



陈桂梅, 冼继东, 颜珣. 昆虫病原线虫的耐寒性 [J]. 环境昆虫学报, 2020, 42 (6): 1394–1400.

昆虫病原线虫的耐寒性

陈桂梅^{1,2}, 冼继东¹, 颜珣^{2*}

(1. 华南农业大学, 广州 510640; 2. 广东省科学院动物研究所, 广东省动物保护与资源利用重点实验室, 广东省野生动物保护与利用公共实验室, 广州 510260)

摘要: 昆虫病原线虫已开发成生物农药, 广泛应用于多种地下及钻蛀害虫的安全防治。但昆虫病原线虫货架期较短, 对寒冷等极端环境的耐受性较差, 影响了其在生物防治方面的商业开发。本文介绍了寒区的昆虫病原线虫资源, 总结了昆虫病原线虫耐寒性的测定方法及增强方法、耐寒性差异的研究进展, 并对其耐寒的生理生化机制及分子机理进行了综述。研究昆虫病原线虫的耐寒性, 对于解释种群动态, 指导昆虫病原线虫的低温保存, 以及拓展其在生物防治方面的应用具有重要意义。

关键词: 昆虫病原线虫; 耐寒性; 生理生化机制; 分子机理

中图分类号: Q968.1; S476

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2020) 06-1394-07

Cold tolerance of entomopathogenic nematodes

CHEN Gui-Mei^{1,2}, XIAN Ji-Dong¹, YAN Xun^{2*} (1. South China Agricultural University, Guangzhou 510640, China; 2. Guangdong Key Laboratory of Animal Conservation and Resource Utilization, Guangdong Public Laboratory of Wild Animal Conservation and Utilization, Institute of Zoology, Guangdong Academy of Science, Guangzhou 510260, China)

Abstract: Entomopathogenic nematodes (EPNs) are biocontrol agents with high efficacy against insect pests and have been widely used to control different kinds of subterranean and boring pests. The short shelf life and the weak tolerance to extreme temperatures in the environment hindered the large-scale application of these beneficial nematodes in biological control. In the present paper, EPN resources in cold regions were summarized. The methods to evaluate and increase the cold tolerance of EPNs, and the difference in cold tolerance among different species and strains of EPNs are introduced. The research progress in physiological, chemical and molecular mechanism of cold tolerance is also reviewed. Research in cold tolerance of EPNs is important as it will help to explain the population dynamics and provide basis for the preservation of EPN germplasm resources, so as to explore the commercial use of EPNs.

Key words: Entomopathogenic nematodes; cold tolerance; physiological and chemical mechanism; molecular mechanism

昆虫病原线虫 (Entomopathogenic nematodes, EPNs) 主要包括斯氏线虫 *Steinernema* 和异小杆线虫 *Heterorhabditis* 两个属, 分属于斯氏线虫科 Steinernematidae 和异小杆线虫科 Heterorhabditidae。

昆虫病原线虫作为生物防治制剂在害虫防治中具有重要的研究价值和应用潜力 (Gaugler, 2002; Shapiro-Ilan *et al.*, 2002)。昆虫病原线虫能主动搜寻寄主害虫, 使用方便, 在土壤中有较好的生存

基金项目: 广东省自然科学基金 (2017A030313157); 广东省省级科技计划 (2019B030316018); 广东省科学院科技发展专项 (2018GDASCX-0107)

作者简介: 陈桂梅, 女, 1994年生, 硕士研究生, 主要研究方向为农药学, E-mail: 1002940316@qq.com

* 通讯作者 Author for correspondence: 颜珣, 女, 博士, 研究员, 主要研究方向为昆虫病原线虫、害虫生物防治, E-mail: yanxun@giabr.gd.cn

收稿日期 Received: 2020-07-10; 接受日期 Accepted: 2020-08-17

能力和扩散能力, 对环境安全, 基本上适用于所有的地面或空中喷洒装置; 昆虫病原线虫便于大量繁殖, 可通过寄主昆虫活体培养、单菌固体培养基培养和发酵罐培养等方法生产 (颜珣和韩日畴, 2016); 昆虫病原线虫还可以与化学农药合用, 提高害虫防治效果 (赵国玉等, 2013)。温度是影响昆虫病原线虫防治害虫效果的重要因素 (Bedding & Miller, 1982; Kung *et al.*, 1991; Grewal *et al.*, 1993), 在极端温度下, 昆虫病原线虫的活力受到较大影响。研究发现昆虫病原线虫可以通过进入脱水休眠状态来抵抗外部的恶劣环境 (颜珣和韩日畴, 2010), 但昆虫病原线虫耐寒性机理方面尚未研究清楚。本文综述了目前昆虫病原线虫耐寒性研究的进展, 以期对昆虫病原线虫耐寒性的研究工作提供参考。

1 寒区昆虫病原线虫资源

昆虫病原线虫种类繁多, 资源丰富, 遍及全球 (Poinar, 1990), 目前已鉴定的斯氏属线虫有 87 种, 异小杆属线虫有 24 种 (NCBI 数据库)。昆虫病原线虫的自然栖息地是土壤, 不同的昆虫病原线虫对栖息地的偏好不同, 生态环境也各不相同 (Hominick & Reid, 1996), 从森林、牧场、农田、花园等不同的生态系统中均能分离到昆虫病原线虫 (Hominick *et al.*, 1995; Hominick *et al.*, 1996), 这与特定栖息地能够更好地满足其生态位要求相关。有些种类能耐受寒冷温度, 如在冰岛附近火山土壤中发现的斯氏属线虫 *S. kraussei* 可在 4℃ 下存活并且其毒力不受影响 (Spiridonov *et al.*, 2004); 苏格兰牧场中发现的 *S. feltiae* (Boag *et al.*, 1992)、南澳大利亚布雷肯地区采集的 *H. bacteriophora* (Poinar, 1975) 及在苏联梁赞地区土壤中发现的 *S. anomali* (Kozodoi, 1984) 的最低致死温度分别为 -22℃、-19℃ 和 -14℃ (Brown & Gaugler, 1996)。

现已对黑龙江、辽宁、甘肃、新疆西北部等地区昆虫病原线虫资源进行调查, 我国寒区的主要昆虫病原线虫种类见表 1。*S. feltiae*, *H. bacteriophora*, *S. ceratophorum*, *H. megidis* 等线虫是优势品种。我国寒区丰富的昆虫病原线虫资源, 为在低温地区应用昆虫病原线虫防治农业重要害虫奠定了基础。

表 1 我国寒区昆虫病原线虫资源情况
Table 1 Resources of entomopathogenic nematodes in cold regions of China

种类 Apecies	地区 Area	文献 Literature
<i>H. bacteriophora</i> -HBN <i>H. bacteriophora</i> -ZT	黑龙江 Heilingjiang	李春杰等, 2011
<i>S. ceratophorum</i>	辽宁 Liaoning	Jian <i>et al.</i> , 1997
<i>S. feltiae</i> <i>S. bicornutum</i>	甘肃 Gansu	谷黎娜, 2008
<i>S. affin</i> <i>S. karil</i> <i>S. krusse</i> <i>H. brevicaudis</i> <i>H. megidis</i> <i>H. marelatu</i>	甘肃 Gansu	钱秀娟等, 2014
<i>S. riobrave</i> <i>H. zealandica</i>	凤城 Fengcheng 吉林 Jilin	万航宇, 2007
<i>H. bacteriophora</i> -SN	新疆伊犁 Xinjiang Yili	詹发强等, 2015
<i>S. litorale</i>	哈尔滨 Haerbin	吕洋等, 2014
<i>S. hebeiense</i> <i>S. longicaudum</i> <i>S. monticolum</i>	牡丹江 Mudanjiang 大庆 Daqing 锦州 Jinzhou	Ma <i>et al.</i> , 2013

2 昆虫病原线虫的耐寒性差异

大多数昆虫病原线虫具有中等的耐寒性, 当周围的环境开始慢慢结冰时, 线虫会跟着结冰, 对长时间的低温和冰冻有生理上的适应过程 (Ma *et al.*, 2013)。昆虫病原线虫耐寒性主要通过两种方法测定: (1) 过冷却点法: 一种是采用热电偶的方法, 将线虫缚在热电偶上, 然后以一定的速率开始降温, 当线虫体液结冰时, 由于潜热的释放, 虫体的温度会有一个反弹, 据此可得知线虫的过冷却点, 用该方法测得 *S. carpocapsae* 的过冷却温度为 -15℃ (Smith *et al.*, 2008); 另一种是运用统计学的方法, 观察在低温显微镜下线虫结冰情况来获得过冷却点 (戴素明等, 2006)。(2)

低温存活率测定法: 将线虫低温处理后, 常温恢复不小于 24 h, 通过统计活线虫数来得到低温存活率 (戴素明等, 2006; 王丽芳等, 2011)。低温存活率的测定, 可用于比较不同昆虫病原线虫的耐寒性差异。

昆虫病原线虫耐寒性的强弱与品种相关, 不同品种的昆虫病原线虫表现出对低温不同程度的耐受性。在相同冷冻条件 (6 次冻融后 25℃ 恢复 24 h) 下 *S. feltiae*、*S. anomali*、*H. bacteriophora* 的存活率分别为 92.78%、73.59% 和 55.33%, *S. feltiae* 比 *H. bacteriophora* 具有更高的抗冷冻性 (Brown & Gaugler, 1996)。对 *S. riobrave*、*S. carpocapsae* 和 *S. feltiae* 进行冷冻耐受性试验时发现, *S. carpocapsae* 的耐冻性最好 (Jagdale & Grewal, 2002)。不同昆虫病原线虫在 -5℃ 下冷冻处理 8 h 后, *H. megidis* 线虫的耐寒性明显高于 *S. feltiae*, *S. hebeiense*, *S. longicaudum* 和 *S. monticolum* 等线虫, *H. bacteriophora* 和 *S. carpocapsae* 也表现出良好的耐寒性, *H. indica* 则不耐寒, 这几种昆虫病原线虫耐寒性差异明显, 其中耐寒性高的 *H. megidis* 采自我国寒区吉林、黑龙江和辽宁三省 (Ma *et al.*, 2010; Ma *et al.*, 2013), 表明线虫对温度的适应性与其原始的地理位置及气候相关 (Molyneux, 1986; Griffin *et al.*, 1999)。*S. feltiae*、*H. bacteriophora*、*S. anomali* 等线虫可以通过不同的耐寒对策抵御低温, 使得它们可以在零度以下存活, 证实了这 3 种昆虫病原线虫均是能够适应寒冷的物种 (Grewal *et al.*, 1994; Brown & Gaugler, 1996; Ali & Wharton, 2013), 这 3 种昆虫病原线虫在我国的寒区黑龙江、甘肃等地均有被发现。

3 昆虫病原线虫耐寒性的增强

线虫能够耐受寒冷的程度一般取决于时间, 适当的预处理可以提高昆虫病原线虫的耐寒性。将 *S. carpocapsae* 和 *H. bacteriophora* 线虫分别在 22% 和 14% 的甘油中孵育, 于 0℃ 冷冻可以实现低温保护, 建立了这两种线虫的低温保存方法 (Popiel & Vasquez, 1991); 在相同的实验条件下, *H. bacteriophora* HBN 和 *H. bacteriophora* NJ 经过

25、10、4℃ 逐渐降温的预处理后放置 -4℃ 冷冻 5 d 后, *H. bacteriophora* NJ 的存活率为 83%, 显著高于直接冷冻的线虫存活率 (1.6%), 而 *H. bacteriophora* HBN 的存活率则可达 95.2%, 与直接冷冻的线虫存活率 (17.7%) 差异显著 (李春杰等, 2015)。

低温驯化可以提高昆虫病原线虫的低温存活率, 通过逐渐适应低温可提高耐寒性。*H. bacteriophora* 线虫经 25℃ → 15℃ → 10℃ → 5℃ 的逐步驯化后, 存活率从 25℃ 的未适应冷冻对照组的 38.06% ± 6.92% 显著提高到 5℃ 驯化后的 90.69% ± 1.82% (Brown & Gaugler, 1996); *S. feltiae* 线虫分别以快速冷冻和缓慢冷冻过夜 (-1℃) 处理后, 快速冷冻过夜的致死温度为 -7℃, 而缓慢冷冻过夜记录的致死温度为 -13℃ 且在 -12℃ 时还有超过 70% 的存活率 (Ali & Wharton, 2013); 从我国高寒地区分离得到的 *S. litorale* 线虫经 25℃ (2 d) → 10℃ (2 d) → 4℃ (2 d) 的阶段性降温驯化后, 与直接于 25、10、4℃ 分别降温 6 d 相比, 于 -20℃ 冷冻 36 h 后的存活率分别为 49.2%、0.9%、23.6%、20.0%, 经阶段性降温后线虫冷冻后的存活率显著高于直接降温, 阶段性降温提高了 *S. litorale* 的耐寒能力, 而对侵染力无影响, 有助于 *S. litorale* 的长期储存 (张旭霞, 2018)。*S. bicornutum* 和 *H. zealandica* 两种线虫经过 25℃ → 20℃ → 15℃ → 10℃ 的逐渐降温后, 在 10℃ 下, *S. bicornutum* 与未经低温驯化的线虫相比感染率提高了 14.3%, *H. zealandica* 提高了 12.1%, 表明这两种线虫均通过低温驯化提高了存活率 (万航宇, 2007)。

4 昆虫病原线虫耐寒生理生化机制

昆虫病原线虫在抵御寒冷的过程中, 体内的生理生化反应发生了一系列变化。目前较为明确的是海藻糖与线虫耐寒性增强之间的关系 (Ogura & Nakashima, 1997; Grewal & Jagdale, 2002)。*H. bacteriophora* 体内海藻糖的积累可以提高其在高温及寒冷环境下的存活率, 还可以同时保护由此引起的蒸发或结冰所造成的干燥损伤 (Jagdale *et al.*, 2005)。在 *S. feltiae*、*S. carpocapsae*、*S.*

riobrave 这 3 种斯氏线虫中发现, 冷热驯化都会导致线虫体内海藻糖含量的增加, 但海藻糖的含量因物种和温度的不同而不同, *S. feltiae* 仅在 5℃ 适应过程中积累海藻糖, 而 *S. carpocapsae* 和 *S. riobrave* 在 5℃、10℃、15℃ 都会积累海藻糖; 与其他温度相比, *S. feltiae* 在 5℃ 海藻糖的积累达到最高, 在 *S. carpocapsae* 中为 10℃, 在 *S. riobrave* 中为 15℃ (Jagdale & Grewal, 2003)。研究耐寒线虫 *S. feltiae* 冻结结冰的机理时发现, *S. feltiae* 在外界水结冰时, 会发生冷冻保护性脱水, 产生海藻糖、甘油、蔗糖等冷冻保护剂, 提高体内的渗透压, 从而降低体液的熔点 (Ali & Wharton, 2014, 2015); 此外还在 *S. feltiae* 虫体抽提物中发现能够抑制重结晶的冰活性物质, 该物质热稳定性相对较高, 加热后仍保留了抑制重结晶的活性。该物质有典型的六角晶体结构, 具有弱的冰核活性, 浓度较低, 可能与通过抑制重结晶使线虫在冷冻中存活有关 (Ali & Wharton, 2016)。

改变磷脂和储存脂质中饱和及不饱和脂肪酸的比例、改变一些重要代谢酶的特异活性、以及合成合适的同工酶来适应环境温度的变化, 是变温的过程中普遍存在的现象 (Grewal *et al.*, 2006)。研究发现, 随着培养温度的降低, *S. feltiae* 和 *S. carpocapsae* 的总脂质和磷脂的不饱和指数升高 (Jagdale *et al.*, 1997)。低温下总脂不饱和度的增加是由多不饱和脂肪酸比例的增加和十六烷酸、十八酸等饱和脂肪酸比例的降低引起的 (Jagdale & Gordon, 1997a)。昆虫病原线虫体内含有高水平的中性脂, 它们极有可能被用作能量底物 (Selvan *et al.*, 1993)。昆虫病原线虫是兼性好氧线虫, 有氧条件下依赖于三羧酸循环和糖酵解, 厌氧条件下与富马酸还原酶途径相关 (Shih *et al.*, 1997)。Jagdale *et al.* (1997b) 对 3 种斯氏线虫 (*S. feltiae*、*S. carpocapsae*、*S. riobrave*) 中葡萄糖-6-磷酸脱氢酶和己糖激酶活性的适应性影响研究中发现, 这两种酶在低温环境下明显比高温环境中活力特异性更高, 这两种酶的最低 K_m 值 (Michaelis-Menten 常数) 都出现在低温诱导的线虫中, 表明线虫可能会改变某些代谢酶的动力学特性, 以适应其栖息地的季节性温度变化。昆虫病原线虫有合成一些代谢酶的新同工酶的能力,

如苹果酸脱氢酶 (MDH)、甘露糖-6-磷酸异构酶 (MPI) 和磷酸葡萄糖突变酶 (PGM) 等, 有报道表明 *S. feltiae* 和 *S. carpocapsae* 这两种线虫都可以合成同工酶 (Jagdale *et al.*, 1998), 而这些酶是适应环境温度季节变化所必需的。

5 昆虫病原线虫耐寒分子机理

昆虫病原线虫耐寒的分子机制尚不明确, 随着多种线虫基因组测序的完成, 热休克蛋白 (Heat shock proteins, *hsp*)、脂肪酸脱氢酶 (Fatty acid desaturase)、谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione peroxidase)、超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, *sod*) 等多个基因被证实在昆虫病原线虫耐受环境压力中起作用 (Hashmi *et al.*, 1998; Yaari *et al.*, 2016)。将秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 的 *hsp70* 编码基因转移到 *H. bacteriophora* 中, 将原始 *H. bacteriophora* 和转基因 *H. bacteriophora* 同时暴露于亚致死温度 (35℃) 热处理 2 h, 再于正常致死温度 (40℃) 热处理 1 h 后, 转 *hsp70* 基因的 *H. bacteriophora* 存活率高于 90%, 而原始 *H. bacteriophora* 的存活率仅为 2% ~ 3%, 表明 HSP70 增强了 *H. bacteriophora* 的耐热性 (Hashmi *et al.*, 1998)。热休克蛋白与昆虫病原线虫的耐寒性是否直接相关有待进一步研究。

对 *H. bacteriophora* 的 cDNA 文库进行比较分析时发现至少存在 HSP-4、HSP-6、SOD-4 等 3 个耐温蛋白, 在其存活中发挥作用 (Sandhu & Jagdale, 2006); Yaari *et al.* (2016) 分析了干燥耐性不同的 *S. riobrave*、*S. feltiae* Gvulot 和 *S. feltiae* Carmiel 3 种线虫的转录组, 发现了许多差异表达的抗性相关基因和代谢途径; 在对昆虫病原线虫寄生寄主害虫的机制研究中, 通过转录组分析在 *S. carpocapsae* 中发现抗氧化剂和热休克蛋白 (Hao *et al.*, 2010), 在 *H. bacteriophora* 中发现了许多参与蛋白水解、酸性磷酸酶活性以及与核糖体成分和翻译伸长因子相关的基因序列 (Vadnal *et al.*, 2017), 这些研究为昆虫病原线虫的固有免疫力和应激反应、以及对昆虫病原线虫耐寒功能基因的研发提供了依据, 为进一步探索昆虫病原线虫耐寒的分子机制奠定了基础。

6 结语

昆虫病原线虫作为活体生防制剂, 对寒冷的低耐受性是限制其在生物防治中广泛应用的重要因素 (Georgis, 2002)。昆虫病原线虫耐寒的分子机理尚不名明确, 研究昆虫病原线虫的耐寒性, 了解昆虫病原线虫耐寒的分子机制, 对于解释种群动态, 指导昆虫病原线虫的低温保存, 以及拓展其在生物防治方面的应用具有重要意义。分子技术的新进展, 线虫基因组测序的完成, 以及生物信息学和基因组技术的飞速发展, 为昆虫病原线虫耐寒性分子机理的研究取得更大成果提供了有力的平台。

参考文献 (References)

- Ali F, Wharton DA. Cold tolerance abilities of two entomopathogenic nematodes, *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora* [J]. *Cryobiology*, 2013, 66 (1): 24–29.
- Ali F, Wharton DA. Intracellular freezing in the infective juveniles of *Steinernema feltiae*: An entomopathogenic nematode [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9 (4): e94179.
- Ali F, Wharton DA. Infective juveniles of the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae* produce cryoprotectants in response to freezing and cold acclimation [J]. *PLoS ONE*, 2015, 10 (10): e0141810.
- Ali F, Wharton DA. Ice-active substances from the infective juveniles of the freeze tolerant entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae* [J]. *PLoS ONE*, 2016, 11 (5): e0156502.
- Bedding RA, Miller LA. Use of the nematode *Heterorhabditis heliothidis* to control blackvine weevils, *Otiorhynchus sulcatus*, on potted plants [J]. *Annals of Applied Biology*, 1982, 99: 211–216.
- Boag B, Neilson R, Gordon SC. Distribution and prevalence of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* in Scotland [J]. *Annals of Applied Biology*, 2008, 121 (2): 355–360.
- Brown IM, Gaugler R. Cold tolerance of Steinernematid and Heterorhabditid nematodes [J]. *Journal of Thermal Biology*, 1996, 21 (2): 115–121.
- Dai SM, Cheng XY, Xiao QM, et al. Research progress of nematodes cold tolerance [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26 (11): 3885–3890. [戴素明, 成新跃, 肖启明, 等. 线虫耐寒性研究进展 [J]. *生态学报*, 2006, 26 (11): 3885–3890]
- Gaugler R. Entomopathogenic Nematology [M]. Walingford, Oxfordshire, U. K.: CABL Publishing, 400.
- Georgis R, Gaugler R. The Biosys Experiment: An Insider's Perspective [M]. CABI Publishing, Oxon, UK, 2002: 357–372.
- Grewal PS, Bornstein Forst S, Burnell AM. Physiological, genetic, and molecular mechanisms of chemoreception, thermobiosis, and anhydrobiosis in entomopathogenic nematodes [J]. *Biological Control*, 2006, 38 (1): 0–65.
- Grewal PS, Gaugler R, Kaya HK. Infectivity of the entomopathogenic nematode *Steinernema scapterisci* (Nematoda: Steinernematidae) [J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1993, 62 (1): 22–28.
- Grewal PS, Jagdale GB. Enhanced trehalose accumulation and desiccation survival of entomopathogenic nematodes through cold preacclimation [J]. *Biocontrol Science and Technology*, 2002, 12 (5): 533–545.
- Grewal PS, Selvan S, Gaugler R. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: Niche breadth for infection, establishment, and reproduction [J]. *Journal of Thermal Biology*, 1994, 19 (4): 245–253.
- Griffin C, Finnegan M, O' Regan M. Effect of salt and temperature stresses on survival and infectivity of *Heterorhabditis* spp. IJs [J]. *Nematology*, 1999, 1 (1): 69–78.
- Gu LN. Study on the Biological Characteristics of Entomogenous Nematode Fauna and Superior Strains in Gansu Province [D]. Gansu Agricultural University, 2008. [谷黎娜. 甘肃省昆虫病原线虫区系及优良品系生物学特性研究 [D]. 甘肃农业大学, 2008]
- Hao YJ, Montiel R, Abubucker S. Transcripts analysis of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* induced *in vitro* with insect haemolymph [J]. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 2010, 169 (2): 79–86.
- Hashmi S, Hashmi G, Glazer I, et al. Thermal response of *Heterorhabditis bacteriophora* transformed with the *Caenorhabditis elegans* hsp70 encoding gene [J]. *Journal of Experimental Zoology*, 1998, 281 (3): 164–170.
- Hominick WM, Reid AP, Bohan DA. Entomopathogenic nematodes: Biodiversity, geographical distribution and the convention on biological diversity [J]. *Biocontrol Science and Technology*, 1996, 6 (3): 317–332.
- Hominick WM, Reid AP, Briscoe BR. Prevalence and habitat specificity of Steinernematid and Heterorhabditid nematodes isolated during soil surveys of the UK and the Netherlands [J]. *Journal of Helminthology*, 1995, 69 (1): 27–32.
- Jagdale GB, Gordon R. Effect of temperature on the activities of glucose-6-phosphate dehydrogenase and hexokinase in entomopathogenic nematodes (Nematoda: Steinernematidae) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1997b, 118: 1151–1156.
- Jagdale GB, Gordon R. Effect of temperature on the composition of fatty acids in total lipids and phospholipids of entomopathogenic nematodes [J]. *Journal of Thermal Biology*, 1997a, 22 (4–5): 245–251.
- Jagdale GB, Gordon R. Variable expression of isozymes in

- entomopathogenic nematodes following laboratory recycling [J]. *Fundamental and Applied Nematology*, 1998, 21 (2): 147–155.
- Jagdale GB, Grewal PS, Salminen S. Both heat-shock and cold-shock influence trehalose metabolism in an entomopathogenic nematode [J]. *Journal of Parasitology*, 2005, 91: 988–994.
- Jagdale GB, Grewal PS. Acclimation of entomopathogenic nematodes to novel temperatures: Trehalose accumulation and the acquisition of thermotolerance [J]. *International Journal for Parasitology*, 2003, 33 (2): 145–152.
- Jian H, Reid AP, Hunt DJ. *Steinernema ceratophorum* n. sp. (Nematoda: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from north-east China [J]. *Systematic Parasitology*, 1997, 37 (2): 115–125.
- Kozdoi EM. New entomopathogenic nematode *Neoaplectana anomali* sp. n. (Rhabditida, Steinernematidae) and observations of its biology [J]. *Zoologicheskii Zhurnal*, 1984, 63 (1): 1605–1609.
- Kung SP, Gaugler R, Kaya HK. Effects of soil temperature, moisture, and relative humidity on entomopathogenic nematode persistence [J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1991, 57 (2): 242–249.
- Li CJ, Tan GY, Wang Y. Occurrence of entomopathogenic nematodes resources and overwintering conditions in Heilongjiang Province [J]. *Plant Protection*, 2011, 37 (2): 120–123. [李春杰, 谭国忠, 王义. 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 XJ, Wang LF, Pan FJ, et al. Effects of pretreatment method on freezing survival of entomopathogenic nematodes [J]. *Journal of Northwest A & F University (Nat. Sci. Ed.)*, 2015, 43 (2): 198–202. [李春杰, 王丽芳, 潘凤娟, 等. 预处理方式对昆虫病原线虫冷冻存活的影响 [J]. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 2015, 43 (2): 198–202]
- Liu SS. Study on Screening and Identification of Entomopathogenic Nematodes and Their Virulence to White Grubs [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2009. [刘树森. 昆虫病原线虫的筛选鉴定及其对蛴螬的致病性研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2009]
- Lv Y, Han LL, Zhao KJ. Isolation and identification of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria from Harbin (Northeast China) and infectivity of entomopathogenic nematodes in low temperature [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2014, 30 (4): 558–563. [吕洋, 韩岚岚, 赵奎军, 等. 哈尔滨两种斯氏线虫及其共生菌的分离鉴定和低温侵染力分析 [J]. 中国生物防治学报, 2014, 30 (4): 558–563]
- Ma J, Chen SL, 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.
- Ma J, Chen SL, Zou YX. Natural occurrence of entomopathogenic nematodes in North China [J]. *Russian Journal of Nematology*, 2010, 18 (2): 117–126.
- Molyneux AS. *Heterorhabditis* spp. and *Steinernema* (= *Neoaplectana*) spp.: Temperature, and aspects of behavior and infectivity [J]. *Experimental Parasitology*, 1986, 62 (2): 169–180.
- Ogura N, Nakashima T. Cold tolerance and preconditioning of infective juveniles of *Steinernema kushidai* (Nematoda: Steinernematidae) [J]. *Nematologica*, 1997, 43 (1): 107–115.
- Poinar GO. Description and biology of a new Insect parasitic rhabditoid, *Heterorhabditis bacteriophora* n. gen. n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae n. fam.) [J]. *Nematologica*, 1975, 21 (4): 463–470.
- Poinar GO. Taxonomy and Biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae [M]. Boca Raton: CRC Press, 1990: 23–62.
- Popiel I, Vasquez EM. Cryopreservation of *Steinernema carpocapsae* and *Heterorhabditis bacteriophora* [J]. *Journal of Nematology*, 1991, 23 (4): 432–437.
- Qian XJ, Gu LN, Xing YF, et al. Occurrence of entomopathogenic nematodes in Gansu Province [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2014, 22 (3): 593–599. [钱秀娟, 谷黎娜, 邢玉芳, 等. 甘肃省昆虫病原线虫区系研究 [J]. 草地学报, 2014, 22 (3): 593–599]
- Sandhu SK, Jagdale GB. Comparative analysis of the expressed genome of the infective juvenile entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis bacteriophora* [J]. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 2006, 145 (2): 239–244.
- Selvan S, Gaugler R. Water content and fatty acid composition of infective juvenile entomopathogenic nematodes during storage [J]. *Journal of Parasitology*, 1993, 79 (4): 510–516.
- Shapiro – Ilan DI, Gouge DH. Factors affecting commercial success: Case studies in cotton, turf and citrus. In: Gaugler R, Ed. *Entomopathogenic Nematology* [C]. 2002, CABI, 333–356.
- Shih JJM, Platzer EG, Thompson SN. Characterization of key glycolytic and oxidative enzymes in *Steinernema carpocapsae* [J]. *Journal of Nematology*, 1997, 28 (4): 431–441.
- Smith T, Wharton DA, Marshall CJ. Cold tolerance of an Antarctic nematode that survives intracellular freezing: Comparisons with other nematode species [J]. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 2008, 178 (1): 93–100.
- Spiridonov S, Lyons E, Wilson M. *Steinernema kraussei* (Rhabditida, Steinernematidae) from Iceland [J]. *Comparative Parasitology*, 2004, 71 (2): 215–220.
- Vadnal J, Ratnappan R, Keaney M. Identification of candidate infection genes from the model entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* [J]. *BMC Genomics*, 2017, 18: 8.
- Wan HY. Classification of Entomopathogenic Nematodes and Low-temperature Induction and Low-temperature Characteristics of Two Insect Pathogenic Nematodes: *S. bicornutum* and *H. zealandica*

- [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2007. [万航宇. 昆虫病原线虫分类与 *S. bicornutum*, *H. zealandica* 两种昆虫病原线虫低温诱导与适低温特性研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2007]
- Wang LF, Xu YL, Li CJ. The research of entomopathogenic nematode cold tolerance [J]. *System Science and Comprehensive Studies in Agriculture*, 2011, 27 (4): 490–494. [王丽芳, 许艳丽, 李春杰. 昆虫病原线虫耐寒性研究进展 [J]. 农业系统科学与综合研究, 2011, 27 (4): 490–494]
- Wharton DA, Surrey MR. Cold tolerance mechanisms of the infective larvae of the insect parasitic nematode *Heterorhabditis zealandica* Poinar [J]. *Cryo Letters*, 1994, 15: 353–360.
- Wharton DA. Freezing survival and cryoprotective dehydration as cold tolerance mechanisms in the Antarctic nematode *Panagrolaimus davidi* [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2003, 206 (2): 215–221.
- Wu WD, Yin J, Cao ZY, *et al.* Entomopathogenic nematodes and their application in China [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2014, 30 (6): 817–822. [吴文丹, 尹姣, 曹雅忠, 等. 我国昆虫病原线虫的研究与应用现状 [J]. 中国生物防治学报, 2014, 30 (6): 817–822]
- Yaari M, Doron-Faigenboim A, Koltai H. Transcriptome analysis of stress tolerance in entomopathogenic nematodes of the genus *Steinernema* [J]. *International Journal for Parasitology*, 2016, 46 (2): 83–95.
- Yan X, Han RC. Anhydrobiosis of entomopathogenic nematodes [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2010, 26 (1): 90–95. [颜珣, 韩日畴. 昆虫病原线虫的脱水休眠 [J]. 中国生物防治, 2010, 26 (1): 90–95]
- Yan X, Han RC. Production technology of the bio-insecticides: Entomopathogenic nematodes [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2016, 38 (5): 1044–1051. [颜珣, 韩日畴. 生物杀虫剂-昆虫病原线虫的培养技术 [J]. 环境昆虫学报, 2016, 38 (5): 1044–1051]
- Zhan FQ, BuKa OEN, Hou M, *et al.* Preliminary identification of entomopathogenic nematodes (*Heterorhabditis bacteriophora* strain Nileke) and its symbiotic bacteria in Xinjiang [J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2015, 52 (2): 244–251. [詹发强, 布卡·欧尔娜, 侯敏. 新疆嗜菌异小杆线虫及其共生细菌的初步鉴定研究 [J]. 新疆农业科学, 2015, 52 (2): 244–251]
- Zhang XX. Cold Acclimation of *Steinernema Scarabaei* and Insecticidal and Antibacterial Activities of Their Symbiotic Bacteria [D]. Heilongjiang: Northeast Agricultural University, 2018. [张旭霞. 斯式线虫低温驯化及其共生细菌的杀虫抑菌活性研究 [D]. 黑龙江: 东北农业大学, 2018]
- Zhao GY, Guo WX, Yan X, *et al.* Effects of chemical insecticides used in chive fields on the survival and infectivity of entomopathogenic nematodes [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2013, 35 (4): 458–465. [赵国玉, 郭文秀, 颜珣, 等. 韭菜田中常用化学农药对昆虫病原线虫存活及感染力的影响 [J]. 环境昆虫学报, 2013, 35 (4): 458–465]