在保存 30 d 时, 2 种复壮方法下线虫存活能力均大幅下降, 且通过大蜡螟复壮的线虫下降幅度比非蛆复壮的速度快, 大蜡螟复壮的昆虫病原线虫死亡率是非蛆复壮的 1 倍。由于隐蔽性害虫和地下害虫的化学防治往往会导致环境污染和药剂残留等问题, 而昆虫病原线虫作为一种理想的生物农药, 可有效的防治生境隐蔽的地下害虫, 如果能增强昆虫病原线虫的致病力、生殖力及存活率等, 昆虫病原线虫将会在绿色农业的可持续发展道路上有更加广阔的应用前景。因此, 筛选出最好的复壮方法是增强昆虫病原线虫致病力的必要条件。

昆虫病原线虫共生菌杀虫活性物质主要有杀虫毒素蛋白、脂多糖类、次生代谢产物 (孟亚莉等, 2004; 王欢等, 2006; 王永宏等, 2009), 不同复壮方法复壮昆虫病原线虫, 使蛋白质结构和杀虫活性受到影响, 从而影响了大蜡螟体色、共生菌生长情况及线虫从大蜡螟体内的爬出速度 (熊延坤等, 2003)。不同复壮方法复壮后的昆虫病原线虫对共生菌杀虫活性的影响, 必然影响到寄主昆虫的正常生理调节、生育、代谢和免疫等, 造成昆虫死亡 (徐洁莲, 1986)。但本文尚未研究不同复壮方法对昆虫病原线虫共生菌具体成份的影响, 未来可从这一角度进行深入研究, 这将有助于更加详细的阐明昆虫病原线虫的致病机理。

在非蛆复壮昆虫病原线虫时, 用施入土壤的非蛆复壮昆虫病原线虫比在培养皿中培养的非蛆复壮的效果好, 在培养皿中饲养的非蛆复壮的昆虫病原线虫多半为雄虫, 体型过小而且行动速度特别快, 不利于对昆虫病原线虫行为上的观察研究。有关非蛆复壮昆虫病原线虫致病力的相关研究报道还较少, 因此, 需加强这方面的研究, 这将有助于昆虫病原线虫对地下害虫和隐蔽性害虫的生物防治, 具有重要的理论和实践意义 (张宝恕等, 1994; 安连菊等, 2012; 潘凤娟等, 2013; 张燕等, 2014) 在今后的研究过程中, 需充分考虑自然因素对昆虫病原线虫的影响 (李素春等, 1986), 而不仅仅局限于实验室限定的人工环境。

参考文献 (References)

- An LJ, Jia LP, Ruan WB, Wang X, Chen LF, Song DM, Xu YP, Cui XY, Zheng LB, 2012. Effects of entomopathogenic nematodes on leek and soil nematode communities. *Journal of Agro-Environment Science*, 31(5): 898–903. [安连菊, 贾令鹏, 阮维斌, 王欣, 陈龙飞, 宋东民, 许远蓓, 崔希洋, 郑连斌, 2012. 昆虫病原线虫对韭蛆和土壤线虫群落的影响. 农业环境科学报, 31(5): 898–903.]
- Dong GW, Liu XJ, Yu XY, Dong J, 2001. Overview of entomopathogenic nematodes. *Insect Knowledge*, 38(2): 107–108. [董国伟, 刘贤进, 余向阳, 董健, 2001. 昆虫病原线虫研究概况. 昆虫知识, 38(2): 107–108.]
- Gu LN, 2008. Studies on the biological characteristics of entomopathogenic nematodes and their fine strains in Gansu province. Master dissertation. Lanzhou: Gansu Agricultural University. [谷黎娜, 2008. 甘肃省昆虫病原线虫区系及优良品系生物学特性研究. 硕士学位论文. 兰州: 甘肃农业大学.]
- Li SC, Zhu XM, Wang XJ, Qiu LH, Lian JS, Liang MF, Yang P, 1986. Effects of environmental factors on new nematodes. *Natural Enemies of Insects*, 8(4): 209–214. [李素春, 朱雪媚, 王小江, 邱礼鸿, 练健生, 梁梅芳, 杨平, 1986. 环境因素对新线虫属线虫的影响. 昆虫天敌, 8(4): 209–214.]
- Liu QZ, Glazer I, 2000. Factors affecting desiccation survival of the entomopathogenic nematodes. *H. bacteriophora* HP88. *Phytoparasitica*, 28(4): 331–340.
- Liu QZ, Piggott SJ, Solomon A, 2002. Physiological and biochemical changes in nematodes of the genus *H.* following desiccation. *Phytoparasitology*, 30(3): 253–261.
- Meng YL, Cong W, Wang H, Han B, 2004. Insecticidal activity of entomogenous Nematode co-bacteria against corn borer larvae. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 35(2): 97–100. [孟亚莉, 丛斌, 王欢, 韩冰, 2004. 昆虫病原线虫共菌对玉米螟幼虫的杀虫活性. 沈阳农业大学报, 35(2): 97–100.]
- Pan XJ, Zhang SJ, Chen Y, Meng J, Wu DB, Wang J, Xiao L, Xu YL, 2013. Studies on the control of dacheron funguses by entomopathogenic nematodes. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 19(3): 83–86. [潘凤娟, 张思佳, 陈延, 蒙静, 武东波, 王佳, 肖亮, 许艳丽, 2013. 利用昆虫病原线虫防治迟眼蕈蚊的研究. 安徽农学通报, 19(3): 83–86.]
- Qian XJ, 2014. Studies on the resources of entomopathogenic nematodes and their adaptability to abiotic stress in Gansu province. Doctoral dissertation Lanzhou: Gansu Agricultural University. [钱秀娟, 2014. 甘肃省昆虫病原线虫资源及其对非生物胁迫的适应性研究. 博士学位论文. 兰州: 甘肃农业大学.]
- Wang CX, Liu JP, Liu ZL, Xue M, 2014. Occurrence and control measures of leek maggot in Chinese leek plant and open field cultivation. *Northern Horticulture*, (22): 113–117. [王承香, 刘建平, 刘振龙, 薛明, 2014. 韭菜设施和露地栽培中韭蛆的发生和防治对策. 北方园艺, (22): 113–117.]
- Wang H, Cong B, Yu JJ, Dong H, Qian HT, 2006. Insecticidal activity of entomopathogenic nematode symbiotic bacteria on the larvae of the Asian corn borer. *Agricultural System Science and Integrated Research*, 22(1): 33–36. [王欢, 丛斌, 于娟娟, 董辉, 钱海涛, 2006. 昆虫病原线虫共生菌杀虫毒素对亚洲玉米螟幼虫的杀虫活性. 农业系统科学与综合研究, 22(1): 33–36.]
- Wang YH, Zhang Q, Zhang X, 2009. Studies on the insecticidal activity of two strains of symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes. *Journal of Northwest A&F University*, 37(6): 166–170. [王永宏, 张强, 张兴, 2009. 2株昆虫病原线虫共生菌发酵物杀虫活性研究. 西北农林科技大学学报, 37(6): 166–170.]
- Xie QM, Zhang XH, 2002. Advances in the application of entomopathogenic nematodes in pest control. *Jiangxi Science*, 20(4): 226–231. [谢钦铭, 张选辉, 2002. 昆虫病原线虫在害虫防治中应用的研究进展. 江西科学, 20(4): 226–231.]
- Xiong TK, Zhang QW, Xu J, Zhou MZ, 2003. A preliminary study on the environmental factors influencing the larval color of ceroides larva. *Entomological Knowledge*, 40(1): 52–54. [熊延坤, 张青文, 徐静, 周明群, 2003. 影响大蜡螟幼虫体色的环境因素初探. 昆虫知识, 40(1): 52–54.]
- Xu JL, 1986. Isolation and identification of entomopathogenic nematode *Luminescence bacilli*. *Natural Enemies of Insects*, 8(3): 168–174. [徐洁莲, 1986. 昆虫病原线虫发光杆菌的分离与鉴定. 昆虫天敌, 8(3): 168–174.]
- Xue M, Yuan L, Xu ML, 2002. Olfactory response to volatile substances and comparison of virulence of different insecticides in adult *Tenebrio molitor*. *Journal of Pesticide Science*, 4(2): 50–56. [薛明, 袁林, 徐曼琳, 2002. 韭菜迟眼蕈蚊成虫对挥发性物质的嗅觉反应及不同杀虫剂的毒力比较. 农药学报, 4(2): 50–56.]
- Yang HW, Zhou AY, 1990. The biological study of the entomopathogenic nematode *Steinernema* sp. (CB-ZY). *Bulletin on Biological Control*, 46(1): 49–56. [杨怀文, 周媛月, 1990. 昆虫病原线虫 *Steinernema* sp. (CB-ZY) 的生物学研究. 生物防治通报, 46(1): 49–56.]
- Yu HB, Ma J, Wang RY, Geng YL, Chen SL, 2012. Determination of pathogenicity of entomopathogenic nematodes to potato ant. *Chinese Journal of Biological Control*, 28 (4): 514–520. [于海滨, 马娟, 王容燕, 耿亚玲, 陈书龙, 2012. 昆虫病原线虫对薯蓣象的致病力测定. 中国生物防治学报, 28(4): 514–520.]
- Zhang BS, Wang XL, Chen XW, Li LY, 1994. Control of leek root maggot by insect-pathogenic nematode. *Science and Technology of Agriculture and Forestry in Tianjin*, 128(2): 4–6. [张宝恕, 王学利, 陈晓文, 李来友, 1994. 昆虫病原线虫防治韭菜根蛆的研究. 天津市农林科技, 128(2): 4–6.]
- Zhang Y, Xu WL, Wu DB, Pai FJ, Xiao L, Cao YE, 2014. Effect of entomopathogenic Nematode on control of *Dionymus chinensis*. *Bulletin of Agriculture of Anhui Province*, 20(5): 70–73. [张燕, 许艳丽, 武东波, 潘凤娟, 肖亮, 曹云娥, 2014. 昆虫病原线虫防治韭菜迟眼蕈蚊效果研究. 安徽农学通报, 20(5): 70–73.]