

昆虫病原线虫对草地贪夜蛾幼虫的致死率及田间防治效果

蔡佳仪¹⁺, 张小涵¹⁺, 刘奇志^{1*}, 李星月², 唐照磊³

¹ 中国农业大学植物保护学院, 昆虫与线虫学实验室, 北京 100193; ² 四川省农业科学院植物保护研究所, 四川 成都 610066; ³ 广西壮族自治区农业科学院玉米研究所, 广西 南宁 530227

摘要: 【目的】为生产中应用昆虫病原线虫防治草地贪夜蛾提供参考。【方法】采用室内实验和田间试验相结合的方法, 室内培养皿中测定 4 种不同品系线虫对 3 和 6 龄草地贪夜蛾幼虫的毒力、致死时间和剂量, 田间玉米 6~8 叶期、日落后叶面喷施线虫至喇叭口内, 测试防治草地贪夜蛾的施用剂量和持效天数。【结果】*Steinernema feltiae* SN、*Heterorhabditis bacteriophora* H06、*Heterorhabditis beicherriana* Cherry 和 *Oscheius chongmingensis* Tumian 侵染草地贪夜蛾 3 龄幼虫 72 h 后的致死中浓度 LC₅₀ 分别为 22.13、36.54、60.01 和 1369.4 IJs · larva⁻¹; 侵染 6 龄幼虫 72 h 后的致死中浓度 LC₅₀ 分别为 18.67、31.25、45.52 和 897.28 IJs · larva⁻¹。SN、H06、Cherry 和 Tumian 品系的最佳致死时间 72 h; 最佳致死剂量 100 IJs · larva⁻¹ (Tumian 品系除外, 最佳致死剂量为 900 IJs · larva⁻¹)。玉米田线虫施用剂量 7 万 IJs · 株⁻¹ 为最佳, 施用后 16 d 的校正虫口减退率为 65.80%。【结论】在供试品系中, *S. feltiae* SN 品系的线虫对草地贪夜蛾的致病力最强, 最有田间生物防治草地贪夜蛾潜力。田间玉米 6~8 叶期、幼虫 3 龄时喷施线虫至喇叭口内防治效果最佳。

关键词: *Steinernema feltiae* SN; *Heterorhabditis bacteriophora* H06; *Heterorhabditis beicherriana* Cherry; *Oscheius chongmingensis* Tumian; LC₅₀; 田间施用剂量

Larval mortality and field trial effect caused by entomopathogenic nematodes on *Spodoptera frugiperda*

CAI Jiayi¹⁺, ZHANG Xiaohan¹⁺, LIU Qizhi^{1*}, LI Xingyue², TANG Zhaolei³

¹ Laboratory of Entomology and Nematology, College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100193, China;

² Institute of Plant Protection, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu, Sichuan 610066, China;

³ Maize Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530227, China

Abstract: 【Aim】 This study aimed to utilize entomopathogenic nematodes (EPNs) against *Spodoptera frugiperda* in maize fields. 【Method】 Four different EPN strains were screened, and in laboratory, their toxicity, lethal times, and dosages were determined on the 3rd and 6th instar larvae of *S. frugiperda*. The effective control dosage and field effectiveness were tested by spraying the nematodes into corn bell mouth at 6–8 leaf stage after sunset. 【Result】 The lethal concentrations (LC₅₀) of *Steinernema feltiae* SN, *Heterorhabditis bacteriophora* H06, *Heterorhabditis beicherriana* Cherry and *Oscheius chongmingensis* Tumian to the 3rd instar larvae of *S. frugiperda* after 72 h were 22.13, 36.54, 60.01 and 1369.40 IJs · larva⁻¹, respectively, and those on the 6th instar larvae after 72 h were 18.67, 31.25, 45.52 and 897.28 IJs · larvae⁻¹, respectively. The optimal number of infective hours for SN, H06, Cherry, and Tumian was 72 h, and their optimal lethal dosage was 100 IJs · larva⁻¹ (except for Tumian which the optimal lethal dose was 900 IJs · larvae⁻¹). The best field application dosage was 70,000 IJs · plant⁻¹, at which the corrected control effect was 65.80% after 16 d of spraying. 【Conclusion】 Among the tested strains, SN had the strongest pathogenicity and the greatest potential as a biological control agent against *S. frugiperda* in the field. The nematode spraying in corn fields has the best control effect at the stage of 6–8 leaves and the 3rd larval instar.

Key words: *Steinernema feltiae* SN; *Heterorhabditis bacteriophora* H06; *Heterorhabditis beicherriana* Cherry; *Oscheius chongmingensis* Tumian; lethal concentration of 50%; field applying dosage

收稿日期 (Received): 2021-12-17 接受日期 (Accepted): 2022-04-17

基金项目: 国家重点研发计划 (2019YFE0120400)。

作者简介: 蔡佳仪, 女, 硕士研究生。研究方向: 昆虫线虫与害虫生物防治。E-mail: 3489673423@qq.com; 张小涵, 女, 硕士研究生。研究方向: 昆虫线虫与害虫生物防治。E-mail: nncayenne@163.com

+ 同等贡献作者 (The two authors contributed equally to this work)

* 通信作者 (Author for correspondence), 刘奇志, E-mail: lqzzyx163@163.com

草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* (Smith) 源自美洲 (Sparks, 1979), 属鳞翅目 Lepidoptera 夜蛾科 Noctuidae 灰翅夜蛾属 *Spodoptera*。该虫迁飞扩散速度快, 成虫每晚可迁飞 100 km (Day *et al.*, 2017), 产卵前可迁飞 500 km (Johnson, 1987), 2019 年 1 月从缅甸入侵我国云南边城县 (杨学礼等, 2019), 其后不到一年的时间就扩散到了黄河流域及其以南地区 20 多个省份 (姜玉英等, 2019a; 吴秋琳等, 2019), 至 2019 年 10 月已扩散至我国西南、华南、华北等区域的 1000 多个县 (姜玉英等, 2019a)。

草地贪夜蛾具有繁殖能力强、食性杂等特点。一头雌虫平均总产卵量达 1500 粒, 最高可达 2000 多粒 (Johnson, 1987)。幼虫能以 80 多种作物、蔬菜、杂草等为食, 如玉米 *Zea mays* L.、高粱 *Sorghum bicolor* (L.) Moench、谷子 *Setaria italica* (L.) Beauv、大豆 *Glycine max* (L.) Merr.、大麦 *Hordeum vulgare* L.、小麦 *Triticum aestivum* L.、水稻 *Oryza sativa* L.、甘蔗 *Saccharum officinarum* L.、花生 *Arachis hypogaea* L.、甜菜 *Beta vulgaris* L.、番茄 *Lycopersicon esculentum* Mill.、马铃薯 *Solanum tuberosum* L.、白菜 *Brassica* spp.、棉花 *Gossypium* spp.、烟草 *Nicotiana tabacum* L.、苜蓿 *Medicago Sativa* L.、皇竹草 *Pennisetum sinense* Roxb.、马唐 *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.、牛筋草 *Eleusine indica* (L.) Gaertn.、苏丹草 *Sorghum sudanense* (Piper) Stapf. 等 (姜玉英等, 2019b; 王磊等, 2019; Montezano *et al.*, 2018; Sparks, 1979)。入侵我国的草地贪夜蛾种群经分子鉴定, 确定为玉米型 (张磊等, 2019), 主要危害玉米, 从玉米出苗到抽穗各个阶段都可危害, 造成叶片缺刻、枯心等 (Day *et al.*, 2017), 直接威胁我国玉米的安全生产。

草地贪夜蛾入侵我国 2 年多来, 国家启动了多项应急研究项目, 目前已有研究显示, 多种常用化学杀虫剂 (包括菊酯类、有机磷类、氨基甲酸盐类等) 及 *Bt* 等制剂可以用来控制草地贪夜蛾, 田间应用也表明, 30% 氟铃·茚虫威悬浮剂 (SC)、5% 甲维·高氯氟水乳剂 (EW)、5% 甲维·虱螨脲水分散剂 (WG)、4.3% 氯氟·甲维盐乳油 (EC)、6% 阿维·氯苯酰悬浮剂 (SC)、5.7% 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐可溶剂 (SG)、34% 乙多·甲氧虫悬浮剂 (SC)、14% 氯虫·高氯氟微囊悬浮剂 (CS) 等的田间防治效果均达 80% 以上 (关秀敏等, 2021; 韩群营等, 2021; 李菊等, 2021)。但有报道, 由于草地贪夜蛾

较强的增殖潜能, 在短时间内会对包括有机磷、拟除虫菊酯等传统的双酰胺、多杀菌素等新型的 41 种杀虫剂的有效成分产生不同程度的耐药性或抗药性 (吴益东等, 2019)。

由此更加凸显生物防治制剂对减少化学农药使用、减缓草地贪夜蛾抗药性产生的重要性。国内外已有利用病原微生物、寄生性天敌、生物源农药等有效防治草地贪夜蛾的报道, 已发现对草地贪夜蛾幼虫具有高毒力的菌株, 如球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* (Balsama) Vilemin Bb42 菌株、绿僵菌 *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin ICIPE 78 菌株、绿僵菌 ICIPE 41 菌株 (Akutse *et al.*, 2019; Garcíá & Bautista, 2011)、短稳杆菌 *Empedobacter brevis* (Holmes & Owen)、苏云金杆菌 *Bacillus thuringiensis* (陈利民等, 2019) 等; 高寄生率的寄生蜂, 如夜蛾黑卵蜂 *Telenomus tenuicornis* Thomson、螟黄赤眼蜂 *Trichogramma chilonis* Ishi (李志刚等, 2019)。

昆虫病原线虫 (entomopathogenic nematode, EPN) 是生物源农药的一大类群, 具有无植物毒性、害虫寄主范围广, 可通过寄主的二氧化碳、粪便气味、体温、电磁场和振动等线索主动寻找寄主, 易于批量繁殖、可商品化生产等特点 (Griffin *et al.*, 2005), 与其体内的共生细菌共同作用于害虫, 能在 48 h 内使害虫衰弱或死亡 (Andaló *et al.*, 2012; Gaugler, 1990)。作为蛴螬、韭菜迟眼蕈蚊 (韭蛆) *Bradysia odoriphaga* Yang & Zhang、小地老虎 *Agrotis ypsilon* Rottemberg 幼虫、甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* Hubner 幼虫土栖或某发育阶段土栖害虫的生物防治制剂, 欧洲、北美、澳大利亚、日本和中国已有商业化产品 (刘奇志等, 2002; Ehlers, 1996; Kaya, 1985; Kaya *et al.*, 2006)。

针对草地贪夜蛾, 目前已室内筛选出了几种高致死力的昆虫病原线虫 (品系), 如: *Steinernema riobrave* 在 500 IJs · larva⁻¹ 剂量下侵染 96~168 h, 寄主的死亡率达 90% (Alejandro *et al.*, 2018); 嗜菌异小杆线虫 *Heterorhabditis bacteriophora* 在 750 IJs · larva⁻¹ 剂量下侵染 48 h, 芜菁夜蛾线虫 *S. feltiae* SN 品系在 400 IJs · larva⁻¹ 剂量下侵染 36 h, 芜菁夜蛾线虫 *S. feltiae* 0663PG 品系、*S. krussei* 0657L 品系在 200 IJs · larva⁻¹ 剂量下侵染 72 h 均使草地贪夜蛾幼虫的死亡率达 80% 以上 (梁铭荣等, 2020; 杨淋凯等, 2021; Sánchez *et al.*, 2019)。目前鲜见田间应

用昆虫病原线虫的研究报道,仅见昆虫病原线虫生物防控草地贪夜蛾的室内及田间效果和影响因素的文献综述(刘奇志等,2023)

本研究选用国内已商品化的 *S. feltiae* SN 品系(以下简称 SN 品系)、*H. bacteriophora* H06 品系(以下简称 H06 品系)和尚未商品化的中国农业大学昆虫与线虫学实验室分离、纯化、鉴定、扩繁的 *H. beicherriana* Cherry 品系(以下简称 Cherry 品系)、*Oschelchius chongmingensis* Tumian 品系(以下简称 Tumian 品系)(Li *et al.*,2012; Liu *et al.*,2012)共 4 种线虫品系进行室内致死剂量及其时间测定和田间施用技术研究,以期为田间应用昆虫病原线虫防治草地贪夜蛾、减少化学农药使用、降低抗药性提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试虫源及试剂

昆虫病原线虫为 SN、H06、Cherry 和 Tumian 品系,其中,SN 和 H06 品系购自潍坊宏润农业科技有限公司,Cherry 和 Tumian 品系由中国农业大学昆虫与线虫学实验室提供,并用大蜡螟 *Galleria mellonella* L.大量扩繁,4 °C 温箱保存待用。

草地贪夜蛾幼虫购自河南省济源白云实业有限公司。

保湿剂由中国农业大学昆虫与线虫学实验室提供(陈贤群等,2016),为该实验室拥有的自主知识产权发明专利产品(刘奇志和魏太阳,2017a)。

1.2 昆虫病原线虫对草地贪夜蛾幼虫的室内侵染力

取直径 90 mm 培养皿若干,每皿垫入 2 层滤纸,放入 1 头 3 或 6 龄草地贪夜蛾幼虫,根据各自不同剂量,加入 1 mL 线虫悬浮液。每处理 30 头试虫,3 个重复。

SN、H06 和 Cherry 品系的线虫悬浮液按 0、5、10、20、50、100 IJs · larva⁻¹的剂量,Tumian 品系的线虫悬浮液按 0、100、200、300、600、900 IJs · larva⁻¹的剂量分别侵染 3 和 6 龄草地贪夜蛾幼虫,每 24 h 记录死亡的幼虫数量,直至 72 h,测定不同剂量对草地贪夜蛾幼虫的致死毒力;记录 48 h 死亡的幼虫数量,测定不同剂量对草地贪夜蛾幼虫的侵染力。

SN、H06 和 Cherry 品系的线虫悬浮液按 0、100 IJs · larva⁻¹的剂量,Tumian 品系的线虫悬浮液按 0、900 IJs · larva⁻¹的剂量分别侵染 3、6 龄草地贪夜蛾幼虫,每 24 h 记录死亡的幼虫数量,直至 72 h,测定相同剂量、不同侵染时间的线虫对草地贪夜蛾幼虫

的侵染力。

1.3 昆虫病原线虫 SN 品系对草地贪夜蛾幼虫的田间防治效果

田间防治效果试验在广西省南宁市吴圩镇广西农业科学院玉米研究所明阳基地进行。基地土质为黏壤土。试验供试面积约 600 m²,共设 24 个小区,分 6 个处理,线虫剂量分别为每株玉米 0、1 万、3 万、5 万、7 万、9 万条侵染期线虫(记作 0、1w、3w、5w、7w、9w IJs · 株⁻¹),每处理 4 个重复,每重复 1 个小区,每小区 132 株(22 株 · 行⁻¹ × 6 行),每小区面积约 23 m²。

供试玉米品种为桂单 162,播种密度为 52500 株 · hm⁻²,株行距 25 cm × 70 cm,每行平均 22 株、5.5 m。播种时间为 2020 年 11 月 3 日,玉米植株 6 ~ 8 片叶时(2020 年 11 月 18 日 17:30)第 1 次喷施 SN 品系至玉米喇叭口中,一周后(2020 年 11 月 26 日 17:30)第 2 次喷施同剂量至玉米喇叭口中。使用 3WBD-16 型背负式电动喷雾器喷雾。每株施线虫悬浮液 15 mL,并添加 0.15% 保湿剂。

施用昆虫病原线虫前及施用后 4、8、12、16 d 采用“W”形五点取样法调查记录叶片、心叶、茎秆中的活虫数量,每点调查 44 株,每小区调查 220 株,小区内各点的距离视田块大小而定,统计每小区活虫数,按以下公式计算田间防治效果。

$$\text{虫口减退率}/\% = [(\text{药前幼虫数} - \text{药后幼虫数}) / \text{药前幼虫数}] \times 100$$

$$\text{校正虫口减退率}/\% = [(\text{药后虫口减退率} - \text{空白对照虫口减退率}) / (1 - \text{空白对照虫口减退率})] \times 100$$

1.4 数据分析

采用 SPSS 21.0 统计软件进行统计分析,多组间比较采用 Duncan's 新复极差法,2 组间比较采用 *t* 检验或卡方检验。

2 结果与分析

2.1 相同时间、不同剂量的 4 种昆虫病原线虫对草地贪夜蛾 3、6 龄幼虫的侵染力

SN、H06 和 Cherry 品系分别在 5、10、20、50、100 IJs · larva⁻¹剂量下对草地贪夜蛾 3、6 龄幼虫 48 h 的侵染力结果见图 1A 和图 1B,由图中可知,上述 3 种线虫侵染草贪幼虫 48 h,在剂量 100 IJs · larva⁻¹的侵染力最高。

由图 1C 可知,Tumian 品系分别在 100、200、

300、600、900 IJs · larva⁻¹ 剂量下对草地贪夜蛾 3、6 龄幼虫 48 h 的校正死亡率均低于 40%；3 龄幼虫的校正死亡率分别为 0、13.33%、13.33%、20.00%、30.00%；6 龄幼虫的校正死亡率分别为 0、13.33%、16.67%、23.33%、33.33%。

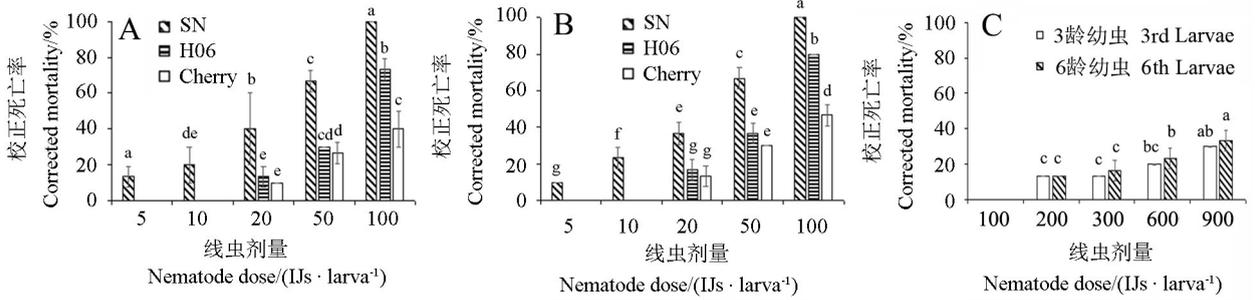


图 1 4 种昆虫病原线虫不同感染剂量对草地贪夜蛾 3、6 龄幼虫 48 h 的校正死亡率

Fig.1 Corrected mortality of four entomopathogenic nematodes against *S. frugiperda* 3rd, 6th larvae for different infecting doses

A, B: SN, H06 和 Cherry 品系分别对 3、6 龄幼虫的校正死亡率; C: Tumian 品系对 3、6 龄幼虫的校正死亡率; 不同小写字母表示经 Duncan 法检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著。

A, B: Corrected mortality of SN, H06 and Cherry stain against 3rd, 6th larvae, respectively; C: Corrected mortality of Tumian stain against 3rd, 6th larvae; Different lowercase letters indicated significant difference at $P < 0.05$ level by Duncan's test.

2.2 相同剂量不同感染时间的 4 种昆虫病原线虫对草地贪夜蛾 3 和 6 龄幼虫的侵染力

根据 2.1 的结果, SN、H06 和 Cherry 品系在 100 IJs · larva⁻¹ 剂量下侵染力最高; Tumian 品系在 900 IJs · larva⁻¹ 剂量下侵染力最高。因此, 4 种线虫不同感染时间对草地贪夜蛾 3 和 6 龄幼虫的侵染力测定选择在最高侵染力剂量下进行。

图 2 显示, 3 种品系感染 3 和 6 龄草地贪夜蛾幼虫, SN 品系 24 h 时的校正死亡率分别为 56.67% 和 60.00%, 48 h 时二者的校正死亡率都达到了 100.00%, 72 h 时的结果也相同。H06 线虫品系 24 h 时的校正死亡率分别为 33.33% 和 36.67%, 48 h 时的校正死亡率分别为 73.33% 和 80.00%, 72 h 时的校正死亡率二者皆为 100.00%。Cherry 品系 24 h 时的校正死亡率分别为 20.00% 和 23.33%, 48 h 时的校正死亡率分别为 40.00% 和 46.67%, 72 h 时的校正死亡率分别为 70.00% 和 80.00%。

Tumian 品系在 900 IJs · larva⁻¹ 的剂量下侵染草地贪 3 和 6 龄幼虫, 其校正死亡率随着时间的增加而升高。在感染 24、48 和 72 h 时, 3 龄幼虫的校正死亡率分别为 23.33%、30.00% 和 36.67%, 6 龄幼虫的校正死亡率分别为 26.67%、33.33%、50.00% (表 1)。

从图 2 和表 1 可以看出, 4 种线虫在相同最高侵染剂量下、在测定的感染时间内, 随感染时间增加, 线虫的侵染力增强, 草地贪夜蛾幼虫的校正死亡率增高。

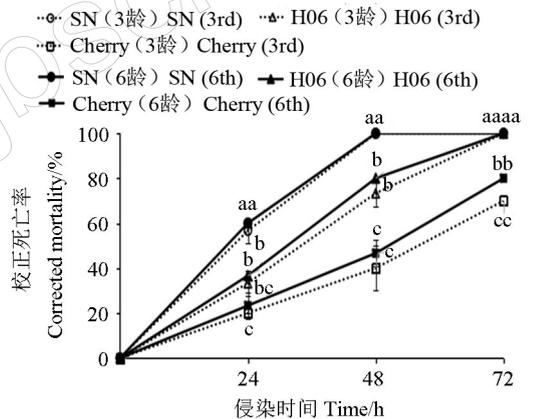


图 2 3 种昆虫病原线虫在 100 IJs · larva⁻¹ 剂量下不同感染时间对草地贪夜蛾幼虫的校正死亡率

Fig.2 Corrected mortality of three entomopathogenic nematodes against *S. frugiperda* larvae at the dosage of 100 IJs · larva⁻¹ for different infecting hours

不同小写字母表示经 Duncan 法检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著。 Different lowercase letters indicated significant difference at $P < 0.05$ level by Duncan's test.

表 1 Tumian 品系在 900 IJs · larva⁻¹ 剂量下不同感染时间对草地贪夜蛾幼虫的校正死亡率

Table 1 Corrected mortality of Tumian stain against *S. frugiperda* larvae at the dosage of 900 IJs · larva⁻¹ for different infecting hours 单位 Unit: %

幼虫龄期 Instar	24 h	48 h	72 h
3 龄 3 rd	23.33±3.33b	30.00±5.77ab	36.67±3.33a
6 龄 6 th	26.67±3.33b	33.33±3.33b	50.00±0.00a

表中数据为平均数±标准误。同行不同小写字母表示经 Duncan 法检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著。

Date are mean±SE. Different lowercase letters in the same row indicated significant difference at $P < 0.05$ level by Duncan's test.

2.3 4 种昆虫病原线虫对草地贪夜蛾 3 和 6 龄幼虫室内毒力

表 2 显示,SN、H06、Cherry 和 Tumian 品系线虫侵染草地贪夜蛾 3 龄幼虫 72 h 后的致死中浓度(LC₅₀)分别为 22.13、36.54、60.01 和 1369.4 IJs · larva⁻¹;侵染 6 龄幼虫的 LC₅₀分别为 18.67、31.25、45.52 和 897.28 IJs · larva⁻¹。上述 4 种线虫对草贪 3 龄和 6 龄幼虫的毒力强弱顺序为:SN 品系>H06 品系>Cherry 品系>Tumian 品系。

表 2 4 种昆虫病原线虫对草地贪夜蛾幼虫的致死毒力(72 h LC₅₀)

Table 2 Lethal toxicity of four entomopathogenic nematodes against larvae of *S. frugiperda* (72 h LC₅₀)

供试线虫品系 Strain	草地贪夜蛾龄期 Instar	Slope±SE	χ ²	致死中浓度	
				LC ₅₀ /(IJs · larva ⁻¹)	95%置信限 95% CL/(IJs · larva ⁻¹)
SN	3 龄 3 rd	2.457±0.391	7.080	22.13	16.57–28.81
	6 龄 6 th	3.223±0.554	5.925	18.67	14.33–23.47
H06	3 龄 3 rd	3.128±0.429	9.494	36.54	29.69–45.73
	6 龄 6 th	3.131±0.146	5.224	31.25	25.41–38.89
Cherry	3 龄 3 rd	2.314±0.376	3.054	60.01	46.01–85.37
	6 龄 6 th	2.371±0.349	2.412	45.52	35.51–61.14
Tumian	3 龄 3 rd	1.613±0.427	4.933	1369.40	836.65–5259.8
	6 龄 6 th	1.896±0.415	3.370	897.28	640.31–1757.01

表 3 线虫 *S. feltiae* SN 品系对草地贪夜蛾的田间防治效果

Table 3 Field trial effect of *S. feltiae* SN strain against *S. frugiperda*

施用剂量/ (IJs · 株 ⁻¹) Dosage	用药前基数/ (头 · 株 ⁻¹) Number before treatment	用药后 4 d 4 days after treatment		用药后 8 d 8 days after treatment		用药后 12 d 12 days after treatment		用药后 16 d 16 days after treatment	
		活虫数/ (头 · 株 ⁻¹) Number after treatment	校正虫口 减退率 Corrected decline rate of live larvae/%	活虫数/ (头 · 株 ⁻¹) Number after treatment	校正虫口 减退率 Corrected decline rate of live larvae/%	活虫数/ (头 · 株 ⁻¹) Number after treatment	校正虫口 减退率 Corrected decline rate of live larvae/%	活虫数/ (头 · 株 ⁻¹) Number after treatment	校正虫口 减退率 Corrected decline rate of live larvae/%
		1w	0.146	0.085	20.18±5.34c	0.100	26.50±4.90b	0.086	23.80±6.18c
3w	0.160	0.095	21.94±9.53bc	0.120	19.87±4.66c	0.080	33.39±5.44bc	0.076	39.28±2.32c
5w	0.170	0.095	27.77±4.69b	0.120	24.11±7.59b	0.080	39.78±9.82b	0.066	45.96±3.37b
7w	0.150	0.070	37.55±7.51a	0.076	45.81±2.83a	0.056	53.16±4.36a	0.040	65.80±4.66a
9w	0.170	0.085	34.47±6.88a	0.100	37.33±9.43a	0.076	43.51±8.96ab	0.066	48.88±8.66b
清水 Water	0.146	0.110		0.136		0.116		0.110	

表中数据为平均数±标准误。同列不同小写字母表示经 Duncan 法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。

Date are mean±SE. Different lowercase letters in the same column indicated significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's test.

3 结论与讨论

本研究中,线虫 SN、H06 和 Cherry 品系在培养皿中的最佳致死草地贪夜蛾幼虫时间 72 h,最佳致死剂量 100 IJs · larva⁻¹,草地贪夜蛾幼虫的校正死亡率均在 70%~100%。Tumian 品系线虫侵染草地贪夜蛾幼虫 72 h 的最佳致死剂量为 900 IJs · larva⁻¹,校正死亡率 50%。田间施用 SN 品系的最佳剂量为 7w IJs · 株⁻¹,施用后 16 d 的校正防效为 65.80%。

线虫 SN 和 H06 品系对草地贪夜蛾的致死作用已有报道(梁铭荣等,2020)。本研究补充了对 3

2.4 田间昆虫病原线虫对草地贪夜蛾防治效果

不同剂量的 SN 品系线虫处理对草地贪夜蛾防治效果见表 3。与用药前相比,用药后 4~16 d,各剂量处理的虫口密度明显下降。至药后 16 d 时,5 个剂量的线虫处理存在差异,7w IJs · 株⁻¹>9w IJs · 株⁻¹>5w IJs · 株⁻¹>3w IJs · 株⁻¹>1w IJs · 株⁻¹,SN 品系线虫剂量 7w IJs · 株⁻¹处理的用药后 16 d 校正防效达到 65.80% 高峰值,符合生物防治的田间防效标准。

和 6 龄幼虫的侵染效果和延长了线虫侵染时间的观察,以期为田间应用提供参考。由于在田间 2 龄幼虫对玉米的危害较小,3 龄幼虫开始取食量增大,开始危害玉米叶片,早春当玉米苗长到 5~6 片叶时,在芯部开始形成小的喇叭口,易存留线虫悬浮液,至玉米 6~8 片叶时正是 3 龄幼虫发生高峰期,若室内能够明确线虫对 3 龄幼虫的致死率,则能更好指导田间施用时间。同理,6 龄幼虫(尤其新蜕皮的 6 龄幼虫)取食量最大,对玉米的危害最重,若能明确线虫对新蜕皮的 6 龄幼虫有效侵染剂量和侵染时间,也能指导田间应用。

本研究选用了本实验室分离纯化和命名的小杆线虫 Tumian 品系 (Liu *et al.*, 2012), 是因为小杆线虫与异小杆线虫及斯氏线虫对害虫的致死机理不同, 它们体内的共生菌不同, 可能对草地贪夜蛾幼虫有更高的致死效果。小杆线虫体内主要有 2 种共生细菌, 分属于苍白杆菌属 *Ochrobactrum* 和芽孢杆菌属 *Bacillus*, 另有至少 33 个属的细菌, 研究表明, 小麦苍白杆菌 *Ochrobactrum tritici* 与蜡样芽孢杆菌 *Bacillus cereus* 对 Tumian 品系线虫的致病效果有不同影响 (Fu & Liu, 2019), 而异小杆线虫和斯氏线虫体内仅一种共生菌, 分属于发光杆菌属 *Photobacterium* 和致病杆菌属 *Xenorhabdus* (常豆豆等, 2021)。研究发现, 小杆属线虫 Tumian 品系对大蜡螟 *Galleria mellonella* L. 幼虫、黄粉虫 *Tenebrio molitor* L. 幼虫、天牛幼虫、黄瓜根际植物寄生线虫均有致死力, 对危害核桃的云斑天牛 *Batocera horsfieldi* Hope 田间致死率能达到 80% 以上 (曹海峰等, 2007; 刘奇志和魏太阳, 2017b; Fu & Liu, 2019)。但本研究显示, Tumian 品系在室内 900 IJs · larva⁻¹ 的剂量下 48 h 时侵染草地贪夜蛾幼虫的 LC₅₀ 很高, 校正死亡率仅为 50.00%, 说明 Tumian 品系尚不适用于田间防治草地贪夜蛾。

目前, 田间用昆虫病原线虫防治草地贪夜蛾的研究较少, 效果还不理想, 如在剂量 2.5 × 10¹⁰ IJs · hm⁻² (47.6 万 · 株⁻¹) 的条件下, *S. feltiae* 防治草地贪夜蛾幼虫的田间效果仅为 35.30% (Richter & Fuxa, 1990)。本研究选用国内已经商品化的 SN 和 H06 品系, 但田间施用室内致死毒力最佳的线虫 SN 品系, 得到的最高防效只有 65.80%, 虽然与微生物农药防治效果相当, 如, 金龟子绿僵菌对草地贪夜蛾的田间防效可达 69.75% (耿协洲等, 2021), 但尚未达到生产上与化学农药接近的 85% 以上防治效果的标准, 而且按照目前 SN 品系线虫市场的销售价, 每公顷需要 30 多元人民币, 远高于化学农药。因此, 进一步筛选高致死毒力的昆虫病原线虫、研发线虫助剂或增效剂、减少昆虫病原线虫的施用量、优化对草地贪夜蛾高致死毒力线虫的田间施用技术还有待进行。

参考文献

曹海峰, 刘奇志, 谢文闻, 曹静, 李丽, 2007. 小杆线虫 (*Rhabditis* sp.) 对温室黄瓜根际植物寄生线虫的抑制作

- 用. 植物病理学报, 37(2): 210-213.
- 常豆豆, 王从丽, 李春杰, 2021. 昆虫病原线虫致病机制研究进展. 中国生物防治学报. DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2021.09.022.
- 陈利民, 黄俊, 吴全聪, 吴倩倩, 潘逸明, 吕要斌, 2019. 绿色杀虫剂对草地贪夜蛾杀虫活性比较测定. 环境昆虫学报, 41(4): 775-781.
- 耿协洲, 许爱琼, 谢龙, 汪琴, 2021. 金龟子绿僵菌防治玉米草地贪夜蛾田间药效试验. 湖北植保 (1): 12-13, 19.
- 陈贤群, 刘奇志, 曹景富, 魏太阳, 施艳, 郭蕾, 2016. 两种昆虫病原线虫防治核桃云斑天牛田间效果评价. 中国生物防治学报, 32(4): 456-461.
- 关秀敏, 赵猛, 杨建国, 唐永辉, 王振华, 2021. 草地贪夜蛾防治药剂田间试验示范效果. 植物保护, 47(5): 320-324.
- 韩群营, 曾学军, 黄明生, 汤长征, 胡刚, 龚世伟, 曾庆利, 周厚敏, 2021. 6 种杀虫剂对甜玉米上草地贪夜蛾幼虫的田间防治效果. 湖北植保 (4): 11-13.
- 姜玉英, 刘杰, 朱晓明, 2019a. 草地贪夜蛾侵入我国的发生动态和未来趋势分析. 中国植保导刊, 39(2): 33-35.
- 姜玉英, 刘杰, 谢茂昌, 李亚红, 杨俊杰, 张曼丽, 邱坤, 2019b. 2019 年我国草地贪夜蛾扩散为害规律观测. 植物保护, 45(6): 10-19.
- 李菊, 杨莲, 赵艳梅, 何旖旎, 合梅, 吴洲利, 代玉华, 2021. 玉溪市红塔区 8 种药剂防治玉米草地贪夜蛾筛选试验. 农业科技通讯 (8): 79-80, 289.
- 李志刚, 吕欣, 押玉柯, 徐齐云, 叶静文, 韩诗畴, 张春兰, 李军, 2019. 粤港两地田间发现夜蛾黑卵蜂与螟黄赤眼蜂寄生草地贪夜蛾. 环境昆虫学报, 41(4): 760-765.
- 刘奇志, 蔡佳仪, 张小涵, 2023. 昆虫病原线虫生物防控草地贪夜蛾的室内及田间效果和影响因素. 植物保护学报, 50(1): 50-58.
- 刘奇志, 魏太阳, 2017a. 昆虫线虫保湿剂及昆虫线虫保存方法: CN201510390770.6. 2017-04-05.
- 刘奇志, 魏太阳, 2017b. 小杆线虫在防治核桃云斑天牛中的应用: CN201510275635.7. 2017-08-29.
- 刘奇志, 赵映霞, 严毓骅, 王玉柱, ITAMAR G, 2002. 我国昆虫病原线虫生物防治应用研究进展. 中国农业大学学报, 7(5): 65-69.
- 梁铭荣, 李子园, 戴钊萱, 陆永跃, 陈科伟, 王磊, 2020. 4 种昆虫病原线虫对草地贪夜蛾的致死作用. 生物安全学报, 29(2): 82-89.
- 王磊, 陈科伟, 钟国华, 洗继东, 何晓芳, 陆永跃, 2019. 重大入侵害虫草地贪夜蛾发生危害、防控研究进展及防控策略探讨. 环境昆虫学报, 41(3): 479-487.
- 吴秋琳, 姜玉英, 吴孔明, 2019. 草地贪夜蛾缅甸虫源迁入中国的路径分析. 植物保护, 45(2): 1-6.

- 吴益东, 沈慧雯, 张正, 王兴亮, 施雨, 武淑文, 杨亦桦, 2019. 草地贪夜蛾抗药性概况及其治理对策. *应用昆虫学报*, 56(4): 599-604.
- 杨淋凯, 朱小芳, 钱秀娟, 刘卫红, 姜红霞, 刘长仲, 2021. 甘肃省 5 种昆虫病原线虫对草地贪夜蛾的致病力测定. *草业科学*, 38(10): 2069-2076.
- 杨学礼, 刘永昌, 罗茗钟, 李依, 王文辉, 万飞, 姜虹, 2019. 云南省江城首次发现迁入我国西南地区的草地贪夜蛾. *云南农业* (1): 72.
- 张磊, 靳明辉, 张丹丹, 姜玉英, 刘杰, 吴孔明, 萧玉涛, 2019. 入侵云南草地贪夜蛾的分子鉴定. *植物保护*, 45(2): 19-24, 56.
- AKUTSE K S, KIMEMIA J W, EKESI S, KHAMIS F M, OMBURA O L, SUBRAMANIAN S, 2019. Ovicidal effects of entomopathogenic fungal isolates on the invasive fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Applied Entomology*, 143(6): 626-634.
- ALEJANDRO LEYVA-HERNANDEZ H, GARCIA-GUTIERREZ C, RUIZ-VEGA J, CALDERON-VAZQUEZ C L, LUNAGONZALEZ A, GARCIA-SALAS S, 2018. Evaluation of the virulence of *Steinernema riobrave* and *Rhabditis blumi* against third instar larvae of *Spodoptera frugiperda*. *Southwest Entomol*, 43(1): 189-197.
- ANDALÓ V, SANTOS V, MOREIRA G F, MOREIRA C C, MOINO J A, 2012. Evaluation of entomopathogenic nematodes under laboratory and greenhouses conditions for the control of *Spodoptera frugiperda*. *Cienc Rural*, 40: 1860-1866.
- DAY R, ABRAHAMS P, BATEMAN M, BEALE T, CLOTTEY V, COCK M, COLMENAREZ Y, CORNIANI N, EARLY R, GODWIN J, GOMEZ J, MORENO P G, MURPHY S T, OPPONG M B, PHIRI N, PRATT C, SILVESTRI S, WITT A, 2017. Fall armyworm: impacts and implications for Africa. *Outlooks on Pest Management*, 28(5): 196-201.
- EHLERS R, 1996. Current and future use of nematodes in biocontrol: practice and commercial aspects with regard to regulatory policy issues. *Biocontrol Science and Technology*, 6(3): 303-316.
- FU J R, LIU Q Z, 2019. Evaluation and entomopathogenicity of gut bacteria associated with dauer juveniles of *Oscheius chongmingensis* (Nematoda: Rhabditidae). *Microbiology Open* (Weinheim), 8(9): e00823.
- GARCÍA C, BAUTISTA A N, 2011. Pathogenicity of isolates of entomopathogenic fungi against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Epilachna varivestis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Revista Colombiana de Entomologia*, 37: 217-222.
- GAUGLER R, 1990. *Entomopathogenic nematodes in biological control*. Boca Raton: CRC Press.
- GRIFFIN C T, BOEMARE N E, LEWIS E E, 2005. Biology and behaviour//GREWAL P S, EHLERS R U, SHAPIRO-ILAN D I. *Nematodes as biocontrol agents*. Wallingford, UK: CABI Publishing: 47-64.
- JOHNSON S J, 1987. Migration and the life history strategy of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* in the Western Hemisphere. *International Journal of Tropical Insect Science*, 8(4/5/6): 543-549.
- KAYA H K, 1985. Susceptibility of early larval stages of *Pseudaletia unipuncta* and *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) to the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 46(1): 58-62.
- KAYA H K, AGUILLERA M M, ALUMAI A, CHOO H Y, DE LA TORRE M, FODOR A, GANGULY S, HAZIR S, LAKATOS T, PYE A, 2006. Status of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria from selected countries or regions of the world. *Biological Control*, 38(1): 134-155.
- LI X Y, LIU Q Z, NERMUT J, PUZA V, MRACEK Z, 2012. *Heterorhabditis beicherriana* n. sp. (Nematoda: Heterorhabditidae), a new entomopathogenic nematode from the Shunyi district of Beijing, China. *Zootaxa*, 3569(1): 25-40.
- LIU Q Z, MRACEK Z, ZHANG L J, PUZA V, DONG L M, 2012. Re-description of *Oscheius chongmingensis* (Zhang et al., 2008) (Nematoda: Rhabditidae) and its entomopathogenicity. *Nematology*, 14(2): 139-149.
- MONTEZANO D G, SPECHT A, SOSA-GÓMEZ D R, ROQUE-SPECHT V F, SOUSA-SILVA J C, PAULA-MORAES S V D, PETERSON J A, HUNT T E, 2018. Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. *African Entomology*, 26(2): 286-300.
- RICHTER A, FUXA J, 1990. Effect of *Steinernema feltiae* on *Spodoptera frugiperda* and *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae) in corn. *Journal of Economic Entomology*, 83(4): 1286-1291.
- SÁNCHEZ J, VALLE J, PÉREZ E, NEIRA M, CALDERÓN C, 2019. Biological control of *Spodoptera frugiperda* in *Zea mays* culture: use of entomopathogenic nematodes. *Scientia Agropecuaria*, 10(4): 551-557.
- SPARKS A N, 1979. Fall armyworm symposium: a review of the biology of the fall armyworm. *Florida Entomologist*, 62(2): 82.