



蟲生線蟲 (*Steinernema taiwanensis* strain T39) 對斜紋夜蛾及甜菜夜蛾 (鱗翅目：夜蛾科) 致病力之比較

曾慶慈、侯豐男、唐立正*

國立中興大學昆蟲學系 40227 台中市南區興大路 145 號

* 通訊作者 email: lctang@dragon.nchu.edu.tw

收件日期：2017 年 2 月 12 日 接受日期：2017 年 9 月 18 日 線上刊登日期：2017 年 11 月 3 日

摘要

本試驗以生物檢定研究台灣本地產蟲生線蟲 (*Steinernema taiwanensis* strain T39) 對斜紋夜蛾 (*Spodoptera litura* Fabricius) 及甜菜夜蛾 (*Spodoptera exigua* Hübner) 之致病力。溫度對致病力之測試結果顯示，雖因昆蟲種類不同導致其表現略有差異，然而 *S. taiwanensis* strain T39 適宜溫度範圍介於 25~35°C，在 20°C 以下則無死亡率發生。不同濃度之 *S. taiwanensis* strain T39 懸浮液接種斜紋夜蛾幼蟲，結果顯示五齡或六齡幼蟲對含防腐劑或未含防腐劑飼料處理組間之最終寄主死亡率均無顯著差異，然在飼料內未含防腐劑者所得之 LT₅₀ 皆較含防腐劑組為低，且線蟲對六齡幼蟲之致病力較五齡幼蟲為佳。接種濃度 20 IJs/mL 時，取食未含防腐劑或含防腐劑飼料之斜紋夜蛾五齡幼蟲，其半致死時間 (LT₅₀) 分別為 37.9 及 39.9 h；接種濃度為 25 IJs/mL 者之六齡幼蟲 LT₅₀ 則為 27.0 及 28.4 h。以甜菜夜蛾供測，則在同樣處理下接種濃度 20 IJs/mL 之五齡幼蟲之最終死亡率與斜紋夜蛾之試驗結果間無顯著差異，然其 LT₅₀ 為 27.2 h 明顯較短，顯示 *S. taiwanensis* strain T39 對甜菜夜蛾之致死速率較斜紋夜蛾為快。綜合上述試驗結果證實，*S. taiwanensis* strain T39 對斜紋夜蛾及甜菜夜蛾具有殺蟲效力。

關鍵詞：蟲生線蟲、斜紋夜蛾、甜菜夜蛾、致病力。

前言

蟲生線蟲 (entomopathogenic nematodes, EPNs) 為對昆蟲具有致病力之土棲性線蟲，應用於生物防治中者多屬 Steinernematidae 及 Heterorhabditidae 兩科，主要的 EPNs 為 *Steinernema*、*Neosteinernema* 及 *Heterohabditis* 等三屬，分類地位為 Nematoda 門、Chromadoria 紹、Rhabditida 目 (Poinar, 1979; Nguyen and Smart, 1994; De Ley, 2006)，其生活史中唯一能於

昆蟲寄主體外生存、具自由活動、尋找並侵染寄主能力之齡期為幼蟲期中之第三齡幼蟲，一般稱為侵染期幼蟲 (infective juvenile, IJ)。

IJs 之體表包覆有二齡幼蟲之表皮，能保護其免於外界環境壓力，如乾燥、寒冷，甚至天敵之傷害；口及肛門呈封閉之不取食狀態，然體內儲存有大量營養物質能供作能量來源 (Poinar, 1990; Campbell and Gaugler, 1991)。此階段之幼蟲會藉由昆蟲寄主之自然開口 (如口、肛門或氣孔) 或節間膜入侵其體內，而後蛻去二齡表皮並釋出腸道內所攜帶之專

一性共生性細菌，特稱共生菌。共生菌會於寄主血體腔內增殖，產生大量抗微生物質 (antimicrobial compound) 並分解其組織以提供線蟲生長發育必須之養分 (Poinar, 1990; Forst and Clarke, 2002; Boemare and Akhurst, 2006)；同時，昆蟲寄主會於感染後 1~3 天內因共生菌之增殖所造成之敗血症 (septicemia) 抑或毒血症 (toxemia) 而死亡 (Forst *et al.*, 1997; Boemare and Akhurst, 2006)。蟲生線蟲在寄主體內其生活史，一般可維持 2~3 世代；當寄主體內資源不足、養分耗盡時，線蟲會再發育為 IJs 並於潮濕環境下由寄主之節間膜或氣孔移出至外界環境，以待搜尋昆蟲寄主 (Adams and Nguyen, 2002)。

蟲生線蟲被視為成功之昆蟲病原，主要乃因其對人類、他種非標的生物及自然環境安全無殘留及毒害 (Akhurst and Smith, 2002; Ehlers, 2005)；另外，寄主範圍廣泛，且能快速殺死寄主 (Lewis and Clarke, 2012)。目前已知蟲生線蟲對眾多經濟作物與森林林木，甚至居家衛生害蟲等，如亞洲玉米螟 (*Ostrinia furnacalis* Guenée) (Cheng *et al.*, 1998)、西方花薊馬 (*Frankliniella occidentalis* Pergande) (Shapiro-Ilan *et al.*, 2014)、斜紋夜蛾 (*Spodoptera litura*) (Pai, 2004)、吉普賽舞蛾 (*Lymantria dispar* Linnaeus) (Reardon *et al.*, 1986)、黑角舞蛾 (*Lymantria xyloina* Swinhoe) (Tseng, 2006)、埃及斑蚊 (*Aedes aegypti* Linnaeus) (Chen, 2008)、貓蚤 (*Ctenocephalides felis* Bouché) (Chen, 2006)、德國蜚蠊 (*Blattella germanica* Linnaeus) (Guo, 2008) 等皆具侵染能力，抑制其族群之功效。

本試驗在實驗室內以 1998 年本實驗室利用斜紋夜蛾幼蟲於屏東縣旭海大草原採集之土壤樣本，以 Bedding and Akhurst (1975) 之方法誘釣而得之蟲生線蟲 (*Steinerinema taiwanensis* strain T39) (ITS region: GenBank accession no. KX853101) IJs，分別接種斜紋夜蛾及甜菜夜蛾 (*Spodoptera exigua*) 幼蟲，進行生物檢定，測定溫度、寄主種類及齡期、取食差異及施用濃度等因子對其致病力之影響。

材料與方法

一、供試昆蟲

本試驗所使用之斜紋夜蛾及甜菜夜蛾卵塊均採集自台中及南投地區；攜回實驗室後依次以 1.5% 次

氯酸鈉 (NaOCl) 溶液及無菌水進行表面消毒，經抽風乾燥後將卵塊移至玻璃管中待其孵化。一齡幼蟲孵出後，置於 250 mL 之透明塑膠刻度杯 (直徑 10 cm，高度 8 cm) 內，並以修改自 Ou-Yang and Chu (1988) 之半合成人工飼料，於 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ，光照 L : D = 12 : 12 h 之生長箱中繼代飼養。幼蟲發育至第四齡蛻皮前，將其單隻移至 30 孔盒塑膠飼育盤 (每孔直徑 3 cm，高 3 cm) 內，避免互相殘殺之情形。每三至四個世代將田間所採集之野生蟲源與實驗室之品系進行雜交，以避免供試族群衰弱。

二、供試蟲生線蟲

本試驗所使用之蟲生線蟲 (*S. taiwanensis* strain T39) 以斜紋夜蛾及大蠟蛾 (*Galleria mellonella* Linnaeus) 末齡幼蟲於實驗室內進行活體繼代培養。將接種線蟲死亡後之昆蟲體以 1.5% 次氯酸鈉溶液及無菌水進行體表消毒後，置於內襯有 5.5 cm 圓形濾紙 (Advantec®, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Japan) 之透明塑膠刻度杯中，待 IJs 自行離開寄主時，以 White trap (White, 1927) 進行蒐集，以 0.1% formalin 溶液及無菌水清洗後，置於 40 mL 之塑膠透明罐中，在 20°C 下保存。

三、不同溫度對線蟲致病力之影響

於塑膠培養皿 (直徑 5.5 cm，高 1.5 cm) 中置入直徑 5.5 cm 之圓形濾紙一張及斜紋夜蛾六齡幼蟲或甜菜夜蛾五齡幼蟲一隻，將濃度 20 IJs/mL 之 *S. taiwanensis* 懸浮液 0.5 mL 滴加於濾紙上，再分別置於 10、15、20、25、30 及 35°C ，L : D = 12 : 12 h 之生長箱中，每 4 小時觀察並記錄其死亡率，共計觀察三天。每種溫度 3 重複，每重複 20 隻幼蟲，對照組則滴加不含有線蟲之去離子水 0.5 mL。

四、不同寄主、飼料及施用濃度對線蟲致病力之影響

試驗裝置如上項所示，然以蛻皮後分別餵食含或未含防腐劑飼料一日後之斜紋夜蛾幼蟲進行測試。於襯有濾紙之培養皿內分別置入斜紋夜蛾第五或六齡取食含防腐劑 (即內含 sorbic acid、methyl-p-hydroxybenzoate 及 chloramphenicol) 或未含防腐劑飼料之幼蟲各一隻；配置不同濃度之 *S. taiwanensis* 懸浮液滴加於各皿濾紙上，每皿 0.5 mL，後置於 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ，L : D = 12 : 12 h 之生長箱中，每 4 小時觀察並記錄其死亡率。用以測試線蟲之濃度分別為五齡：10、15 及 20 IJs/mL；六齡：

表一 不同溫度環境下蟲生線蟲 (*Steinernema taiwanensis* strain T39) 侵染期幼蟲對斜紋夜蛾 (*Spodoptera litura*) 及甜菜夜蛾 (*Spodoptera exigua*) 之半致死時間 (LT_{50})
Table 1. LT_{50} of *Spodoptera litura* and *Spodoptera exigua* infected with the entomopathogenic nematode, *Steinernema taiwanensis* strain T39, at different temperatures

Temperature (°C)	Host	LT_{50} (h) ⁽¹⁾	95% fiducial limit
20	<i>S. litura</i>	---	---
	<i>S. exigua</i>	65.2	62.9 - 67.6
25	<i>S. litura</i>	42.6	40.7 - 44.6
	<i>S. exigua</i>	27.6	24.8 - 30.7
30	<i>S. litura</i>	39.1	37.5 - 40.6
	<i>S. exigua</i>	27.8	25.4 - 30.4
35	<i>S. litura</i>	69.4	65.7 - 73.3
	<i>S. exigua</i>	25.9	24.5 - 27.3

⁽¹⁾ Time required for *S. taiwanensis* to cause 50% *S. litura* and *S. exigua* larval mortality.

⁽²⁾ The LT_{50} value was not calculable due to the cumulative mortality below 50%.

15、20 及 25 IJs/mL。每濃度 3 重複，每重複 20 隻幼蟲，對照組則滴加不含有線蟲的去離子水 0.5 mL。甜菜夜蛾則以取食未含防腐劑飼料之第五齡幼蟲進行測試，所滴加之線蟲懸浮液濃度為 10、15 及 20 IJs/mL，其餘試驗方式同斜紋夜蛾。

五、統計分析

試驗觀察所得之數據以 Probit 軟體 (Chi, 1997) 計算半致死時間 (LT_{50})；另經由 SPSS system Version 20 進行 *t*-test、ANOVA、Kruskal-Wallis test 及 Tukey 變方分析進行事後檢定，以確認不同試驗處理間是否具有顯著差異。

結 果

一、不同溫度對線蟲致病力之影響

本試驗於不同環境溫度下，以蟲生線蟲 *S. taiwanensis* 懸浮液接種斜紋夜蛾及甜菜夜蛾幼蟲結果顯示，在 10 及 15°C 下兩者皆無死亡率之產生，然若在 20、25、30 及 35°C 處理溫度下，*S. taiwanensis* 對甜菜夜蛾之 LT_{50} 均較斜紋夜蛾為短 (表一)，且最終累積死亡率亦較高 (圖一)。若在相同處理溫度下比較兩種夜蛾科害蟲對線蟲之感性，結果顯示在 20、25 及 35°C，兩試驗組之死亡率彼此間具有顯著差異 ($p < 0.05$)，惟 25°C 時無顯著差異 ($p > 0.05$)。

1. 斜紋夜蛾

在處理溫度為 20°C 時，接種後 56 h 始有死亡率之發生，且最終死亡率僅有 $3.3 \pm 2.9\%$ ；當溫度提升至 25°C，則死亡率曲線會於接種後 32 h 有急速攀升之情形，並能於 72 h 造成 $88.3 \pm 7.6\%$ 死亡

率；在 30°C 時，此現象則提前至接種後 24 h，而最終死亡率為 $83.3 \pm 7.6\%$ ；然在 35°C 試驗組中，寄主死亡率攀升之速率明顯較 25 及 30°C 為慢，且其最終死亡率為 $50.0 \pm 13.2\%$ 亦低於前述兩處理組 (圖一A)。在 25、30 及 35°C 環境溫度下，*S. taiwanensis* 對斜紋夜蛾幼蟲所造成之 LT_{50} 分別為 42.6、39.1 及 69.4 h (表一)，20°C 處理組因總死亡率未達 50% 故無法計算。經統計分析顯示，25 與 30°C、30 與 35°C 間所得之死亡率彼此並無顯著差異 ($p > 0.05$)，然 25 與 35°C 間有顯著差異 ($p < 0.05$)，且 20°C 時之寄主死亡率與其他三試驗組亦具有顯著差異 ($p < 0.05$)。

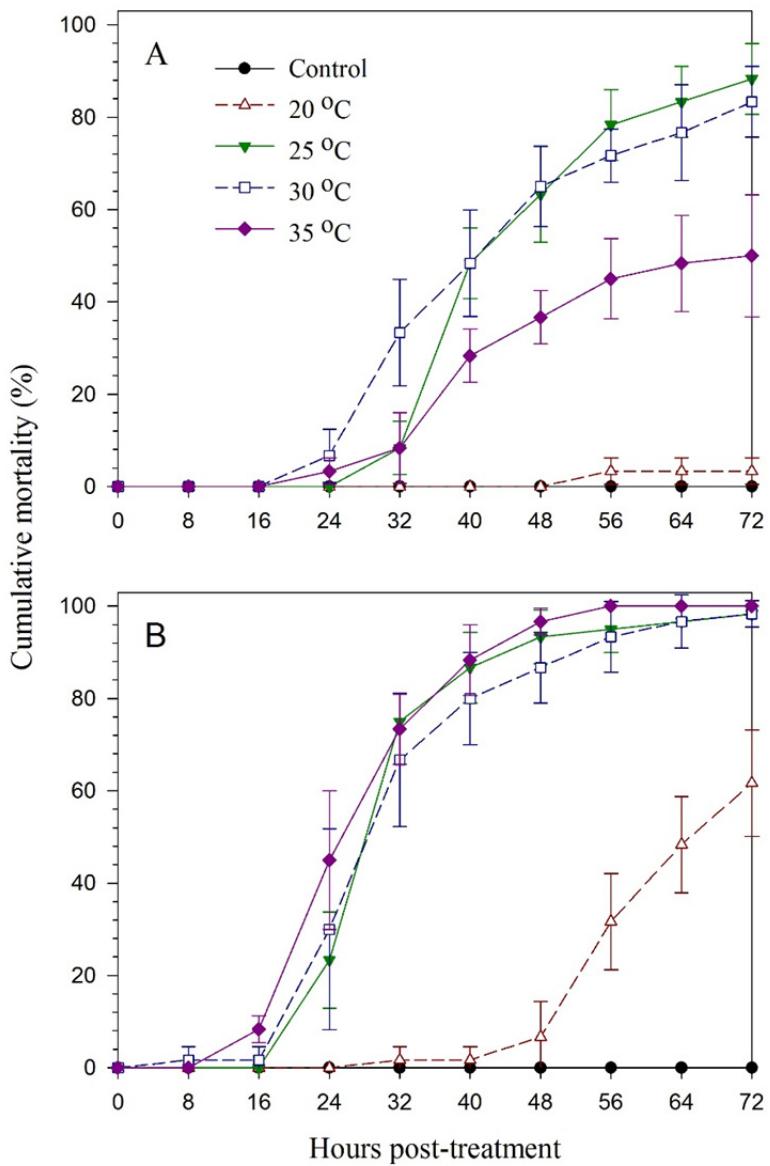
2. 甜菜夜蛾

試驗溫度為 20°C 時，寄主昆蟲在接種後 44 h 始有 6.7% 死亡率，72 h 為 $61.7 \pm 11.6\%$ ；當溫度升高至 25、30 及 35°C，甜菜夜蛾幼蟲之死亡速率明顯較 20°C 為快，死亡率曲線顯著攀升之時間點則分別提前至接種後 20、16 及 12 h，而其 72 h 之最終死亡率分別為 98.3 ± 2.9 、 98.3 ± 2.89 及 100% (圖一B)。在 20、25、30 及 35°C 溫度下，*S. taiwanensis* 對甜菜夜蛾幼蟲所造成之 LT_{50} 分別為 65.2、27.6、27.8 及 25.9 h (表一)。經統計分析結果顯示，在 25、30 及 35°C 下所得之死亡率彼此間無顯著差異 ($p > 0.05$)，惟 20°C 與其他試驗組間具有顯著差異 ($p < 0.05$)。

二、不同寄主、飼料及施用濃度對線蟲致病力之影響

1. 斜紋夜蛾

取食未含防腐劑及含防腐劑飼料兩組斜紋夜蛾五齡幼蟲之死亡率明顯上升皆始於接種後 24 h，然

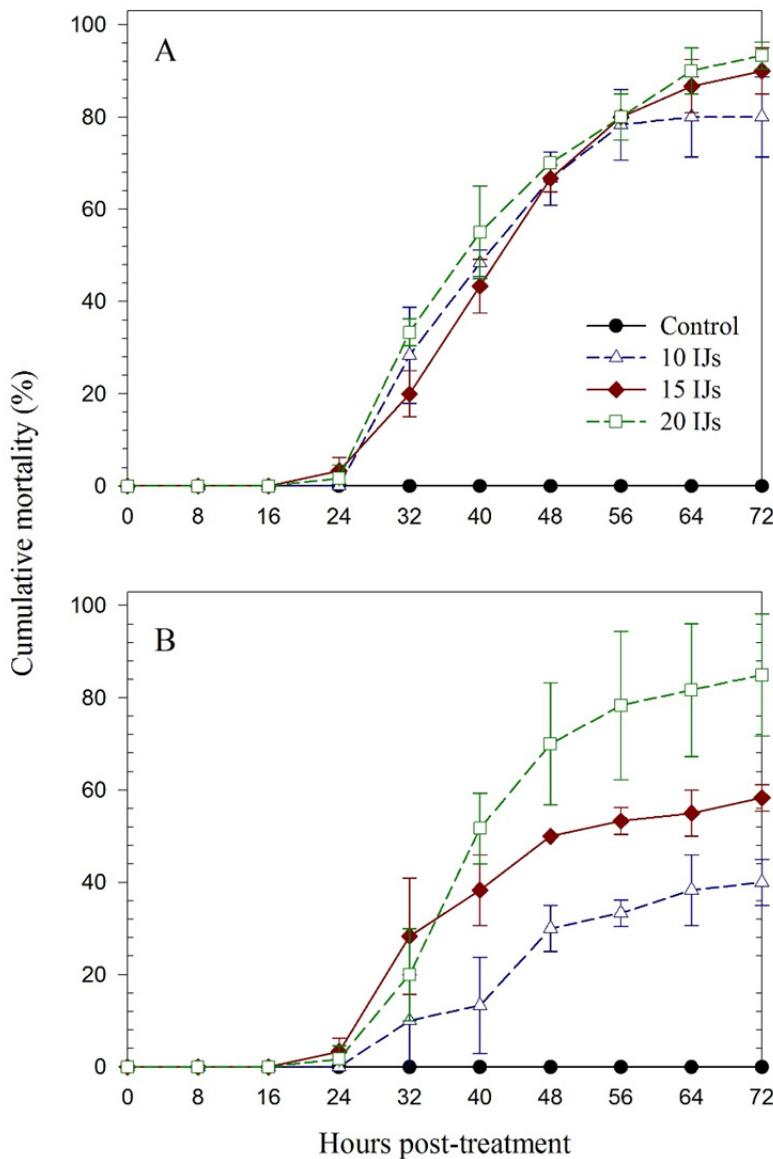


圖一 不同溫度下蟲生線蟲 *Steinernema taiwanensis* strain T39 對寄主昆蟲之累積死亡率。A：斜紋夜蛾；B：甜菜夜蛾。
Fig. 1. The cumulative mortality (means \pm SD) of insect hosts inoculated with entomopathogenic nematode, *Steinernema taiwanensis* strain T39, at different temperatures. A. *Spodoptera litura*. There was a significant difference in mortality between 20°C and the other three temperatures at 72 h posttreatment at the 5% level according to Tukey's range test. However, there was no significant difference between 30 and 35°C. In addition, a difference was observed between 25 and 35°C. B. *Spodoptera exigua*. Excluding 20°C, there were no significant differences between all treatments at 72 h posttreatment at the 5% level according to Kruskal-Wallis test.

含防腐劑組之死亡攀升速率明顯較未含防腐劑組為慢；且不論接種濃度為何，含防腐劑組之累積死亡率皆低於未含防腐劑組；未含防腐劑處理組內 10、15 及 20 IJs/mL 三濃度間之累積死亡率彼此間無顯著差異 ($p > 0.05$)，然含防腐劑組僅 10 與 15 IJs/mL 兩處理間無顯著差異 ($p > 0.05$)，15 與 20 IJs/mL、10 與 20 IJs/mL 間則具顯著差異 ($p < 0.05$) (圖二)。取食未含防腐劑飼料於 10、15 及 20

IJs/mL 下之 LT_{50} 分別為 42.1、42.3 及 37.9 h；取食防腐飼料於 15 及 20 IJs/mL 下之 LT_{50} 分別為 52.6 及 39.9 h (10 IJs/mL 之累積死亡率僅有 40%，故無法計算該組之 LT_{50}) (表二)。在相同濃度處理時，未含防腐劑處理組之 LT_{50} 皆較含防腐劑組短；而在取食相同飼料之處理組內，大多數施用濃度高者其 LT_{50} 較濃度低者為短 (表二)。

若比較在相同處理濃度下，*S. taiwanensis* 對



圖二 不同濃度之蟲生線蟲 *Steinernema taiwanensis* strain T39 於 25°C 下對斜紋夜蛾五齡幼蟲之累積死亡率。A：餵食未防防腐飼料；B：餵食防防腐飼料。

Fig. 2. The cumulative mortality (means \pm SD) of *Spodoptera litura* fifth instar larvae inoculated with the entomopathogenic nematode, *Steinernema taiwanensis* strain T39, at different concentrations at 25°C. A. Larvae fed on artificial diet without antiseptic. There were no significant differences at 72 h posttreatment at the 5% level between the three treatments according to Tukey's range test. B. Larvae fed on artificial diet with antiseptic. There were significant differences between 20 IJs/mL and 10 and 15 IJs/mL but not between 10 and 15 IJs/mL at 72 h posttreatment at the 5% level according to Tukey's range test.

取食未含防腐劑及含防腐劑飼料斜紋夜蛾五齡幼蟲在相同觀測時間點時之致病力，經 *t*-test 分析結果發現，在 10 及 15 IJs/mL 處理中，接種後 48 及 72 h 兩飼料處理組之死亡率彼此有顯著差異 ($p < 0.05$)；然在 20 IJs/mL 下，不論觀測時間點為接種後 24、48 或 72 h 則皆無顯著差異 ($p > 0.05$)；若比較最終死亡率，則僅在高濃度 20 IJs/mL 時兩處理組間彼此無顯著差異 ($p > 0.05$)。

另外以六齡幼蟲供試，取食未含防腐劑組死亡率開始攀升之時間點為接種後 16~20 h，而含防腐劑飼料組則為 20 h；在 15、20 及 25 IJs/mL 下接種後 72 h 之累積死亡率彼此均無顯著差異 ($p > 0.05$) (圖三)。取食未含防腐劑組於 15、20 及 25 IJs/mL 下之 LT_{50} 分別為 28.6、23.6 及 27.0 h；取食含防腐劑者之 LT_{50} 則分別為 33.4、34.4 及 28.4 h。在相同處理濃度下，未含防腐劑飼料組之 LT_{50} 皆較

表二 不同濃度之蟲生線蟲 (*Steinernema taiwanensis* strain T39) 侵染期幼蟲於 25°C 下對斜紋夜蛾 (*Spodoptera litura*) 及甜菜夜蛾 (*Spodoptera exigua*) 五齡幼蟲之半致死時間 (LT₅₀)
Table 2. LT₅₀ of *Spodoptera litura* and *Spodoptera exigua* fifth instar larvae infected with the entomopathogenic nematode, *Steinernema taiwanensis* strain T39, at different concentrations at 25°C

Conc. (IJs/mL) ⁽¹⁾	Host	Antiseptics added to diets	LT ₅₀ (h) ⁽²⁾
10	<i>S. litura</i>	-	42.1
	<i>S. litura</i>	+	---
	<i>S. exigua</i>	-	36.8
	<i>S. litura</i>	-	42.3
15	<i>S. litura</i>	+	52.6
	<i>S. exigua</i>	-	31.9
	<i>S. litura</i>	-	37.9
20	<i>S. litura</i>	+	39.9
	<i>S. exigua</i>	-	27.2

⁽¹⁾ Each larva was inoculated with 0.5 mL nematode suspension.

⁽²⁾ Time required for *S. taiwanensis* to cause 50% *S. litura* and *S. exigua* larval mortality.

⁽³⁾ The LT₅₀ value was not calculable due to the cumulative mortality below 50%.

含防腐劑組短；而在取食相同飼料之處理組內，大多數施用濃度高者其 LT₅₀ 較濃度低者為短。

若比較在相同處理濃度下，*S. taiwanensis* 對取食未含防腐劑及含防腐劑之六齡幼蟲，在相同觀測時間點時之致病力，經 *t*-test 分析結果發現，僅在 20 IJs/mL 下、接種後 24 及 48 h 之觀測點兩者死亡率有顯著差異 ($p < 0.05$)；然若以最終死亡率進行比較，則三濃度所得之結果彼此間無顯著差異 ($p > 0.05$)。

2. 甜菜夜蛾

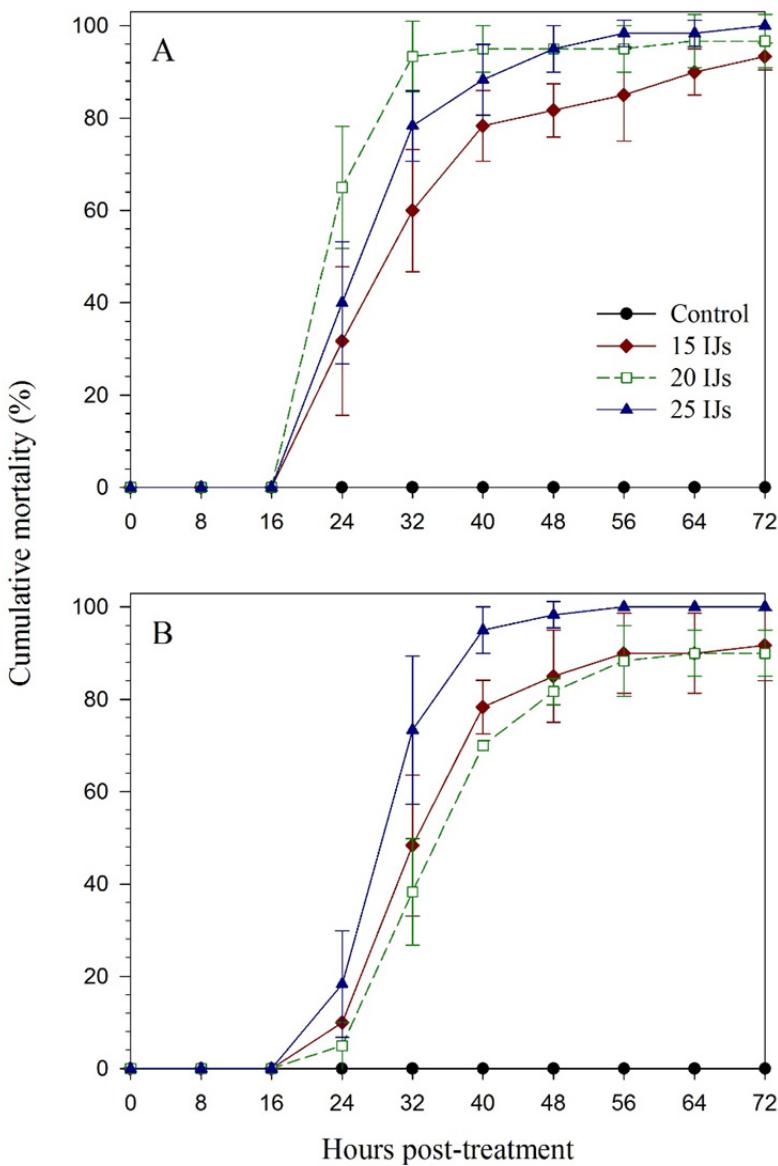
在試驗之三個接種濃度下，甜菜夜蛾五齡幼蟲死亡率攀升時間點始於 20 h，然 20 IJs/mL 組之死亡曲線明顯較其他兩組陡峭，三處理組所得之最終死亡率皆可達 90%，且經統計分析顯示，三濃度之致病力彼此間並無顯著差異 ($p > 0.05$) (圖四)；而接種 10、15 及 20 IJs/mL 下之 LT₅₀ 分別為 36.8、31.9 及 27.2 h (表二)。

討 論

溫度對蟲生線蟲之存活、侵染寄主之能力、致病力、繁殖及保存上佔極重要之地位 (Dunphy and Webster, 1986; Fujiie *et al.*, 1995; Cheng and Hou, 1997)；同時，線蟲侵染寄主之溫度範圍取決於原始分布採集區域之氣候溫度而定，會因地理區之不同而導致溫度適應上之差異 (Kaya, 1990; Hazir *et al.*, 2001)。本試驗以斜紋夜蛾及甜菜夜蛾幼蟲為寄主測試 *S. taiwanensis* 在不同環境溫度下之致病力，結果顯示不論受測對象為何，其致病效果在 25~35°C 時皆較低溫時為佳，在 10 或 15°C 試

驗溫度時則無死亡率之產生。蟲生線蟲在低溫時導致之寄主死亡率會較高溫時低，然有時溫度過高反而不利於線蟲生長生存 (Schmiege, 1963; Gaugler, 1981)。Gouge *et al.* (1999) 於不同試驗溫度下，以 *S. riobrave* Cabanillas, Poinar & Raulston、*S. carpocapsae* Wouts, Mráček, Gerdin & Bedding 及 *H. bacteriophora* Poinar 接種包括棉鈴蟲 (*Pectinophora gossypiella* Saunders)、菸芽夜蛾 (*Heliothis virescens* Fabricius)、擬尺蠖 (*Trichoplusia ni* Hübner) 及甜菜夜蛾等，結果顯示此三種線蟲對受測的鱗翅目害蟲之適用溫度範圍介於 22~36°C，20°C 以下之試驗溫度所得死亡率極低，30°C 則隨線蟲及寄主種類不同而有所差異；Huang (2003) 以 *S. abbasi* Elawad, Ahmad & Reid 接種黃條葉蚤 (*Phyllotreta striolata* Fabricius) 25 及 30°C 所得之死亡率彼此間並無顯著差異，然 21°C 時其表現明顯較差；本試驗所得結果與上述各項大致相符。

以 *S. taiwanensis* 懸浮液接種不同齡期之斜紋夜蛾幼蟲之結果顯示，當線蟲濃度越高時，致死速率大致也較快；且整體而言，不論濃度為何，其對五齡幼蟲之致病力較六齡幼蟲為差。在六齡幼蟲試驗組中，取食未含防腐劑或含防腐劑飼料組之死亡率顯著攀升之時間分別為接種後 16~20 及 20 小時，均早於兩者在五齡幼蟲試驗組之 24 小時，*S. taiwanensis* 對六齡幼蟲所造成之 LT₅₀ 也明顯較五齡各組為短。Lu (1994) 以 *S. carpocapsae* 接種斜紋夜蛾及小菜蛾 (*Plutella xylostella* Linnaeus)，結果寄主齡期越大則致病力越高，LT₅₀ 越低；Huang (2003) 測試 *S. abbasi* 對黃條葉蚤之致病力，發現



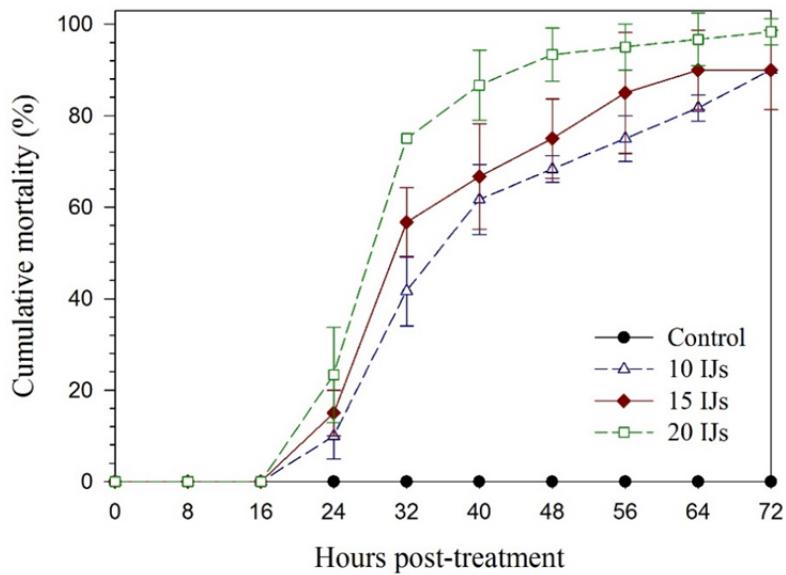
圖三 不同濃度之蟲生線蟲 *Steinernema taiwanensis* strain T39 於 25°C 下對斜紋夜蛾六齡幼蟲之累積死亡率。A：餵食未防腐飼料；B：餵食防腐飼料。

Fig. 3. The cumulative mortality (means \pm SD) of *Spodoptera litura* sixth instar larvae inoculated with the entomopathogenic nematode, *Steinernema taiwanensis* strain T39, by different concentrations at 25°C. A. Larvae fed on artificial diet without antiseptic. There were no significant differences between the three treatments at 72 h posttreatment at the 5% level according to Kruskal-Wallis test. B. Larvae fed artificial diet with antiseptic. There were no significant differences between the three treatments at 72 h posttreatment at the 5% level according to Tukey's range test.

各濃度所造成三齡幼蟲之 LT_{50} 均較二齡幼蟲短。
Banu *et al.* (2007) 則以 *Heterohabditis indica* Poinar, Karunaker & David 與 *S. glaseri* Wouts, Mráček, Gerdin & Bedding 感染各齡期玉米穗蟲 (*Helicoverpa armigera* Hübner)，發現五齡幼蟲之 LT_{50} (49.4 及 52.2 h) 比四齡幼蟲 (59.9 及 61.4 h) 為短；本試驗所得結果皆與上述者相符。

在同樣施用 15 及 20 IJs/mL 濃度時，六齡幼

蟲之總累積死亡率皆可達 90%以上，然五齡幼蟲卻呈現相當程度之差異；此可推論昆蟲寄主之齡期確實能導致蟲生線蟲致病力上之差異，即齡期越大，遭受侵染死亡率也相對越高。Kaya (1985) 以 *S. feltiae* Wouts, Mráček, Gerdin & Bedding 接種之初齡甜菜夜蛾幼蟲感受性低於第 3 或 8 日齡幼蟲之結果推論，當昆蟲寄主齡期較小時，其體型與自然開口相對亦較小，進而導致線蟲侵入難度較高而死



圖四 不同濃度之蟲生線蟲 *Steinernema taiwanensis* strain T39 於 25°C 下對甜菜夜蛾五齡幼蟲之累積死亡率。

Fig. 4. The cumulative mortality (means \pm SD) of *Spodoptera exigua* fifth instar larvae inoculated with the entomopathogenic nematode, *Steinernema taiwanensis* strain T39, at different concentrations at 25°C. There were no significant differences between the three treatments at 72 h posttreatment at the 5% level according to the Kruskal-Wallis test.

亡率較低；Loya and Hower (2003) 則藉由 *H. bacteriophora* 與苜蓿根象鼻蟲 (*Sitona hispidulus* Fabricius) 幼蟲接觸，相較於未產生明顯死亡率之初齡幼蟲，其末齡幼蟲具有 70~80% 死亡率；與本文之試驗結果相似。

Van Der Hoeven *et al.* (2008) 將 *S. carposcapsae* 接種於菸草天蛾 (*Manduca sexta* Linnaeus) 幼蟲之試驗結果顯示，取食不含有硫酸鏈絲菌素 (streptomycin sulfate) 及康黴素 (kanamycin) 飼料之測試組其後代 IJs 移出寄主之初始速率、總產量及共生菌 *Xenorhabdus nematophila* Poinar & Thomas 於後代 IJs 體內之定殖率 (colonization) 都明顯較取食含有抗生素飼料之組別為高，顯示抗生素確實能對蟲生線蟲及共生菌之生長發育、致病力等造成影響。在本試驗中於特定齡期以相同濃度之 *S. taiwanensis* 懸浮液接種不同飼料處理之斜紋夜蛾幼蟲，結果發現不論試驗對象為五齡或六齡幼蟲，未含防腐劑組所得之 LT₅₀ 皆較含防腐劑組為低，且其死亡率攀升之幅度也較明顯；其可能原因為人工半合成飼料中所含之防腐劑能抑制共生菌於寄主體液中之生長能力，進而影響其分解寄主組織、提供線蟲成長繁殖所需營養之效力；同時，本試驗中所添加之防腐劑，即 sorbic acid、methyl-p-hydroxybenzoate 及 chloramphenicol，雖非全為

抗細菌劑，但其仍具有抑制他種微生物汙染且提高昆蟲寄主免疫之效，使蟲生線蟲侵染難度之提升，導致致死速率之下降。

以較低濃度之線蟲懸浮液接種斜紋夜蛾五齡幼蟲時，含防腐劑組之最終累積死亡率明顯低於未防腐組且彼此間有顯著差異，較高濃度與六齡幼蟲組則無此現象，推測可能由於侵染成功之線蟲基數族群量大而能克服防腐劑所造成之影響，且因前述昆蟲之寄主齡期與體型對致病力所造成之影響。

除上述各項因素外，昆蟲寄主之種類亦常導致蟲生線蟲致病力上之差異。Morris *et al.* (1990) 發現 *S. feltiae* 對夜蛾科 *Mamestra configurata* Walker 之致病力遠高於對同科之 *Peridroma saucia* Hübner 與 *Euxoa ochrogaster* Guenée；而 *S. scapterisci* Nguyen & Smart 則對蠟蚧 (*Scapteriscus acletus* Rehn & Hebard)、家蟋蟀 (*Acheta domesticus* Linnaeus) 之致病力較鱗翅目大蠅蛾、夜蛾 (*Spodoptera frugiperda* J.E. Smith) 為佳 (Nguyen and Smart, 1991)。本試驗以甜菜夜蛾作為寄主比較 *S. taiwanensis* 對兩種昆蟲致病力之差異，考慮到蟲體體型大小上之差異，選取同樣取食未防腐斜紋夜蛾五齡幼蟲、而非同樣是最終齡期之六齡幼蟲與其進行比較；不論接種濃度為何，甜菜夜蛾五齡幼蟲之 LT₅₀ 皆較斜紋夜蛾為短，然若

進行最終累積死亡率之比較，則兩者間並無顯著差異，顯示寄主差異在本試驗中最大之影響在於致死速率而非死亡率。

而造成各項試驗中寄主間致死速率之差異推測可能原因如下：昆蟲寄主本身之感性、體表構造之差異及體型大小等；甜菜夜蛾本身即為對蟲生線蟲感性極高之昆蟲，Kaya (1985) 以濃度 2000 IJs/mL *S. feltiae* 接種甜菜夜蛾及 *Pseudaletia unipuncta* Haworth, 72 小時後死亡率分別為 83.3 及 55.3%，彼此間有極大之差異；Tseng (1994) 指出僅一隻 *S. carpocapsae* 線蟲即可造成五齡甜菜夜蛾幼蟲之死亡，若寄主為五齡斜紋夜蛾幼蟲，則 LD₅₀ 為 2.9 IJs/larva (Chen, 2004)，然如受測對象為大蠍蛾，則即便使用高致病力之品系其 LD₅₀ 却明顯較高 (Simões et al., 2000)。同時，Kondo and Ishibashi (1989) 發現斜紋夜蛾幼蟲及蛹之氣孔上覆有刺毛 (spine)，亦可能導致線蟲侵入上之困難。

Kaya (1985) 以 10 IJs/larva *S. carpocapsae* 接種甜菜夜蛾五齡幼蟲，72 h 後所得之死亡率為 46.7%，Tseng (1994) 施用濃度 160 IJs/mL *S. carpocapsae* 時其 LT₅₀ 為 22.9 h；而本試驗使用 20 IJs/mL *S. taiwanensis* 之 LT₅₀ 27.2 h、死亡率 90.0% 與此二結果相似或為佳。

以 10 及 20 IJs/larva *S. carpocapsae* 接種斜紋夜蛾五齡幼蟲，72 h 之死亡率 57.5 及 70.0% (Gupta et al., 2008)，而以同樣為台灣本地產之 100 IJs/larva 的 *S. abbasi* 侵染斜紋夜蛾六齡幼蟲，48 h 之死亡率 94.7% (Pai, 2004)；本試驗中以相同濃度 10 及 20 IJs/mL 的 *S. taiwanensis* 接種斜紋夜蛾五齡幼蟲之死亡率分別為 80.0 及 93.3%，最高濃度 25 IJs/larva 的 *S. taiwanensis* 接種斜紋夜蛾六齡幼蟲之死亡率則為 95.0%，其死亡率較此二種試驗結果為佳或相似。

綜合上述各項試驗結果可知，此蟲生線蟲 (*S. taiwanensis* strain T39) 確實對鱗翅目昆蟲寄主具有殺蟲效力，並能於低濃度、短時間及 25~35°C 下造成寄主極高之死亡率，因此值得進一步研究其在害蟲防治上之應用。

引用文獻

- Adams BJ, Nguyen KB.** 2002. Taxonomy and systematics. pp 1-34. In: Gaugler R (ed). Entomopathogenic Nematology. CABI Publishing, New York.
- Akhurst RJ, Smith K.** 2002. Regulation and safety. pp 311-332. In: Gaugler R (ed). Entomopathogenic Nematology. CABI Publishing, New York.
- Banu JG, Jothi BD, Narkhedkar N.** 2007. Susceptibility of different stages of cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to entomopathogenic nematodes. Int J Nematol 17: 41-45.
- Bedding RA, Akhurst RJ.** 1975. A simple technique for the detection of insect paristic rhabditid nematodes in soil. Nematologica 21: 109-110.
- Boemare NE, Akhurst RJ.** 2006. The genera *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. pp 451-494. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E (eds). The Prokaryotes. Springer Science & Business Media, New York.
- Campbell LR, Gaugler R.** 1991. Role of the sheath in desiccation tolerance of two entomopathogenic nematodes. Nematologica 37: 324-332.
- Chen CC.** 2008. Comparing virulence of two entomopathogenic nematodes, *Steinernema abbasi* and *S. carpocapsae*, against the mosquito, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) [Master's thesis]. Taichung (Taiwan): National Chung Hsing University. 69 pp. (in Chinese)
- Chen JY.** 2004. Infection and pathogenicity of two entomopathogenic nematodes *Steinernema abbasi* and *S. carpocapsae* (Nematoda: Steinernematidae) to *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) [Master's thesis]. Taichung (Taiwan): Nationa Chung Hsing University. 97 pp. (in Chinese)
- Chen LC.** 2006. Comparison of infectivity of two entomopathogenic nematodes, *Steinernema abbasi* and *S. carpocapsae*, against immature stage of *Ctenocephalides felis* (Bouche) (Siphonaptera: Pulicidae) [Master's thesis]. Taichung (Taiwan): National Chung Hsing University. 76 pp. (in Chinese)
- Cheng CC, Hou RF.** 1997. Effects of

- environmental factors on survival of the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae*. Chinese J Entomol 17: 120-131. (in Chinese)
- Cheng CC, Tang LC, Hou RF.** 1998. Efficacy of the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae), against the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Pyralidae). Chinese J Entomol 18: 51-60. (in Chinese)
- Chi H.** 1997. Computer program for the probit analysis. National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan.
- De Ley P.** 2006. A quick tour of nematode diversity and the backbone of nematode phylogeny. (January 25, 2006). In WormBook (ed), The *C. elegans* Research Community, WormBook, doi: 10.1895/wormbook.1.41.1, <http://www.wormbook.org>.
- Dunphy GB, Webster JM.** 1986. Temperature effects on the growth and virulence of *Steinernema feltiae* strains and *Heterorhabdus heliothidis*. J Nematol 18: 270-272.
- Ehlers RU.** 2005. Forum on safety and regulation. pp 107-114. In: Grewal P, Ehlers RU, Shapiro-Ilan DI (eds). Nematodes as Biocontrol Agents. CABI Publishing, Wallingford.
- Forst S, Clarke D.** 2002. Bacteria-Nematode Symbiosis. pp 57-77. In: Gaugler R (ed). Entomopathogenic Nematology. CABI Publishing, New York.
- Forst S, Dowds B, Boemare NE, Stackebrandt E.** 1997. *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* spp.: bugs that kill bugs. Annu Rev Microbiol 51: 47-72.
- Fujiiie A, Tachibana M, Takata Y, Yokoyama T, Suzuki N, Uechi T.** 1995. Effects of temperature on insecticidal activity of an entomopathogenic nematode, *Steinernema kushidai* (Nematoda: Steinernematidae), against *Anomala cuprea* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae. Appl Entomol Zool (Jpn.) 30: 23-30.
- Gaugler R.** 1981. Biological control potential of neoaplectanid nematodes. J Nematol 13: 241-249.
- Gouge DH, Lee LL, Henneberry TJ.** 1999. Effect of temperature and lepidopteran host species on entomopathogenic nematode (Nematoda: Steinernematidae, Heterorhabditidae) infection. Environ Entomol 28: 876-883.
- Guo JN.** 2008. Pathogenic evaluation of two entomopathogenic nematodes, *Steinernema abbasi* and *Steinernema carpocapsae*, against *Blattella germanica* [Master's thesis]. Taichung (Taiwan): National Chung Hsing University. 51 pp. (in Chinese)
- Gupta S, Kaul V, Srivastava K, Monobrillah M.** 2008. Pathogenicity and *in vivo* culturing of a local isolate of *Steinernema carpocapsae* against *Spodoptera litura* (Fab.). Indian J Entomol 70: 346-349.
- Hazir S, Stock SP, Kaya HK, Koppenhöfer AM, Keskin N.** 2001. Developmental temperature effects on five geographic isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). J Invertebr Pathol 77: 243-250.
- Huang YJ.** 2003. Studies on infection of the striped flea beetle, *Phyllotreta striolata* (Fabricius), with the entomopathogenic nematode, *Steinernema abbasi* and the white muscardine fungus, *Beauveria bassiana* [Master's thesis]. Taichung (Taiwan): National Chung Hsing University. 80 pp. (in Chinese)
- Kaya HK.** 1985. Susceptibility of early larval stages of *Pseudaleletia unipuncta* and *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) to the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae). J Invertebr Pathol 46: 58-62.
- Kaya HK.** 1990. Soil ecology. pp 93-115. In: Gaugler R, Kaya HK (eds). Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Boca Raton.
- Kondo E, Ishibashi N.** 1989. Non-oral infection

- of *Steinernema feltiae* (DD-136) to the common cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Appl Entomol Zool (Jpn.)* 24: 85-95.
- Lewis E, Clarke D.** 2012. Nematode parasites and entomopathogens. pp 395-424. In: Vega FE, Kaya HK (eds). *Insect Pathology*. Academic Press, London, UK.
- Loya LJ, Hower AA.** 2003. Infectivity and reproductive potential of the Oswego strain of *Heterorhabditis bacteriophora* associated with life stages of the clover root curculio, *Sitona hispidulus*. *J Invertebr Pathol* 83: 63-72.
- Lu CY.** 1994. Artificial culture of the entomogenous nematode, *Steinernema carpocasae*, and its pathogenicity to *Spodoptera litura* and *Plutella xylostella* [Master's thesis]. Taichung (Taiwan): National Chung Hsing University. 54 pp. (in Chinese)
- Morris O, Converse V, Harding J.** 1990. Virulence of entomopathogenic nematode-bacteria complexes for larvae of noctuids, a geometrid, and a pyralid. *Can Entomol* 122: 309-319.
- Nguyen KB, Smart GC.** 1991. Pathogenicity of *Steinernema scapterisci* to selected invertebrates. *J Nematol* 23: 7-11.
- Nguyen KB, Smart GC.** 1994. *Neosteinernema longicurvicauda* n. gen., n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), a parasite of the termite *Reticulitermes flavipes* (Koller). *J Nematol* 26: 162-174.
- Ou-Yang SC, Chu YI.** 1988. The comparison of the development of the tobacco cutworm (*Spodoptera litura* (F.)) reared with natural and artificial diets. *Chinese J Entomol* 8: 143-150. (in Chinese)
- Pai CF.** 2004. Host infection, persistence in soil and field application of the entomopathogenic nematode, *Steinernema abbasi* [Doctoral dissertation]. Taichung (Taiwan): National Chung Hsing University. 163 pp. (in Chinese)
- Poinar GO.** 1979. *Nematodes for Biological Control of Insects*. Boca Raton: CRC Press. 277 pp.
- Poinar GO.** 1990. Biology and taxonomy of Steinernematidae and Heterorhabditidae. pp 23-61. In: Gaugler R, Kaya HK (eds). *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. CRC Press, Boca Raton.
- Reardon R, Kaya H, Fusco R, Lewis F.** 1986. Evaluation of *Steinernema feltiae* and *S. bibionis* (Rhabditida: Steinernematidae) for suppression of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) in Pennsylvania, USA. *Agric Ecosyst Environ* 15: 1-9.
- Schmiege DC.** 1963. The feasibility of using a neoaplectanid nematode for control of some forest insect pests. *J Econ Entomol* 56: 427-431.
- Shapiro-Ilan DI, Han R, Qiu X.** 2014. Production of entomopathogenic nematodes. pp 321-356. In: Morales-Ramos JA, Rojas MG, Shapiro-Ilan DI (eds). *Mass Production of Beneficial Organisms: Invertebrates and Entomopathogens*. Academic Press, London.
- Simões N, Caldas C, Rosa J, Bonifassi E, Laumond C.** 2000. Pathogenicity caused by high virulent and low virulent strains of *Steinernema carpocapsae* to *Galleria mellonella*. *J Invertebr Pathol* 75: 47-54.
- Tseng CT.** 2006. Comparison of pathogenicity of two entomopathogenic nematodes, *Steinernema abbasi* and *Steinernema carpocapsae*, to *Lymantria xyloina* (Lepidoptera : Lymantriidae) [Master's thesis]. Taichung (Taiwan): National Chung Hsing University. 73 pp. (in Chinese)
- Tseng MJ.** 1994. Pathogenicity and field persistence of the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae*, to *Spodoptera exigua* [Master's thesis]. Taichung (Taiwan): National Chung Hsing University. 59 pp. (in Chinese)
- Van Der Hoeven R, Betrabet G, Forst S.** 2008. Characterization of the gut bacterial community in *Manduca sexta* and effect of

antibiotics on bacterial diversity and nematode reproduction. FEMS Microbiol Lett 286: 249-256.

White GF. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. Science 66: 302-303.

Pathogenicity of the Entomopathogenic Nematode, *Steinernema taiwanensis* Strain T39, Against Two Noctuids, *Spodoptera litura* and *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae)

Ching-Tzu Tseng, Roger F. Hou, and Li-Cheng Tang*

Department of Entomology, National Chung Hsing University, Taichung 402, Taiwan

* Corresponding email: lctang@dragon.nchu.edu.tw

Received: 12 February 2017 Accepted: 18 September 2017 Available online: 3 November 2017

ABSTRACT

The pathogenicity of the entomopathogenic nematode, *Steinernema taiwanensis* strain T39, isolated from Taiwan was determined using bioassays against two noctuids, *Spodoptera litura* and *Spodoptera exigua*. When incubated both noctuid larvae after the inoculation with the nematode suspension at different temperatures, the results showed that, although mortalities varied within host species, the optimum temperatures for *S. taiwanensis* infection were 25-30°C. However, the inoculated larvae of both insect species did not exhibit any mortality at temperatures below 20°C. Inoculation of *S. litura* larvae with three concentrations of *S. taiwanensis* did not reveal any significant difference in cumulative mortalities among various treatments; however, the median lethal time (LT_{50}) values of fifth and sixth instar larvae fed on the diets without antiseptics were shorter than those on the antiseptic-containing diets. The LT_{50} values of fifth instar larvae fed on the diets with or without antiseptics after inoculation with *S. taiwanensis* at 20 IJs/mL were 37.9 and 39.9 h, respectively, whereas those of sixth instar larvae inoculated with the nematode at 25 IJs/mL were 27.0 and 28.4 h, respectively. In the other assay with *S. exigua* fed on diets without antiseptics, the cumulative mortalities caused by inoculation with *S. taiwanensis* at 20 IJs/mL were not significantly different; however, the LT_{50} value was ca. 27.2 h, which was shorter than that of *S. litura*, indicating that *S. taiwanensis* can kill *S. exigua* faster than *S. litura*. Therefore, it is suggested that *S. taiwanensis* is pathogenic to the larvae of both noctuid species.

Key words: entomopathogenic nematode, pathogenicity, *Spodoptera litura*, *Spodoptera exigua*