

施用方式和土壤深度对昆虫病原线虫越冬的影响

白光瑛¹, 沈广爽¹, 马海鲲¹, 王孝莹¹, 刘耀华¹, 谷希树², 阮维斌^{1*},
Martijn Bezemer³

(1.南开大学生命科学学院, 天津 300071; 2.天津市植物保护研究所, 天津 300112; 3.荷兰生态研究所, 瓦赫宁根 506700AB)

摘要:在田间试验条件下,利用孔径为 25 μm 的尼龙网袋,评价了两种线虫品系(噬菌性异小杆线虫 *Heterorhabditis bacteriophora* 和小卷蛾斯式线虫 *Steinernema carpocapsae*)、两种施用方式(感染线虫的昆虫尸体和线虫悬液)、两种土层深度(5 cm 和 15 cm)以及不同取样时间(2013年12月8日、2014年2月18日以及2014年4月14日)对昆虫病原线虫越冬情况的影响。试验结果表明,*S. carpocapsae* 较 *H. bacteriophora* 的低温抗性强,施用后4个月,无论是虫尸剂还是线虫悬液处理,品系 *S. carpocapsae* 的存活率均高于 *H. bacteriophora*。另外,各处理组在15 cm 深度处的线虫数量均大于5 cm 深度处。随着时间的延续,线虫悬液组线虫数量下降迅速。虫尸剂组在前两次取样时几乎未释放线虫,但在次年4月中旬取样时发现,*S. carpocapsae* 虫尸剂有感染期线虫释放,其释放的线虫数量与 *S. carpocapsae* 悬液处理无显著差异。可见,虫尸剂有助于昆虫病原线虫越冬,但与线虫品系有关,采用虫尸剂有助于高效利用昆虫病原线虫防治有害昆虫。

关键词:线虫悬液;虫尸剂;土壤深度;存活率

中图分类号:Q145 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2015)11-2162-07 doi:10.11654/jaes.2015.11.018

Effects of Application Approach and Soil Depth on Overwintering Persistence of Entomopathogenic Nematodes

BAI Guang-ying¹, SHEN Guang-shuang¹, MA Hai-kun¹, WANG Xiao-ying¹, LIU Yao-hua¹, GU Xi-shu², RUAN Wei-bin^{1*}, Martijn Bezemer³

(1.College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China; 2.Tianjin Institute of Plant Protection, Tianjin 300112, China; 3.Netherlands Institute of Ecology, Wageningen, 506700AB)

Abstract: Entomopathogenic nematodes (genera *Steinernema* and *Heterorhabditis*) are the most effective biological control agents, which is an alternative to chemical pesticides. These nematodes are widely used to control a variety of economically important insect pests, thus reducing pesticide residues in food and risk to the environment. However, the survival of entomopathogenic nematodes is a crucial limiting factor for a large scale application of these agents. The objective of the present study was to evaluate the overwintering persistence of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* in field condition by putting the nematodes inside 25 μm nylon bag. We analyzed the effects of three factors on the persistence of these two nematode strains. These factors included: ①soil depth (5 cm vs 15 cm), ②nematode application methods (cadaver vs suspension) and ③sampling time (Dec. 8th 2013, Feb. 18th 2014, and April 14th 2014). *Steinernema carpocapsae* was more resistant to low soil temperature than *H. bacteriophora*, with higher survival rates for *S. carpocapsae* under both application methods after four months. The survival rates at 15 cm soil depth were higher than that at 5 cm depth, independent of application methods and nematode strains. At the first two sampling times (Dec. 8th 2013, and Feb. 18th 2014), the nematode-infected cadavers did not release any infective juveniles. In mid-April, however, the cadavers released infective juveniles with no significant difference in total number of nematodes between two application methods. Our results indicate that using nematode infected cadavers to overcome the harsh winter might be an option for efficient application of this biological control agent.

Keywords: aqueous suspension; nematode infected-cadavers; soil depth; survival

收稿日期:2015-06-17

基金项目:天津市自然科学基金重点项目(10JCZDJC7700);天津市成果转化项目(201001230);国家公益性行业(农业)科研执行“作物根蛆类害虫综合防治技术与示范”项目(2013203027)

作者简介:白光瑛(1989—),女,硕士研究生,主要从事环境生态学研究。E-mail: bgybjw@163.com

*通信作者:阮维斌 E-mail: ruanweibin2004@hotmail.com

近些年来,为防治病虫害,我国化学农药的使用量持续增加,其中杀虫剂占有相当比例。化学农药的土壤残留^[1]和农产品农药残留^[2]问题逐渐突出,有些化学农药具有神经毒性,甚至还有致突变、致癌等毒性,严重地威胁人们的健康。农药残留引起的食品安全问题已经引起全社会高度关注。基于环境保护和国民健康的角度,寻找其他环境友好型措施替代化学农药对有害昆虫进行生物防治显得尤为迫切。

昆虫病原线虫作为一种新型的高效防治有害昆虫的生物措施^[3-4],具有分布广泛,寄主范围广,能主动寻找寄主,能人工大量培养^[5],对人畜及环境安全无毒等优点,受到了国内外广泛关注。在昆虫病原线虫的自然生活史中,或以侵染期线虫自由存活在土壤中,或在寄主体内进行发育和繁殖。侵染期线虫具有一定的耐受性,对低温^[6]、冰冻^[7]、高温和干燥等^[8]具有一定的抗性。研究表明在环境胁迫下,虫尸剂(感染昆虫病原线虫的昆虫尸体)能够帮助昆虫病原线虫抵御不良环境^[9],而且有研究表明与喷洒线虫悬液的施用方式相比,田间直接施用虫尸剂的防治效果更明显^[10]。如何使用虫尸剂对有害靶标昆虫进行高效防治,已经成为昆虫病原线虫应用研究的热点之一^[11-12]。

对于昆虫病原线虫,只有安全越冬,其种群才能得以保存和发展。李春杰等^[13]研究发现,越冬过程中随温度的降低,*Heterorhabditis bacteriophora*-HBN 线虫有向深层土壤迁移的趋势,但移动距离很小。不同种属的昆虫病原线虫对低温的敏感性不同^[14]。Susurluk^[15]连续两年的研究发现,夜蛾斯式线虫 *Steinernema feltiae* 的存活时间要长于噬菌性异小杆线虫 *Heterorhabditis bacteriophora*。昆虫病原线虫在土壤中的存活时间尤其是能否成功越冬,直接决定线虫的使用次数,并最终与防治成本密切相关,故对于该生物防治措施的推广应用十分重要。

对昆虫病原线虫越冬能力的调查研究,能够更好地在生产实践中指导人们选择更为优良的品系进行生物防治。本试验拟解决的问题是:(1)侵染期小卷蛾斯式线虫 *Steinernema carpocapsae* 和噬菌性异小杆线虫 *H. bacteriophora* 能否在寒冷的华北地区安全越冬?(2)相对于线虫悬液,虫尸剂能否为线虫提供一个更好的环境帮助其越冬?(3)两种土壤深度(5、15 cm),哪种深度的线虫存活率更高?(4)哪一个线虫品系的低温耐受性更强?本研究将为昆虫病原线虫部分替代化学农药,为生物防治措施的规模应用和我国蔬菜的安全生产提供一些理论支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 昆虫病原线虫

试验包括两种品系 *Heterorhabditis bacteriophora* 和 *Steinernema carpocapsae*。在室温(21~25 °C)下,用大蜡螟(*Galleria mellonella*, 购买于天津惠裕德生物科技有限公司)进行活体繁殖,并利用 White trap 收集侵染期线虫。将收集到的侵染期线虫储存在灭菌蛭石内,每个培养皿内蛭石质量为 8 g,内含 10 万条侵染期线虫。将培养皿置于 6.7 °C 冰箱内,保存时间不超过两周。

1.1.2 虫尸剂侵染

实验前 8 d, 细胞培养板每孔放置一头体重相近(约 0.35 g)的大蜡螟,用两种侵染期线虫(*H. bacteriophora* 和 *S. carpocapsae*)侵染大蜡螟,线虫的浓度为每头大蜡螟 60 条线虫。室温(21~25 °C)下培养。

1.2 试验样地

试验在天津市现代农业科技创新基地(39°42'69" N, 116°95'97"E)的露天韭菜试验田进行。该样地 5 cm 深度处的 pH 为 7.80, 15 cm 深度处的 pH 为 7.77, 土壤类型为重粘土,沙土:壤土:粘土=1:14:35, 有机质含量为 2.271%, 碱解氮为 85.73 mg·kg⁻¹, 速效磷为 71.96 mg·kg⁻¹, 速效钾为 329.5 mg·kg⁻¹, C/N 为 13.35。三次取样时该样地 5 cm 和 15 cm 深度处土壤的相对湿度和温度如表 1 所示。

表 1 土壤两种深度处的温度和相对湿度

Table 1 Soil temperature and relative humidity at two depths on each sampling date

取样日期 Sampling date	相对湿度/% Relative humidity		土壤温度/°C Temperature	
	5 cm	15 cm	5 cm	15 cm
Dec.8	9.45±0.33	13.71±0.81	8	10
Feb.14	8.03±1.23	9.97±0.63	-0.9	-0.7
Apr.18	23.58±0.75	23.56±0.74	13.3	13.4

1.3 试验方法

试验于 2013 年 11 月 2 日在韭菜试验田进行布置。试验包括 5 个处理:*H. bacteriophora* 线虫悬液(约 5 万条侵染期线虫);*S. carpocapsae* 线虫悬液(约 5 万条侵染期线虫);*H. bacteriophora* 虫尸剂 2 头;*S. carpocapsae* 虫尸剂 2 头;对照组。试验包括两个深度,5 cm 和 15 cm 土层。

为了相对准确计数,将各处理放置于孔径为 25 μm 的尼龙网兜(12 cm \times 12 cm)内。将含昆虫病原线虫的蛭石、虫尸剂分别放于网兜内,虫尸剂组及对照组加等量的蛭石(4 g)。在田间取同等深度的土壤,充分混匀,称取 100 g 放于各处理的网兜内,使线虫置于与周围一样的土壤环境中,然后用尼龙扎带封口。除对照组外,每处理、每深度包含 21 个袋。对照组每深度 24 个袋,分 3 次取样。共计(2 \times 2 \times 2 \times 7+2 \times 8) \times 3=216 袋。共 22 个小组样方(1 m \times 10 m),每个样方包含 10 袋不同深度(15 cm 和 5 cm)相间排列,来自不同处理的袋子根据深度随机放入,其中一个样方放 6 个对照组(深度 15 cm 和 5 cm 各 3 袋,每次取样一组)。在整个实验过程中,用 5 cm 和 15 cm 的 2 支不同规格直角曲管地温计,分别插入试验地相应深度(5 cm 和 15 cm),每次取样时人工观测并记录两种深度的土壤温度。每次取样后,每个深度均称取 10 g 土壤,105 $^{\circ}\text{C}$ 烘干到恒重,然后计算土壤相对湿度。采样日期分别为 2013 年 12 月 8 日、2014 年 2 月 18 日和 4 月 14 日。

1.3.1 诱捕试验

为了观察尼龙网袋中线虫活力,试验采用大蜡螟诱捕法对线虫活力进行评价。从每个样袋内称取约 15 g 土壤,放于直径 6 cm 的塑料培养皿内,然后加入体重相近的大蜡螟 5 头,并向每个培养皿内加入适量水,使整个培养皿的小环境维持一定的湿度,用封口膜将培养皿封好,用医用注射器扎 4~6 个孔。将培养皿置于 25 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温培养箱黑暗条件下进行诱捕。在第 3、5、7 d 记录每皿内大蜡螟的死亡头数,最终计算第 7 d 大蜡螟的死亡率。

1.3.2 浅盘法分离以及线虫量计数

采用浅盘法评价尼龙网袋中具有活力的线虫总数。从每个样品内称取 20 g 左右的土壤,将其放置在浅盘内,小心铺平,然后从浅盘外围加入约 150 mL 水。室温 25 $^{\circ}\text{C}$ 条件下静置 48 h 后,将溶液倒出,再静置 40 min,将溶液上清部分吸走,剩余约 5 mL,在倒置显微镜下观察并计数。最后计算样袋内活线虫的数量,并统计分析。

1.4 数据分析

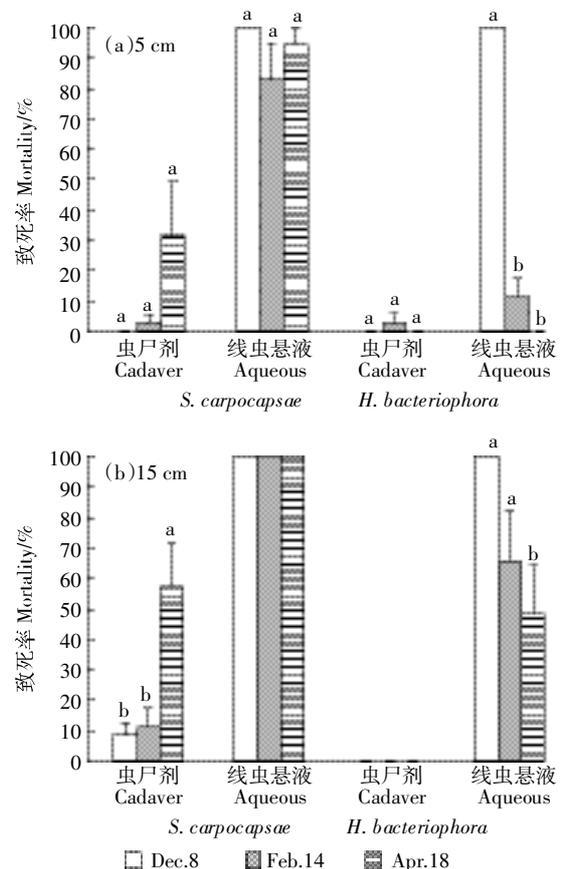
所有数据进行单因素方差(ANOVA)分析,用 Turkey HSD 对平均值进行多重比较。其中线虫数量进行 $\ln(x+1)$ 转换(x 为 100 g 干土内的线虫数量),并进行统计分析。以单变量检测土壤深度、取样时间、线虫品系和施用形式对大蜡螟死亡率以及线虫数量的影响, $P \leq 0.05$ 为差异显著。所有数据利用 SPSS20 进

行统计分析。

2 结果与分析

2.1 诱捕实验

在两种深度条件下 CK 组的诱捕率在三次取样中均为 0%,故试验样地本身不存在昆虫病原线虫。由图 1 可知,土壤深度 5 cm 和 15 cm 条件下各处理致死率表现出相同趋势。随着越冬时间的延续,*S. carpocapsae* 线虫悬液处理线虫一直维持较高的毒力,三次取样没有差异;*H. bacteriophora* 线虫悬液处理线虫毒力持续下降,其中最后一次取样土壤深度 5 cm 处线虫毒力几乎为零,而土壤深度 15 cm 处线虫毒力维持在 50% 左右。虫尸剂处理结果为 *S. carpocapsae* 毒力高于 *H. bacteriophora*。最后一次取样结果表明,土



每种线虫品系的不同施用方式处理中字母不相同表示不同采样时间对大蜡螟的致死率差异显著($P < 0.05$)。下同

Bars with different letters within an application method of each nematode strain indicate significant difference between different sampling times ($P < 0.05$). The same as below

图 1 大蜡螟置于不同深度土壤中的死亡率

Figure 1 Mortality of *G. mellonella* larvae exposed to different soil samples

壤深度 5 cm 和 15 cm 处 *S. carpocapsae* 虫尸剂具有高于其他两次取样的趋势,其中 15 cm 处差异达到显著水平。

2.2 土壤线虫数量动态

随着越冬时间的延续,各处理的土壤线虫数量在 5 cm 和 15 cm 两个土壤深度基本表现出相同的趋势(图 2)。

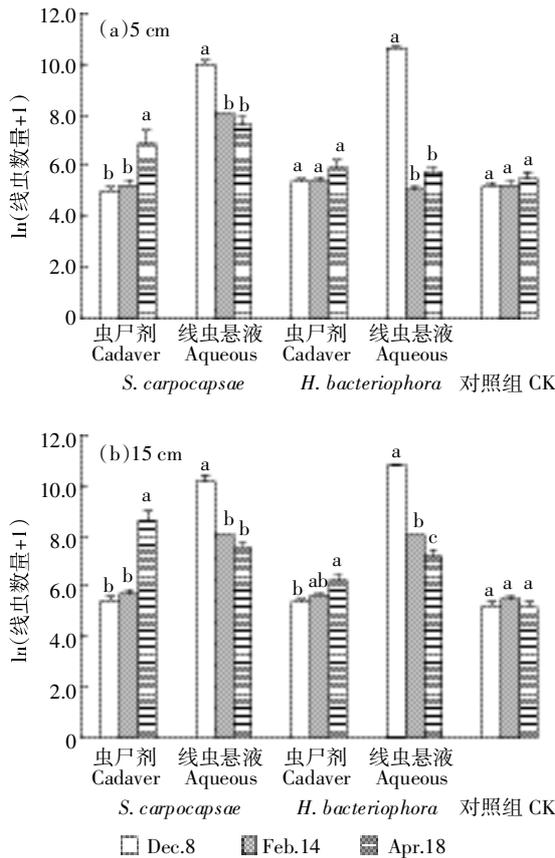


图 2 不同取样时间不同土层各处理样袋内线虫数量

Figure 2 Number of nematodes in each treatment at different sampling times

从对照来看,土壤深度 5 cm 和 15 cm 处活的线虫数量比较稳定而且数量接近。土壤线虫的增量主要是线虫悬液或虫尸剂释放的线虫引起。就线虫悬液而言,土壤线虫活体数量随着越冬时间延续显著下降。其中 5 cm 处 *H. bacteriophora* 悬液处理中土壤线虫数量下降更明显。

虫尸剂处理中,*S. carpocapsae* 线虫处理最后一次取样的土壤中线虫总数显著高于其他处理。15 cm 土壤处 *H. bacteriophora* 虫尸剂最后一次取样线虫总数显著高于对照,但 5 cm 土壤处 *H. bacteriophora* 虫尸剂最后一次取样却与前两次取样无差异。

2.3 土壤深度、取样时间、品系以及施用方式对线虫存活的影响

单变量方差分析结果(表 2)显示,土壤深度、取样时间、线虫品系和施用方式对大蜡螟的死亡率和线虫数量有极显著的影响,两两之间的交互作用以及取样时间和其他任何一种因子的交互作用均对大蜡螟的致死率和线虫数量有显著的影响。

表 2 土壤深度、取样时间、线虫品系以及施用方式对大蜡螟致死率和线虫数量的影响

Table 2 Effects of soil depth, sampling time, species and application approach on *G. mellonella* mortality and total nematode number

因素 Factor	大蜡螟致死率 Mortality of <i>G. mellonella</i>			线虫总数 Total nematode number		
	df	F	P	df	F	P
深度 Depth(D)	1	20.5	<0.001	1	58.3	<0.001
时间 Time(T)	2	9.8	<0.001	2	91.7	<0.001
品系 Species(S)	1	96.6	<0.001	1	43.3	<0.001
施用形式 Approach(A)	1	463.5	<0.001	1	721.4	<0.001
深度×时间 D×T	2	3.7	0.028	2	7.2	0.001
深度×品系 D×S	1	0.9	0.351	1	5.5	0.020
深度×施用形式 D×A	1	5.5	0.021	1	1.9	0.172
时间×品系 T×S	2	28.5	<0.001	2	35.6	<0.001
时间×施用形式 T×A	2	32.1	<0.001	2	279.2	<0.001
品系×施用形式 S×A	1	15.2	<0.001	1	0.8	0.388
品系×形式×时间 S×A×T	2	6.1	0.003	2	14.9	<0.001
品系×形式×深度 S×A×D	1	11.8	0.001	1	38.8	<0.001
品系×时间×深度 S×T×D	2	0.7	0.492	2	7.4	0.001
形式×时间×深度 A×T×D	2	3.1	0.049	2	6.5	0.002
品系×形式×时间×深度 S×A×T×D	2	2.1	0.128	2	6.5	0.002

3 讨论

本试验直接将线虫埋在土里,避免了紫外线、环境湿度的胁迫,越冬过程中只有环境低温的影响,将为昆虫病原线虫在我国北方的应用提供一定的理论依据。

实验室一般用孔径 25 μm 尼龙筛网收集线虫,已经能将线虫分离^[6]。因此,试验中采用孔径 25 μm 尼龙网做成的试验袋能够阻止线虫在尼龙袋和周围土壤之间移动,当然不能排除个别体长短小的线虫主动钻出尼龙袋。我们的设计能够相对准确的评价尼龙袋内基质中的线虫数量,从而为试验的顺利进行奠定基础。

三次诱捕实验中,对照组内的大蜡螟均未死亡,

说明实验样地土壤本身不含有土著昆虫病原线虫。最后一次取样的结果表明,悬液组 *S. carpocapsae* 和 *H. bacteriophora* 在 5 cm 和 15 cm 深度处的最终存活率分别为 4.5%、3.4% 以及 0.5%、2.5%, 数量远远低于施用时的量。*S. carpocapsae* 虫尸剂随着温度的回升开始释放线虫,且释放的侵染期线虫数量与相应土壤深度处线虫悬液组的线虫数量无显著差异。同时,我们观察到置于 15 cm 深度处的 *H. bacteriophora* 虫尸剂在最后一次取样时,也有一定数量的侵染期线虫释放。总之,昆虫病原线虫 *S. carpocapsae* 较 *H. bacteriophora* 的低温耐受性更强。

土壤相对湿度对于昆虫病原线虫在土壤内的存活十分重要^[17-18],能够影响线虫的毒力^[19]。每次取样测定的土壤相对湿度结果表明,15 cm 深度的相对湿度均稍微高于 5 cm 深度,只有最后一次取样,由于前两天实验样地进行了漫灌,两种深度的相对湿度相同。随两种深度土壤湿度的变化,几乎每种处理(除去对照组)15 cm 深度处的线虫数量均高于 5 cm 深度处的数量。本实验结果与李春杰等^[13]的调查结果一致,在越冬过程中,即 15 cm 深度处侵染期线虫的存活率高于 5 cm 深度的存活率。

土壤温度同土壤湿度一样,也对昆虫病原线虫的存活、毒力、繁殖以及迁移有影响^[20],被认为是影响侵染期线虫毒力的重要因子^[21]。5 cm 深度的土温变化较 15 cm 深度更为强烈,15 cm 深度处的线虫存活率更高。除土壤的温度、湿度外,土壤质地类型^[22]以及日常的农田管理如犁地^[23]和喷施杀虫剂^[24]等也会影响线虫的存活。

有多个试验研究表明昆虫病原线虫悬液在释放到土壤中时,种群密度下降非常迅速^[25]。Ishibashi 等^[26]的研究表明,将 *S. carpocapsae* 侵染期线虫悬液喷洒到土壤表面后,其种群密度下降非常迅速,并且两周后很难从土壤中回收。出现这种情况的原因可能是紫外线、干燥^[7]以及低温对线虫的存活产生了负作用。本研究中,整个试验过程线虫几乎没有受到紫外线以及干燥的胁迫,但最终存活率依旧很低(图 2),因而利用昆虫病原线虫进行生物防治的时候,要设法提高侵染期线虫在土壤中的存活率以及持续能力。

在环境胁迫条件下,虫尸剂能够帮助线虫抵御不良环境^[9]。虫尸剂组在前二次诱捕实验结果显示(图 1),*S. carpocapsae* 和 *H. bacteriophora* 虫尸均未释放侵染期线虫,在 4 月中旬取样检测到侵染期线虫,可能是由于在最初的两个里,气温低、土壤温度也较

低,外界环境条件恶劣,虫尸剂几乎没有释放线虫,这也许是一种对种群的保护策略。4 月中旬,由于气温升高,土温(5 cm 处 13.3 °C;15 cm 处 13.4 °C)也比较适合侵染期线虫的存活,在 5 cm 和 15 cm 深度,*S. carpocapsae* 较 *H. bacteriophora* 虫尸处理分别多释放了 974 条和 3109 条线虫。正如 Bornstein-Forst 等^[27]对 *S. carpocapsae* A10 线虫的研究结果表明,低温胁迫会对线虫在大蜡螟寄主体内的发育产生负面影响,其在低温条件下发育过程会停止,并且大蜡螟体内的线虫会死亡很大一部分;同时,温度升高,到适合线虫发育后,体内的线虫会发育成为侵染期线虫,但是数量远远少于室温培养下的线虫。这与本试验结果一致,最终虫尸剂组的线虫数量也较室温培养下的数量少很多。有研究表明,在低温条件下,*H. bacteriophora* 虫尸释放的侵染期线虫数量较 *S. carpocapsae* 虫尸释放的数量显著下降^[28]。Elmowitz 等^[25]的研究没有发现昆虫病原线虫在寄主体内越冬的生存策略,尽管实验室内的研究认为它是一种潜在的帮助昆虫病原线虫越冬的一种方法,并认为侵染期线虫在寄主体外的存活才是线虫的越冬方式。在 4 月中旬经历了整个严冬后,*S. carpocapsae* 虫尸剂组及其悬液组在两种深度条件下数量并无显著差异,*H. bacteriophora* 虫尸释放线虫量较少。*H. bacteriophora* 虫尸剂在三次取出后于室温下培养,发现虫尸剂上长满了真菌,但由于条件限制,并未检测真菌的具体类型。在昆虫尸体表面进行包衣处理,有针对性的预防真菌感染,也许会提高 *H. bacteriophora* 虫尸剂的线虫释放率。在施用虫尸剂时进行适度的干燥处理,虫尸剂释放的线虫数量会增加^[11,29]。总之,本试验结果表明,利用适度干燥的虫尸剂来帮助昆虫病原线虫越冬,有助于生物防治措施持续控制有害昆虫。

与 *H. bacteriophora* 相比,在两种形式(虫尸剂以及线虫悬液)条件下,*S. carpocapsae* 均表现出更强的存活持续能力(图 2)。这与 Susurluk^[30]连续两年的研究结果相一致,即在低温条件下,斯氏属线虫较异小杆属线虫的存活能力更强,但他认为这是由于低温对 *H. bacteriophora* 迁移能力的抑制性更强,即在低温等不良环境条件下,线虫会进行垂直方向上的迁移运动。但本实验中,因为将所有处理的线虫及虫尸剂均密封于孔径为 25 μm 的尼龙网内,线虫扩散受限,垂直迁移运动也被限制,所以结果更能说明 *H. bacteriophora* 较 *S. carpocapsae* 对低温的反应更为敏感,*S. carpocapsae* 耐受低温的能力更强。

Ma等^[31]初步筛选了37种昆虫病原线虫对韭蛆的致死效率,结果表明昆虫病原线虫的浓度为50IJ/韭蛆时,能取得良好的致死效果。本试验在最终取样时,*S. carpocapsae* 虫尸剂在5 cm和15 cm深度的线虫数量分别为1436条和3598条,这些线虫足以杀死1 m²内的害虫。可见,利用昆虫病原线虫虫尸剂代替化学农药进行害虫防治是一种较好的生物防治方法,不仅有效而且可以减轻化学农药对土壤^[32]、地下水^[33]、人类健康^[34]的影响。

本研究表明,昆虫病原线虫*H. bacteriophora*和*S. carpocapsae*能够安全度过华北地区寒冷的冬季,为两种线虫在生物防治中的应用提供了一定的理论基础。两种品系的线虫能否度过华北炎热的夏季,线虫的毒力是否持续,两种施用方式下线虫毒力是否存在差异?无疑需要进一步深入研究。总之,昆虫病原线虫在田间的种群动态和活力研究,对于利用这一生物措施部分替代化学杀虫剂防治有害昆虫,提高农产品质量,保护水体和土壤等的安全具有重要意义。

4 结论

昆虫病原线虫*H. bacteriophora*和*S. carpocapsae*能够安全度过华北地区寒冷的冬季,各处理组在15 cm深度处的线虫数量均高于5 cm深度处。线虫悬液施用的最终存活率较低,且*H. bacteriophora*较*S. carpocapsae*对寒冷更为敏感。部分侵染期线虫的成功越冬,为线虫种群的繁衍提供了直接证据。4月中旬取样结果表明,虫尸释放侵染期线虫的数量与悬液组无显著差异。可见,在避免紫外线和干燥两种胁迫的同时,虫尸剂也有助于昆虫病原线虫越冬,直接施用虫尸剂将是一种有潜力的生物防治措施。

参考文献:

- [1] 王俊,胡进锋,陈峰,等.福州菜地土壤中有机磷农药残留特征及风险评价[J].农业环境科学学报,2014,33(5):951-957.
WANG Jun, HU Jin-feng, CHEN Feng, et al. Residues and risk assessment organophosphorus pesticides in vegetable soils in Fuzhou, China [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(5):951-957.
- [2] 孙江,温雅君,高景红,等.芹菜农药残留检测结果分析[J].农业资源与环境学报,2014,31(2):151-154.
SUN Jiang, WEN Ya-jun, GAO Jing-hong, et al. Analysis for pesticide residue monitoring in celery[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2014, 31(2):151-154.
- [3] 安连菊,贾令鹏,阮维斌,等.昆虫病原线虫对韭蛆和土壤线虫群落的影响[J].农业环境科学学报,2012,31(5):898-903.
AN Lian-ju, JIA Ling-peng, RUAN Wei-bin, et al. Effect of entomopathogenic nematodes on controlling *Bradysia odoriphage* Yang et Zhang and soil nematode community[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(5):898-903.
- [4] Shapiro D I, Wright S E, Tuttle A F, et al. Using entomopathogenic nematodes for biological control of plum curculio, *Conotrachelus nenuphar*: Effect of irrigation and species in apple orchards[J]. *Biological Control*, 2013, 67(2):123-129.
- [5] 田会鹏,梁洪柱,李学燕,等.昆虫病原线虫大量培养技术研究[J].中国森林病虫,2013,32(2):12-13.
TIAN Hui-peng, LIANG Hong-zhu, LI Xue-yan, et al. Mass production of entomopathogenic nematodes[J]. *Forest Pest and Disease*, 2013, 32(2):12-13.
- [6] Ali F, Wharton D A. Cold tolerance abilities of two entomopathogenic nematodes, *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora* [J]. *Cryobiology*, 2013, 66(1):24-29.
- [7] Shapiro D I, Brown I, Lewis E E. Freezing and desiccation tolerance in entomopathogenic nematodes: Diversity and correlation of traits[J]. *Journal of Nematology*, 2014, 46(1):27-34.
- [8] Ulu T C, Susurluk I A. Heat and desiccation tolerances of *Heterorhabditis bacteriophora* strains and relationships between their tolerances and some bioecological characteristics[J]. *Invertebrate Survival Journal*, 2014, 11:4-10.
- [9] Serwe-Rodriguez J, Sonnenberg K, Appleman B, et al. Effects of host desiccation on development, survival, and infectivity of entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* [J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2004, 85(3):175-181.
- [10] Monteiro C M D, Matos R D, Araujo L X, et al. Entomopathogenic nematodes in insect cadaver formulations for the control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) [J]. *Veterinary Parasitology*, 2014, 203(3):310-317.
- [11] Zhu H, Grewal P S, Reding M E. Development of a desiccated cadaver delivery system to apply entomopathogenic nematodes for control of soil pests[J]. *Applied Engineering in Agriculture*, 2011, 27(3):317-324.
- [12] Raja R K, Hazir C, Gumus A, et al. Efficacy of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* using different application methods in the presence or absence of a natural enemy[J]. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 2015, 39(2):277-285.
- [13] 李春杰,谭国忠,王义,等.黑龙江省昆虫病原线虫资源和越冬情况调查初报[J].植物保护,2011,37(2):120-123.
LI Chun-jie, TAN Guo-zhong, WANG Yi, et al. Occurrence of entomopathogenic nematodes resources and overwintering conditions in Heilongjiang Province[J]. *Plant Protection*, 2011, 37(2):120-123.
- [14] Ma J, Chen S L, Moens M, et al. Characterization in biological traits of entomopathogenic nematodes isolated from North China[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2013, 114(3):268-276.
- [15] Susurluk I A. Effects of various agricultural practices on persistence of the inundative applied entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema feltiae* in the field[J]. *Russian Journal of Nematology*, 2008, 16(1):23-32.
- [16] Wagg C, Bender S F, Widmer F, et al. Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality[J]. *Pro-*

- ceedings of the National Academy of Sciences, 2014, 111(14):5266–5270.
- [17] Shapiro D I, Gouge G H, Piggott S J, et al. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control[J]. *Biological Control*, 2006, 38(1):124–133.
- [18] Toledo J, Sanchez J E, Williams T, et al. Effect of soil moisture on the persistence and efficacy of *Heterorhabditis bacteriophora*(Rhabditida; Heterorhabditidae) against *Anastrepha ludens* (Diptera; Tephritidae) larvae[J]. *Florida Entomologist*, 2014, 97(2):528–533.
- [19] Navaneethan T, Strauch O, Besse S, et al. Influence of humidity and a surfactant–polymer–formulation on the control potential of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* against diapausing codling moth larvae (*Cydia pomonella* L.) (Lepidoptera; Tortricidae)[J]. *Bio-control*, 2010, 55:777–788.
- [20] Kung S P, Gaugler R, Kaya H K. Effects of soil temperature, moisture, and relative humidity on entomopathogenic nematode persistence[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1991, 57(2):242–249.
- [21] Radová Š, Trnková Z. Effect of soil temperature and moisture on the pathogenicity of two species of entomopathogenic nematodes (Rhabditida; Steinernematidae)[J]. *Journal of Agrobiology*, 2010, 27(1):1–7.
- [22] Pilz C, Toepfer S, Knuth P, et al. Persistence of the entomoparasitic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* in maize fields[J]. *Journal of Applied Entomology*, 2014, 138:202–212.
- [23] Bal H K, Acosta N, Cheng Z L, et al. Effect of soil management on *Heterorhabditis bacteriophora* GPS11 persistence and biological control in a vegetable production system[J]. *Biological Control*, 2014, 79:75–83.
- [24] Laznik Z, Trdan S. The influence of insecticides on the viability of entomopathogenic nematodes (Rhabditida; Steinernematidae and Heterorhabditidae) under laboratory conditions[J]. *Pest management science*, 2014, 70(5):784–789.
- [25] Elmowitz D E, Ebssa L, Koppenhöfer A M. Overwintering behavior of the entomopathogenic nematodes *Steinernema scarabaei* and *Heterorhabditis bacteriophora* and their white grub hosts[J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2013, 148(3):246–258.
- [26] Ishibashi N, Kondo E. *Steinernema feltiae* (DD-136) and *S. glaseri*: Persistence in soil and bark compost and their influence on native nematodes[J]. *Journal of Nematology*, 1986, 18(3):310–316.
- [27] Bornstein–Forst S, Kiger H, Rector A. Impacts of fluctuating temperature on the development and infectivity of entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* A10[J]. *Journal of invertebrate pathology*, 2005, 88(2):147–153.
- [28] Brown I M, Gaugler R. Temperature and humidity influence emergence and survival of entomopathogenic nematodes[J]. *Nematologica*, 1997, 43(5):363–375.
- [29] Wang X, Wang H, Feng Q, et al. Desiccation and cold storage of *Galleria mellonella* cadavers and effects on in vivo production of *Steinernema carpocapsae*[J]. *Pest Management Science*, 2014, 70(6):895–904.
- [30] Susurluk I A. Influence of temperature on the vertical movement of the entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* (TUR-S3) and *Heterorhabditis bacteriophora* (TUR-H2), and infectivity of the moving nematodes[J]. *Nematology*, 2008, 10(1):137–141.
- [31] Ma J, Chen S L, Moens M, et al. Efficacy of entomopathogenic nematodes (Rhabditida; Steinernematidae and Heterorhabditidae) against the chive gnat, *Bradysia odoriphaga*[J]. *Journal of Pest Science*, 2013, 86(3):551–561.
- [32] 张春玲, 杨晓文, 谷中鸣, 等. 农药生产企业废弃场地浅层土壤污染情况调查[J]. *农药*, 2014, 53(6):460–462.
ZHANG Chun–ling, YANG Xiao–wen, GU Zhong–ming, et al. Investigation of shallow soil pollution in waste pesticide production enterprises[J]. *Agrochemicals*, 2014, 53(6):460–462.
- [33] 陈莉娜, 滕加泉, 尹 勇, 等. 有机氯农药污染场地地下水抽水试验[J]. *农业环境科学学报*, 2012, 31(6):1223–1229.
CHEN Li–na, TENG Jia–quan, YIN Yong, et al. Conduction of a pumping test in a typical organo–chlorine pesticide contaminated site[J]. *Journal of Agro–Environment Science*, 2012, 31(6):1223–1229.
- [34] 吕萍萍, 徐晓曦. 农药残留对食品安全的影响及其检测新技术的研究进展[J]. *农学学报* 2012, 2(6):65–67.
LÜ Ping–ping, XU Xiao–xi. Research progress in the effects and new detection technique of pesticide residues on food safety[J]. *Journal of Agriculture*, 2012, 2(6):65–67.