

嗜菌异小杆线虫 H06 品系对红棕象甲致病力的时间效应及对血淋巴的影响

吕朝军, 张楚毓, 钟宝珠*, 赵建超, 陈拓
中国热带农业科学院椰子研究所, 海南文昌 571339

摘要: 【目的】阐明嗜菌异小杆线虫 H06 品系处理对红棕象甲血淋巴免疫系统的影响。【方法】采用室内生物测定和生理生化测定法, 研究了嗜菌异小杆线虫 H06 品系对红棕象甲不同虫态的致病力及对血淋巴各项指标的调节作用。【结果】嗜菌异小杆线虫 H06 品系对红棕象甲不同虫态的致病力与处理浓度和处理时间均呈正相关性, 经嗜菌异小杆线虫 H06 品系处理后, 红棕象甲血淋巴总量和血淋巴酯酶均呈前期升高、后期降低的趋势, 处理后 72 h 的血淋巴总量和酯酶活性与对照相比分别降低 39.73% 和 53.36%; 血淋巴蛋白含量与对照相比呈下降的趋势, 虽在 60 h 时有一个短暂的回升, 之后又迅速下降, 其中在处理 72 h, 血淋巴的蛋白含量与对照相比下降 74.96%。【结论】嗜菌异小杆线虫 H06 品系的侵入破坏了红棕象甲的血淋巴免疫系统, 本研究结果可为揭示昆虫病原线虫对红棕象甲的致病机理提供依据。

关键词: 嗜菌异小杆线虫 H06 品系; 红棕象甲; 血淋巴; 致病机理



开放科学标识码
(OSID 码)

Virulence-time correlation and effects to haemolymph of *Heterorhabditis bacteriophora* H06 strain to *Rhynchophorus ferrugineus*

LÜ Chaojun, ZHANG Chuyu, ZHONG Baozhu*, ZHAO Jianchao, CHEN Tuo

Coconut Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Wenchang, Hainan 571339, China

Abstract: 【Aim】Elucidate the effect of *Heterorhabditis bacteriophora* H06 strain treatment on the hemolymph immune system of *Rhynchophorus ferrugineus*. 【Method】The pathogenicity of the *H. bacteriophora* H06 strain on *R. ferrugineus* at different stages and its regulation of various indexes of hemolymph were studied through laboratory bioassay and physio-biochemical determination methods. 【Result】The virulence of the *H. bacteriophora* H06 strain showed a positive correlation with treatment concentration and treatment time on different stages of *R. ferrugineus*. After treatment with the *H. bacteriophora* H06 strain, the total hemolymph and hemolymph esterase levels of *R. ferrugineus* increased in the early stage and decreased later. The total hemolymph content and esterase activity decreased by 39.73% and 53.36%, respectively, 72 h after treatment compared with the control. The hemolymph protein content decreased, with a short increase at 60 h, and then decreased rapidly. The hemolymph protein content decreased by 74.96% 72 h after treatment. 【Conclusion】The infestation of the *H. bacteriophora* H06 strain destroyed the hemolymph immune system of *R. ferrugineus*. The results may provide a theoretical basis for revealing the pathogenic mechanism of the entomopathogenic nematode to *R. ferrugineus*.

Key words: *Heterorhabditis bacteriophora* H06 Strain; *Rhynchophorus ferrugineus*; haemolymph; pathogenic mechanism

红棕象甲 *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliv.) 是棕 Elaeis guineensis Jacq. (Nazmi *et al.*, 2020)、椰枣 *Phoenix dactylifera* L. (Manzoor *et al.*, 2022) 等造成了极为严重的损失。随着人们对食品健康、生态保

收稿日期 (Received): 2022-08-17 接受日期 (Accepted): 2022-10-30

基金项目: 海南省自然科学基金高层次人才项目 (320RC740)

作者简介: 吕朝军, 男, 博士, 副研究员。研究方向: 热带害虫生态防控技术。E-mail: Lcj5783@126.com

* 通信作者 (Author for correspondence), 钟宝珠, E-mail: baozhz@163.com

护的要求越来越高,生物防治作为重要的防控手段日益受到重视。红棕象甲的生防因子包括绿僵菌 (Ahmed *et al.*, 2022)、白僵菌 (Ahmed & Freed, 2021)、细菌 (Almasoudi *et al.*, 2022; Celi *et al.*, 2022)、昆虫病原线虫 (Aqsa, 2020; Wan *et al.*, 2021; Yasin *et al.*, 2021) 等。目前,昆虫病原线虫 (entomopathogenic nematodes, EPNs) 在农业害虫防治中越来越表现出其优越性,由于其喜欢潮湿隐蔽的环境,常被用于防治钻蛀害虫和土壤害虫 (刘奇志等, 2002)。研究发现,在沙特将 EPNs 施用到土壤中后,可导致 60% 和 46% 的红棕象甲幼虫和成虫死亡 (Saleh & Alheji, 2003); 在实验室条件下处理 8 d 后,嗜菌异小杆线虫 *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar 对红棕象甲致死率达到 86.9% (Manzoor *et al.*, 2017); EPNs 功效评估结果显示,在阿联酋的椰枣园本土分离的异小杆线虫能在短时间内成功杀死红棕象甲的幼虫、成虫和茧,椰枣地的 RPW 种群也成功减少 (Elawad *et al.*, 2007)。由于其对昆虫宿主的高致病性 (Gozel *et al.*, 2015), 2 种常见的 EPNs 被用作害虫综合治理中的生物控制剂 (Griffin, 2012)。钟宝珠等 (2020a, 2020b) 研究表明,嗜菌异小杆线虫 H06 品系对红棕象甲幼虫具有一定的防控潜力,但其对红棕象甲的血淋巴等免疫系统的影响还未可知。因此,本试验系统研究了嗜菌异小杆线虫 H06 品系对红棕象甲各虫态的动态毒力水平,及对幼虫血淋巴总量、血淋巴酯酶活性及血淋巴蛋白含量的影响,以期揭示嗜菌异小杆线虫 H06 品系侵染红棕象甲的作用机理提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

嗜菌异小杆线虫 H06 品系及红棕象甲各虫态均由中国热带农业科学院椰子研究所生物防治实验室自繁自养。其中,嗜菌异小杆线虫 H06 品系以大蜡螟 *Galleria mellonella* (L.) 幼虫为寄主进行扩繁,采用 White (1927) 方法收集 3 龄感染期线虫 (infective juveniles, IJs), 使用前用蒸馏水稀释至系列浓度备用; 红棕象甲采用半人工饲料 (马子龙等, 2012) 进行饲养。

试虫繁育及毒力试验均在温度 (26 ± 1) °C、湿度 (70 ± 5) % 的室内开展。

1.2 试验方法

1.2.1 嗜菌异小杆线虫对红棕象甲不同虫态致病

力的时间效应 8 龄幼虫致病力测定: 用移液枪吸取 1 mL 线虫溶液, 均匀滴加在红棕象甲背部, 将试虫转移至养虫盒 (35 cm × 24 cm × 11 cm) 中, 养虫盒内预先放置 2 层甘蔗段作为试虫饲料。每处理 30 头, 重复 3 次, 处理后逐日统计死亡率, 连续统计 5 d。以昆虫针轻触虫体, 完全不动者为死亡。以蒸馏水处理为对照。

卵致病力测定: 将卵置于养虫杯 ($\varphi 4$ cm × 3 cm) 中, 杯底覆盖滤纸, 用移液枪滴加 1 mL 不同浓度线虫液至滤纸上。处理后逐日统计卵死亡率, 连续统计 5 d。每处理 30 粒, 重复 3 次, 以卵变红色或黑色为死亡。以蒸馏水处理为对照。

蛹致病力测定: 将红棕象甲蛹单独置于养虫杯 ($\varphi 4$ cm × 3 cm) 中, 杯底覆盖滤纸, 用移液枪滴加 1 mL 不同浓度线虫液至滤纸上。处理后逐日统计蛹死亡率, 连续统计 7 d。每处理 30 头, 重复 3 次, 以毛笔轻触蛹体, 蛹不动者为死亡。以蒸馏水处理为对照。

成虫致病力测定: 将红棕象甲成虫单独置于养虫杯 ($\varphi 4$ cm × 3 cm) 中, 杯内添加甘蔗块作为试虫饲料, 杯底覆盖滤纸, 用移液枪滴加 1 mL 不同浓度线虫液至滤纸上。处理后逐日统计成虫死亡率, 连续统计 7 d。每处理 30 头, 重复 3 次, 以昆虫针轻触虫体蜷曲不动者为死亡。以蒸馏水处理为对照。

1.2.2 红棕象甲幼虫血淋巴总量测定 参考胡美英等 (2002) 的方法。以 750 条 · mL⁻¹ 嗜菌异小杆线虫 H06 品系处理红棕象甲 8 龄幼虫, 处理方法同 1.2.1。用电子天平准确称量处理后 0、36、48、60 和 72 h 的红棕象甲 8 龄幼虫活虫质量 (精确至 0.001 g), 用昆虫针刺破胸部, 挤出血淋巴, 让其在吸水纸上爬行 0.5 h 后再次称质重, 最后计算血淋巴总质量 (每克幼虫体重中血淋巴的毫克数, mg · g⁻¹)。以蒸馏水处理为对照。

1.2.3 红棕象甲血淋巴酯酶活性测定 采用陈长琨 (1993) 的方法。以 750 条 · mL⁻¹ 线虫液处理红棕象甲 8 龄幼虫, 处理方法同 1.2.1。在浓度为 3×10^{-4} mol · L⁻¹ 的 3 mL α -醋酸萘酯溶液中加入 0.04 mol · L⁻¹ 磷酸缓冲液 (PBS) 0.45 mL。摇匀后置于 25 °C 下平衡 5 min, 各加入血淋巴 0.05 mL, 立即摇匀计时。25 °C 下平衡 25 min, 迅速加入显色剂 0.5 mL (1% 固蓝 RR 盐溶液 + 15% SDS, 使用前 2 : 5 混匀), 终止反应并显色, 30 min 后待出现稳定的蓝绿色后, 测定 $D_{600\text{nm}}$ 值。以蒸馏水处理为对照。

1.2.4 红棕象甲血淋巴蛋白含量测定 采用考马斯亮蓝 G-250 法(陈钧辉等,2003)。以 750 条·mL⁻¹线虫液处理红棕象甲 8 龄幼虫,处理方法同 1.2.1。预先用 0.5 mg·mL⁻¹牛血清蛋白制作标准曲线。将处理后的红棕象甲血淋巴溶液 0.2 mL 加入蒸馏水 0.8 mL,考马斯亮蓝试剂 5 mL,摇菌放置 20 min 后,测定 D_{595 nm} 值,对照标准曲线统计每毫升血淋巴中的蛋白质含量(mg·mL⁻¹)。以蒸馏水处理为对照。

1.3 数据统计

参考黄剑和吴文君(2004)的方法,采用 Excel 统计软件求出毒力回归方程及 LC₅₀、LC₅₀的 95% 置信区间等。

2 结果与分析

2.1 嗜菌异小杆线虫对红棕象甲不同虫态致病力的时间效应

嗜菌异小杆线虫 H06 品系对红棕象甲不同虫

态的毒力水平和致死效果如表 1 和图 1 所示。以 LC₅₀为参考,随处理时间延长,嗜菌异小杆线虫 H06 品系对红棕象甲各虫态的毒力水平也呈现上升的趋势,其中以对卵的毒力水平最高。

以处理后 LC₅₀的 95% 置信区间是否重叠为参考值,处理后 3 d 嗜菌异小杆线虫 H06 品系对红棕象甲各虫态的毒力以卵最高,而 8 龄幼虫、蛹和成虫处理组的毒力值未出现显著差异;处理后 4 和 5 d 后,对各虫态的毒力值仍以卵最高,其次为 8 龄幼虫和蛹,对成虫的毒力水平低于 8 龄幼虫处理组,但与蛹处理组差异未达到显著水平;在处理后期(6 和 7 d),嗜菌异小杆线虫 H06 品系对成虫的毒力水平均显著高于蛹处理组。

嗜菌异小杆线虫 H06 品系对红棕象甲不同虫态的致死率结果表明,随着处理时间的延长,红棕象甲的死亡率均呈现上升的趋势(图 1)。

表 1 嗜菌异小杆线虫 H06 品系处理对红棕象甲的毒力
Table 1 Toxicity of *H. bacteriophora* H06 strain against *R. ferrugineus*

虫态 Insect stage	处理时间 Time/d	毒力回归方程 LC-P-Line	致死中浓度 LC ₅₀ /(条·mL ⁻¹)	相关系数 r Correlation coefficient	95% 置信区间 95% C.I
卵 Egg	1	-	-	-	-
	2	Y=0.07+1.98X	307.59	0.95	149.57~623.56
	3	Y=1.22+1.71X	165.00	0.96	108.13~251.77
	4	Y=2.55+1.56X	130.97	0.97	83.37~205.75
	5	Y=3.15+0.91X	104.85	0.92	66.62~165.01
8 龄幼虫 8 th larvae	1	Y=0.28+1.25X	6054.87	0.98	1173.26~31247.62
	2	Y=0.30+1.44X	1835.49	0.97	960.22~3508.62
	3	Y=0.67+1.46X	928.76	0.93	654.73~1317.49
	4	Y=0.86+1.51X	551.53	0.92	449.34~676.95
	5	Y=0.36+1.78X	410.43	0.94	353.72~476.22
蛹 Pupal	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	Y=-0.51+1.75X	1416.33	0.95	735.70~2726.63
	4	Y=0.27+1.62X	845.43	0.95	562.16~1271.43
	5	Y=0.13+1.77X	571.45	0.99	456.58~715.46
	6	Y=0.10+1.84X	456.93	0.98	398.53~535.98
	7	Y=-0.67+2.25X	334.49	0.98	296.52~377.32
成虫 Adult	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	Y=0.25+1.46X	1837.31	0.93	1113.41~3031.88
	4	Y=0.21+1.57X	1138.92	0.95	839.84~1544.51
	5	Y=-0.25+1.83X	746.22	0.95	626.09~889.39
	6	Y=0.07+1.75X	656.32	0.95	557.36~772.85
	7	Y=-1.33+2.36X	477.46	0.95	425.24~536.08

“-”表示未出现死亡。

“-” means no mortality observed.

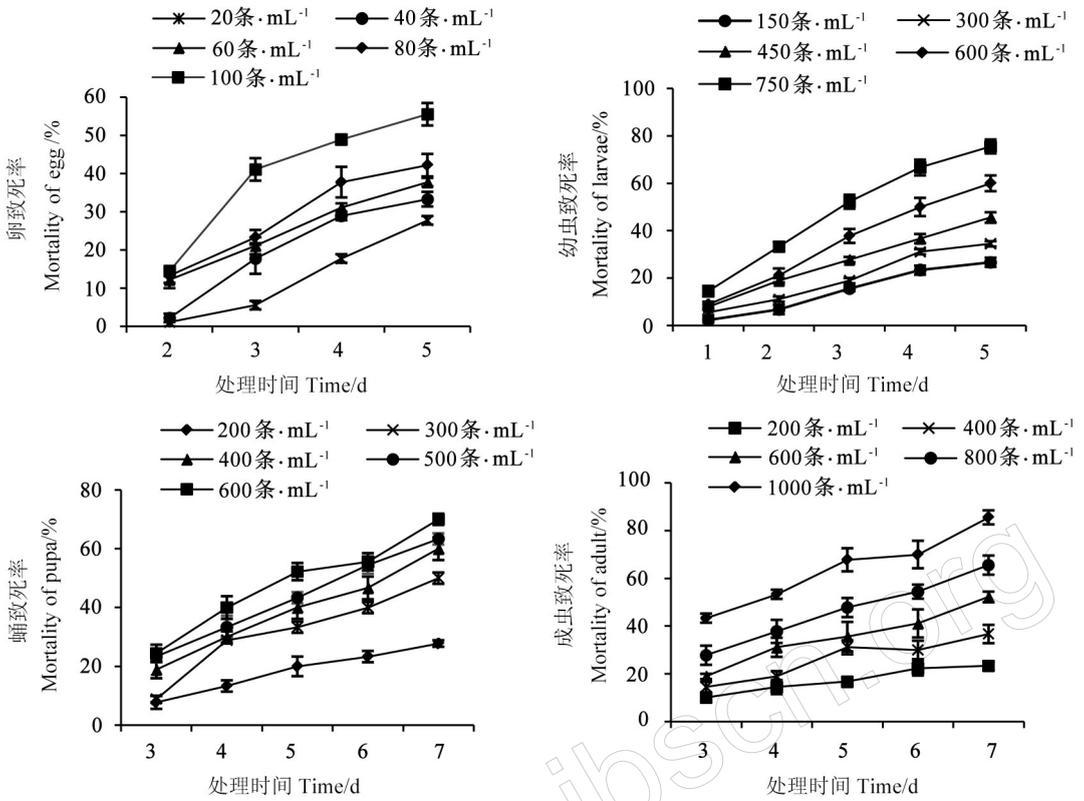


图 1 嗜菌异小杆线虫 H06 品系对红棕象甲不同虫态的致死率

Fig.1 Mortality of *H. bacteriophora* H06 strain against different stage of *R. ferrugineus*

2.2 红棕象甲幼虫血淋巴总量的测定

经嗜菌异小杆线虫 H06 品系处理后,红棕象甲血淋巴总量呈现一个前期(0~48 h)升高,后期(48~72 h)逐渐降低的趋势,其中在处理 48 h 的血淋巴总量为 83.42 mg · g⁻¹,与对照组相比升高 273.75%,在 60 h 降低至与对照相当水平,处理后 72 h 的血淋巴总量为 18.90 mg · g⁻¹,与对照相比降低 39.73%(图 2)。

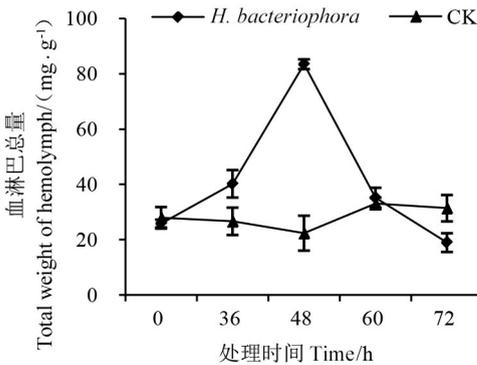


图 2 嗜菌异小杆线虫 H06 品系对红棕象甲幼虫血淋巴总量的影响

Fig.2 Effects of *H. bacteriophora* H06 strain on total weight of hemolymph of *R. ferrugineus* larvae

2.3 红棕象甲幼虫血淋巴酯酶活性的测定

经嗜菌异小杆线虫 H06 品系处理后,红棕象甲血淋巴酯酶活性短期内(0~36 h)升高,处理后 36 h 的酯酶活性升高 11.11%,之后逐渐下降,处理后 60 和 72 h 的血淋巴酯酶活性与对照相比分别降低 10.18%和 53.36%(图 3)。

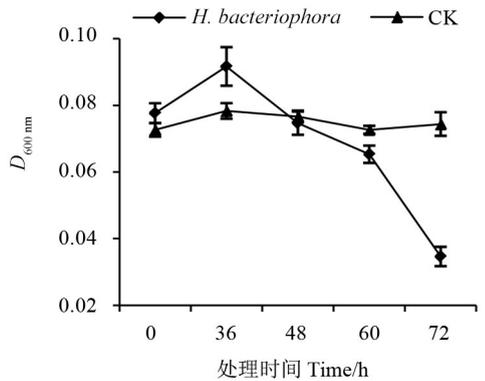


图 3 嗜菌异小杆线虫 H06 品系对红棕象甲幼虫血淋巴酯酶活性的影响

Fig.2 Effects of *H. bacteriophora* H06 strain on esterase in hemolymph of *R. ferrugineus* larvae

2.4 红棕象甲幼虫血淋巴蛋白含量的测定

经嗜菌异小杆线虫 H06 品系处理后,红棕象甲幼虫血淋巴蛋白含量与对照相比呈现下降的趋势

(图4)。处理后 48~60 h 呈现一个短暂的回升,之后又迅速下降,其中在处理后 72 h,血淋巴的蛋白含量与对照相比下降 74.96%。

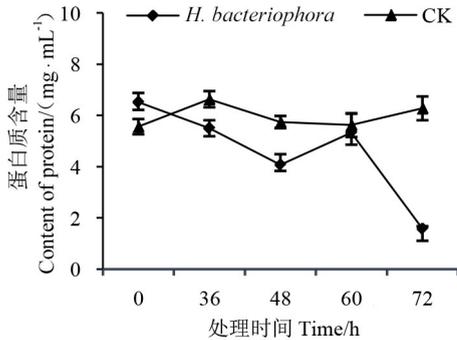


图4 嗜菌异小杆线虫 H06 品系对红棕象甲幼虫血淋巴蛋白含量影响

Fig.4 Effects of *H. bacteriophora* H06 strain on protein content in haemolymph of *R. ferrugineus* larvae

3 讨论

昆虫不同虫态体内所含营养物质不同,如紫棕象甲 *Rhynchophorus phoenicis* (Fabricius) 高龄幼虫体内蛋白含量达 10.51%,而成虫蛋白含量为 8.43% (Omotoso & Adedire, 2007)。EPNs 侵入虫体后需取食虫体内营养物质才可完成增殖进而杀死寄主,寄主的龄期、虫态及体内激素分泌和免疫调节等都会影响线虫的寄生效果(刘勇, 2020)。本研究中,嗜菌异小杆线虫 H06 品系对红棕象甲卵的毒力水平显著高于其他虫态,其次为幼虫和蛹,而对成虫的毒力水平最低,这可能与红棕象甲各虫态体内的营养物质差异有关。红棕象甲卵个体较小,仅需较少线虫个体即可达到对其致死的效果,同时 EPNs 在寄主体内会释放共生细菌引起细胞毒性,破坏免疫系统导致寄主死亡(Kaya & Gaugler, 1993; Park & Kim, 2000),线虫通过卵孔进入后,不仅取食卵内营养物质,且通过共生细菌破坏卵内细胞的分裂造成卵死亡;幼虫和蛹体内富含脂肪和蛋白质等营养物质(Khanittha *et al.*, 2020, 2022),虽可为线虫提供繁殖所需营养,但体内的酯滴和蛋白又是虫体免疫的重要物质(葛君等, 2010),对于缓解线虫内生细菌对寄主的伤害起到了一定作用。同时,本研究供试的 8 龄幼虫和蛹个体相对较大,嗜菌异小杆线虫 H06 品系需在虫体内增殖到一定数量才能对其起到致死效果;而成虫表皮甲壳致密坚硬且体内营养物质低于其他虫态,不利于 EPNs 侵染。

EPNs 是昆虫专化寄生性天敌(丛斌等, 1999),

可通过寄主孔口、伤口等部位进入血腔后释放细菌(Poina & Thomas, 1996),使寄主血淋巴表现出明显的病理学变化(孙昊雨等, 2012),损坏寄主的免疫系统并最终导致寄主死亡。昆虫血淋巴中含有昆虫生理活性所需的一切代谢物质,对血淋巴成分和功能的干扰必然会影响其正常的代谢功能。在本研究中,经嗜菌异小杆线虫 H06 品系处理后,血淋巴总量前期迅速升高,而之后又降低,此趋势与丁晓帆等(2005)的研究相似,可能是由于在线虫侵染前期寄主防御系统开始起作用,血细胞开始大量分裂导致血淋巴总量急剧升高,之后随着病原线虫共生菌急剧增殖,红棕象甲血细胞快速崩解致使后期血淋巴总量减低。

酯酶广泛存在于昆虫体内,起着生化调节、神经传导及解毒代谢等作用(陈长琨, 1993; 丛斌等, 1999)。肖猛(2000)和丁晓帆等(2005)采用 EPNs 接种家蚕 *Bombyx mori* L. 和大蜡螟 *Galleria mellonella* (L.), 均发现在供试时间内(0~24 h)血淋巴酯酶活性持续升高。本研究中红棕象甲受 EPNs 侵染后,血淋巴酯酶活性呈现前期(0~36 h)升高后期(36~72 h)降低的趋势。肖猛等(2000)认为,受线虫侵染后酯酶活性升高是由于对酯类物质分解增多和分解性酶活性的增强;在本研究后期出现的酯酶活性逐渐降低情况,笔者认为可能是由于在线虫侵染后期,随着 EPNs 和共生细菌在红棕象甲体内增殖,血淋巴内脂肪等物质被大量消耗,酯酶活性无法满足免疫需求,导致酯酶活性逐渐降低。

昆虫血淋巴蛋白与体内代谢、抗药性及免疫调节等功能密切相关,血蝉雌蝉受嗜菌异小杆线虫 E67 品系感染 12 h 后其血淋巴蛋白出现升高,在 48 h 后又出现显著降低(高志华等, 2006)。孙昊雨等(2014)研究表明,蛴螬感染嗜菌异小杆线虫沧州品系后 20 h 内,血淋巴蛋白含量大幅度增加,随后急剧降低,感染线虫 28 h 后显著低于同时间的对照($P < 0.05$)。本研究中,嗜菌异小杆线虫 H06 品系侵染后,红棕象甲血淋巴蛋白含量呈现持续降低的趋势,虽在处理 60 h 出现短暂的回升,但之后仍迅速降低。线虫侵染红棕象甲后,会大量消耗寄主体内的蛋白进行繁殖导致蛋白含量降低,但在 60 h 出现短暂回升的具体原因还有待进一步阐明。

参考文献

- 陈钧辉, 陶力, 李俊, 朱婉华, 袁玉菀, 2003. 生物化学实验. 北京: 科学出版社.
- 陈长混, 1993. 昆虫生理生化实验. 北京: 农业出版社.
- 丛斌, 刘维志, 杨怀文, 1999. 昆虫病原线虫研究和利用的历史、现状与展望. 沈阳农业大学学报, 30(3): 343-353.
- 丁晓帆, 林茂松, 刘亮山, 2005. 几种昆虫病原线虫对大蜡螟幼虫血淋巴及其能源物质含量的影响. 南京农业大学学报, 28(3): 43-47.
- 高志华, 杨小龙, 刘敬泽, 简恒, 2006. 长角血蛭雌蛭感染嗜菌异小杆线虫后血淋巴的变化. 昆虫学报, 49(1): 34-37.
- 葛君, 李兵, 沈卫德, 2010. 昆虫脂肪体与抗药性的关系研究现状与分析. 江苏农业科学 (6): 183-185.
- 胡美英, 钟国华, 林进添, 孙之潭, 2002. 闹羊花素-III 对昆虫血淋巴能源物质含量的影响. 华中农业大学学报, 21(4): 338-342.
- 黄剑, 吴文君, 2004. 利用 EXCEL 快速进行毒力测定中的致死中量计算和卡方检验. 昆虫知识, 41(6): 594-598.
- 刘奇志, 赵映霞, 严毓骅, 王玉柱, ITAMAR G, 2022. 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(3): 65-69.
- 马子龙, 覃伟权, 李磊, 黄山春, 魏娟, 阎伟, 2012. 红棕象甲幼虫的半人工饲料: CN101703172B. [2022-07-09].
- 孙昊雨, 李克斌, 席景会, 尹姣, 曹雅忠, 2012. 昆虫病原线虫侵染对宿主血淋巴免疫系统的影响//中国植物保护学会成立 50 周年庆祝大会暨 2012 年学术年会论文集. 北京: 中国植物保护学会: 128-132.
- 孙昊雨, 刘树森, 席景会, 田雷雷, 刘春琴, 尹姣, 曹雅忠, 李克斌, 2014. 蛴螬感染嗜菌异小杆线虫后酶活性和能源物质含量变化. 中国生物防治学报, 30(1): 65-72.
- 肖猛, 2000. 昆虫病原线虫侵染鳞翅目幼虫的血淋巴病理学. 中国生物防治, 16(3): 114-117.
- 钟宝珠, 吕朝军, 李朝绪, 覃伟权, 2020a. 嗜菌异小杆线虫 H06 品系对红棕象甲解毒酶活性影响. 中国植保导刊, 40(10): 5-8, 15.
- 钟宝珠, 吕朝军, 李朝绪, 阎伟, 黄山春, 覃伟权, 2020b. 嗜菌异小杆线虫 H06 品系对红棕象甲幼虫的室内致死能力测定. 热带作物学报, 41(1): 2292-2296.
- AHMED R, FREED S, 2021. Virulence of *Beauveria bassiana* Balsamo to red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) (Coleoptera: Curculionidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31(1): 77.
- AHMED R, FREED S, NAEEM A, AKMAL M, 2022. Lethal and trans-generational effects of *Metarhizium anisopliae* on red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*, using age-stage, two-sex life table. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 25(3): 101946.
- ALMASOUDI N M, ASIRY K A, ABO E K A M, 2022. Isolation, identification and efficacy of three bacterial isolates against the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) (Coleoptera: Curculionidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 32(1): 52.
- AQSA A, 2020. The compatibility of single and combined applications of the entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis indica* with imidacloprid against red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliv.). *Asian Journal of Agriculture Biology*, 8(3): 315-322.
- CELI M, RUSSO D, VAZZANA M, ARIZZA V, MANACHINI B, 2022. Does *Bacillus thuringiensis* affect the stress and immune responses of *Rhynchophorus ferrugineus* larvae, females, and males in the same way? *Insects*, 13(5): 437.
- CHAKRAVARTHY A K, CHANDRASHEKHARAI AH M, KANDAKOOR SUBHASH B, NAGARAJ D N, 2014. Efficacy of aggregation pheromone in trapping red palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus* Olivier) and rhinoceros beetle (*Oryctes rhinoceros* Linn.) from infested coconut palms. *Journal of Environmental Biology*, 35(3): 479-484.
- ELAWAD S A, MOUSA S A, SHAHDAD A S, ALAWAASH S A, ALAMIRI A M, 2007. Efficacy of entomopathogenic nematodes against red palm weevil in UAE. *Acta Horticulturae*, 736: 415-420.
- GOZEL U, GOZEL C, YURT C, INCI D, 2015. Efficacy of entomopathogenic nematodes on the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) (Coleoptera: Curculionidae) larvae. *International Journal of Bioassay*, 4: 4436-4439.
- GRIFFIN C T, 2012. Perspectives on the behavior of entomopathogenic nematodes from dispersal to reproduction: traits contributing to nematode fitness and biocontrol efficacy. *Journal of Entomology*, 44: 177-184.
- KAYA H K, GAUGLER R, 1993. Nematodes. *Annual Review of Entomology*, 38: 181-206.
- KHANITTHA C, MANAT C, WORAWAN P, 2020. Farm-raised sago palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus*) larvae: potential and challenges for promising source of nutrients. *Journal of Food Composition and Analysis*, 92: 103542.
- KHANITTHA C, WORAWAN P, ATIKORN P, NATTHAPORN P, CHEONG L Z, MANAT C, 2022. Improved long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids in sago palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus*) larvae by dietary fish

- oil supplementation. *Food Chemistry*, 393: 133354.
- LIZANNE M, NAIK T, MATHE V, 2016. Oviposition, antixenosis and antibiosis traits in coconut palm cultivars against red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*. *Indian Journal of Plant Protection*, 44(3): 380–382.
- MANZOOR E H E, HASHEM M, MOSTAFA Y S, ALAMRI S, 2022. Management of deleterious effect of *Fusarium oxysporum* associated with red palm weevil infestation of date palm trees. *Agriculture*, 12(1): 71.
- MANZOOR M, AHMAD J, SHARIF Z M, MAJEED D, KIRAN H, ALI M J, 2017. Comparative effectiveness of entomopathogenic nematodes against red palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus*) in Pakistan. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5: 756–760.
- NAZMI H F, MOHAMAD H H, IDRIS A G, AZLINA Z, SAMSUDIN A, ZAMRI Z, WAHIZATUL A A, JOHARI J, MAIZOM H, 2020. Physical and physiological monitoring on red palm weevil-infested oil palms. *Insects*, 11(7): 407.
- OMOTOSO O T, ADEDIRE C O, 2007. Nutrient composition, mineral content and the solubility of the proteins of palm weevil, *Rhynchophorus phoenicis* f. (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Zhejiang University Science*, 8(5): 318–322.
- PARK Y, KIM Y, 2020. Eicosanoids rescue *Spodoptera exigua* infected with *Xenorhabdus nematophilus*, the symbiotic bacteria to the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae*. *Journal of Insect Physiology*, 46: 1469–1476.
- POINA R G O, THOMAS G M, 1966. Significance of *Achromobacter nematophilus* Poinar and Thomas (Achromobacteraceae: Eubacteriales) in the development of the nematode, DD-136 (*Neoplectana* sp. Steinernematidae). *Parasitology*, 56(2): 385–390.
- SALEH M M E, ALHEJI M, 2003. Biological control of red palm weevil with entomopathogenic nematodes in the eastern province of Saudi Arabia. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 13: 55–59.
- WAN N K, SITI N A A H, MOHAMMAD S M, IZWAN B, ZULKEFLEY O, JOHARI J, 2022. A review of entomopathogenic nematodes as a biological control agent for red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Curculionidae). *Insects*, 13(3): 245.
- WHITE G F, 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science*, 66: 302–303.
- YASIN M, WAKIL W, QAYYUM M A, ALI S, SAJJAD A, AQUEEL M A, SHAKEEL M, 2021. Biocontrol potential of entomopathogenic fungi, nematodes and bacteria against *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31(1): 138.

(责任编辑:郭莹)