



Research Article

## Introduction of three native entomopathogenic nematodes of Iran and their impact on honeycomb moth

Elmira Abootorabi<sup>1</sup>✉, Laleh Ebrahimi<sup>2</sup>

1. Department of Nematology, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran.
2. Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

2. Received: 11.21.2021

Accepted: 04.26.2022

Abootorabi E, Ebrahimi L (2022) Introduction of three entomopathogenic nematodes of Iran and their impact on honeycomb moth. *Plant Pathology Science* 11(1):89-99.

Doi: 10.2982/PPS.11.1.89.

### Abstract

**Introduction:** The aim of this study was to collect and identify entomopathogenic nematodes native to Iran and to evaluate their pathogenicity on honeycomb moth larvae (*Galleria mellonella*). **Materials and Methods:** Thirteen isolates of entomopathogenic nematodes were collected from different provinces of Iran and identified based on morphological characters. The percentage mortality of *G. mellonella* larvae infected with these isolates at  $25 \pm 1$  and  $32 \pm 1$  °C was determined in a one-to-one assay, and the ability of the isolates to find a target and the mortality of the insect in the sand column test were determined. **Results:** Seven isolates of *Heterorhabditis bacteriophora*, two isolates of *Steinernema feltiae*, and five isolates of *S. carpocapsae* were identified. The ability of isolates of all three nematode species to penetrate the insect's body has been shown to be up to 93% within 48-72 hours post-infection at  $25 \pm 1$  °C. The optimum temperature for the biological activity of the identified isolates was  $25 \pm 1$  °C. *S. carpocapsae* found a target faster than the other two species in the sand column test. **Conclusion:** Isolates of *S. carpocapsae* have higher potential in targeting and pathogenicity of honeycomb moth larvae than the other two nematode species.

**Keywords:** Honeycomb moth, *Heterorhabditis*, *Steinernema*

✉ Corresponding author: elabootorabi@gmail.com

مقاله پژوهشی

## معرفی سه نماتد بیمارگر حشرات بومی ایران و تاثیر آنها بر شب‌پره موم‌خوار زنبورعسل

المیرا ابوترابی<sup>۱</sup>، لاله ابراهیمی<sup>۲</sup>

۱- بخش تحقیقات نماتدشناسی، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران

۲- بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش  
کشاورزی، تهران

پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۰۶

دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۳۰

ابوترابی ا، ابراهیمی ل (۱۴۰۰) معرفی سه نماتد بیمارگر حشرات بومی ایران و تاثیر آنها بر شب‌پره موم‌خوار  
زنبورعسل. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۱۱(۱): ۸۹-۹۹.  
Doi: 10.2982/PPS.11.1.89.

### چکیده

**مقدمه:** این پژوهش با هدف جمع‌آوری و شناسایی نماتدهای بیمارگر حشرات بومی ایران و ارزیابی قدرت بیمارگری آنها روی لارو شب‌پره موم‌خوار زنبورعسل (*Galleria mellonella*)، اجرا شد. **مواد و روش‌ها:** سیزده جدایه نماتدهای بیمارگر حشرات از استانهای مختلف ایران جمع‌آوری و بر اساس صفات ریختی، شناسایی شدند. درصد مرگومیر لارو *G. mellonella* آلوده شده به این جدایه‌ها در دمای  $25 \pm 1$  و  $32 \pm 1$  درجه سلسیوس در آزمایش یک به روی یک و هدف‌یابی جدایه‌ها و درصد تلفات آفت در آزمایش ستون شنی، تعیین شدند. **یافته‌ها:** هفت جدایه نماتدها *Heterorhabditis bacteriophora*، دو جدایه *Steinernema feltiae* و پنج جدایه *Steinernema carpocapsae* شناسایی شدند. توانایی نفوذ جدایه‌های هر سه گونه نماتد به بدن حشره، ظرف مدت ۲۲-۴۸ ساعت پس از آلودگی در دمای  $25 \pm 1$  درجه سلسیوس و بیمارگری جدایه‌ها، تا ۹۳ درصد ثابت شد. دمای بهینه برای فعالیت زیستی جدایه‌های شناسایی شده،  $25 \pm 1$  درجه سلسیوس بود. سرعت هدف‌یابی گونه *S. carpocapsae* در مقایسه با دو گونه دیگر در آزمایش ستون شنی، بیشتر بود. **نتیجه‌گیری:** جدایه‌های *S. carpocapsae* نسبت به دو گونه دیگر نماتد توان بالاتری در هدف‌یابی و بیمارگری لارو شب‌پره موم‌خوار زنبورعسل دارند.

**واژگان کلیدی:** شب‌پره موم‌خوار، *Steinernema Heterorhabditis*

### Introduction

مقدمه

نماتدهای بیمارگر حشرات (Entomopathogenic nematodes. EPN) از جمله عوامل کنترل‌کننده بیولوژیک مفید و کم‌ضرر برای انسان و موجودات غیر هدف می‌باشند. در حال حاضر دو جنس

✉ نویسنده مسئول: elabootorabi@gmail.com

1934 *Steinernema Filipjeve* و 1976 *Heterorhabditis Poinar* از مهم‌ترین نماتدهای مورد استفاده هستند که چندین دهه است که شناسایی شده‌اند (Poinar 1990). مرگ و میر حشرات در اثر آلودگی به نماتد، توسط یک باکتری همزیست با نماتد ( *Xenorhabdus* spp. Thomas and Poinar. ) 1979 همزیست با *Steinernematidae* و 1993 *Photorhabdus* Boemare et al. همزیست با (*Heterorhabditidae*) ایجاد می‌شود که لاروهای آلوده کننده نماتد در روده خود حمل می‌کنند و آنها را در همولنف حشرات رهاسازی نموده و موجب مرگ آنها می‌شوند (Akhurts and Boemare 1990). اولین گزارش این گروه از نماتدها در ایران با معرفی یک گونه *Heterorhabditis* با نام *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar. 1976 و یک گونه با نام *Steinernema anomali* از استان آذربایجان غربی بوده است (Parvizi et al. 1994). بیماری‌زایی گونه *S. feltiae* روی کرم گلوگاه انار *Ectomyeloides ceratoniae* موفقیت‌آمیز بوده است (Abootorabi 2011). گونه *S. feltiae* در شرایط آزمایشگاهی قادر است ۱۰۰ درصد لارو بید گوجه فرنگی (*Tuta absoluta*) را پارازیته نماید به‌طوریکه ۸۵ درصد لارو توتا در شرایط گلدانی مهار شد (Abootorabi and Farrokhi 2019).

بررسی تاثیر تنش دمایی روی نماتدهای بیمارگر حشرات، نشان داده که *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar. در مقایسه با *Steinernema feltiae* Filipjev. و *Steinernema carpocapsae* Weiser. تحمل بیشتری نسبت به افزایش دما (تا ۳۰ درجه سلسیوس) دارد و در دماهای پایین (۱۵-۱۰ درجه سلسیوس) کاهش فعالیت دارد. همچنین *S. feltiae* حساسیت چندانی نسبت به تغییر دما نداشته و *S. carpocapsae* در دمای ۲۵ درجه سلسیوس بهترین بازدهی را دارد (Brown and Gaugler 1997). مطلوب‌ترین دما در ارزیابی دامنه ترجیح دمایی دو جدایه *S. feltiae* و *H. bacteriophora*، دمای ۲۵ درجه سلسیوس و همچنین پایداری جدایه *H. bacteriophora* در دماهای بالای ۲۵ درجه سلسیوس گزارش شده است (Ebrahimi and Nickname 2012). این پژوهش با هدف جداسازی و شناسایی نماتدهای بیمارگر حشرات از برخی استان‌های کشور و مقایسه بیماری‌گری آنها روی میزبان آزمایشگاهی لارو شب‌پره موم‌خوار زنبورعسل (*Galleria mellonella* L. 1758) اجرا شد.

## Materials and Methods

## مواد و روش‌ها

### نمونه برداری

از خاک و پوشش گیاهی عمدتاً علف‌زارها، مراتع، جنگل‌ها، کنار رودخانه و باغهای میوه مناطق مختلف استان‌های همدان، کرمانشاه، اردبیل، گیلان و مازندران در فصلهای سرد سال نمونه برداری از اولین لایه

سطح زیرین پوشش گیاهی و مناطقی که پوشش گیاهی نداشت تا عمق ۳۰ سانتی متری خاک، صورت گرفت.

### جداسازی نماتدهای بیمارگر حشرات از خاک

مقدار ۲۰۰ گرم از هر یک از نمونه خاک‌های جمع‌آوری شده به داخل ظروف شیشه‌ای منتقل گردید. تعداد ۷ تا ۱۰ عدد لارو سن آخر شبیره، به هر شیشه اضافه شد و درب ظروف بسته شد. پس از ۲۴ ساعت لاروهای شبیره به طور روزانه بررسی و در صورت بی حرکت بودن از خاک خارج شدند. لاروهای مرده شبیره با استفاده از روش White trap مورد بررسی قرار گرفت (White 1927). پس از انتقال لاروهای مرده شبیره به داخل ظروف پتری ۵ سانتی متری حاوی کاغذ صافی، ظروف پتری در بسته، عایق شده با پارافیلیم در شرایط آزمایشگاهی ( $20 \pm 2^\circ\text{C}$ ) قرار داده شد و پس از ۷۲-۲۴ ساعت، در صورت آلودگی نمونه خاک به نماتد بیمارگر حشرات، لارو نماتد از لاشه میزبان خارج شد و روی لاشه و سطح داخلی درب پتری تجمع یافت. لاروهای نماتد پس از جمع‌آوری، برای انجام آزمایشات به یخچال با دمای  $5 \pm 2$  درجه سلسیوس منتقل شدند.

### شناسایی نماتدهای بیمارگر حشرات

لاروهای سن دوم آلوده‌کننده نماتد (II)، و لاروهای نر به روش دگریسه (De Grisse 1969) با افزودن سه مرحله فیکساتیو، تثبیت و به گلیسرین خالص منتقل شدند. جهت شناسایی، اسلایدهای میکروسکوپی دائم از لارو سن دوم نماتد و جنس نر تهیه شد. بر اساس مشخصات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی بدست آمده و با استفاده از منابع علمی (Stock and Goodrich 2012) جمعیت‌های جدا شده با کد مشخص در کلکسیون بخش تحقیقات نماتدشناسی نگهداری شد.

### پرورش لارو شب‌پره موم‌خوار زنبورعسل

در این مرحله از روش تغییر یافته Poinar (1975) استفاده شد. تخم‌گیری از شب‌پره‌ها با قرار دادن پنج تا ده جفت حشره بالغ با نسبت جنسی ۱:۱ در ظروف پلاستیکی پوشیده با کاغذ بادبزی انجام شد. پس از جفت‌گیری، تخم‌ها به محیط غذایی که شامل ۱۲۰۰ گرم آرد، ۱۵۰ گرم مخمر، ۱۲۰ گرم موم خالص، ۶۰۰ گرم عسل و ۵۰۰ میلی‌لیتر گلیسرین بود، انتقال یافت.

### آزمایشهای زیست‌سنجی نماتدها بر لارو شب‌پره

برای این منظور از دو روش ذیل بر اساس استانداردهای تعریف شده بهره‌گیری شد:

**روش یک به روی یک:** در این روش از پلیت ۲۴ چاهکی پوشیده با کاغذ صافی استفاده شد. تعداد ۱۲ لارو سن آخر شب‌پره با فاصله یکی در میان به چاهک‌ها انتقال یافت و به میزان دو میلی‌لیتر سوسپانسیون حاوی تعداد ۱۰۰ لارو نماتد از جدایه‌های مورد آزمایش، به هر چاهک اضافه و درب

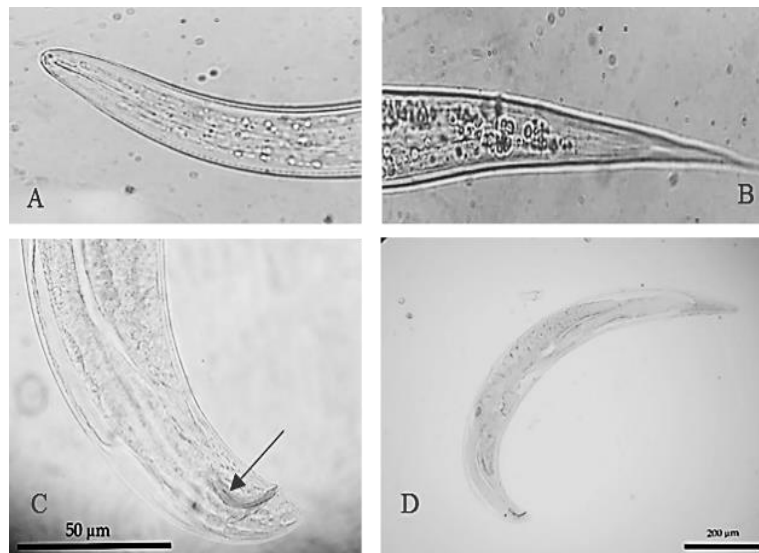
چاهک پوشانده شد. پلیت‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای  $25 \pm 1$  و  $32 \pm 1$  درجه سلسیوس نگهداری شدند (Miller 1989). درصد خروج لارو نماتد از لاشه آفت و مرگ و میر لارو شب‌پره آلوده به جدایه‌های نماتد به نسبت تعداد کل حشرات تعیین شد.

**روش ستون ماسه:** در این روش از ویال‌های پلاستیکی به طول ۱۸ سانتی‌متر با قطر دهانه ۲ سانتی‌متر، استفاده شد. درون هر ویال یک لارو سن چهار شب‌پره قرار داده، داخل آن تا ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر با ماسه سترون مرطوب پر شد. سوسپانسیون حاوی تعداد ۱۰۰ لارو نماتد در دو میلی‌لیتر آب از هر جدایه شمارش نموده و داخل هر ویال تلقیح گردید (Griffin and Downes 1994). برای هر جدایه چهار تکرار در نظر گرفته شد. ویال‌ها در دمای آزمایشگاهی نگهداری شدند. پس از ۴۸ ساعت تعداد لاروهای مرده شب‌پره شمارش شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین داده‌ها به روش مقایسه چند دامنه‌ای دانکن، انجام شد.

## Results

## یافته‌ها

در این بررسی، از مجموع تعداد ۲۵۲ نمونه خاک جمع‌آوری شده از مناطق مختلف پنج استان، تعداد ۱۳ سویه نماتد جداسازی و با توجه به صفات ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی و بر اساس کلیدهای شناسایی Adams and Nguyen (2002) و توصیف گونه‌های جنس *Steinernema* و *Heterorhabditid*، ۶ جدایه متعلق به جنس *Heterorhabditid* که از نمونه خاک‌های استان همدان



شکل ۱. نمای میکروسکوپی از سر (A) و دم (B) لارو سن دوم و نر بالغ (C) و اسپیکول نر (D) در گونه منتخب *Steinernema carpocapsae*.

**Figure 1.** The microscopic view of head (A) and tail (B) of juvenile and mature of male in selected species *Steinernema carpocapsae*.

به‌عنوان (Ab, S.kh, Yf)، گیلان (PK)، و کرمانشاه (KC3, KB2) جداسازی شده بود، به‌عنوان گونه *H.bacteriophora* ۷ جدایه متعلق به جنس *Steinernema* که تعداد ۵ جدایه به‌عنوان گونه (NO15, S.G1, 3P) از نمونه خاک‌های استان اردبیل (NO15, S.G1, 3P) (شکل ۱)، کرمانشاه (KA1) و گیلان (Saf)، و ۲ جدایه به‌عنوان گونه *Steinernema feltiae* از نمونه خاک‌های استان گیلان (RS) و اردبیل (S.f.E)، شناسایی شدند (جدول ۱).

**جدول ۱.** مشخصات جغرافیایی زیستگاه جدایه‌های نماتدهای بیمارگر حشرات جداسازی شده از برخی استانهای کشور.

**Table 1.** The geographic characteristic of isolates of entomopathogenic nematode from some of the provinces of the country.

(Species)	(Isolates)	(Region)	(Host plants)	(GPS)
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Ab	Hamadan. Asad Abad	Forest	N:3454.59 E:4319.095
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	S.kh	Hamadan.Ekbatan Dam	Garden fruit	N:3603.3908 E:5118.660
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Yf	Hamadan. Akbar Abad	Cherry trees	N:3443.7975 E:4836.6089
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	KB2	Kermanshah. Koolehsavar	Alfaalfa field	N:3414.630 E4642.104
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	KC3	Kermanshah. Sahneh	Plain	N: 3422.848 E: 4716.664
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	PK	Gilan. Perkapasht	Sefid rood	N:3719.7017 E:4956.6428
<i>Steinernema feltiae</i>	S.f.E	Ardabil.Moghan plain		
<i>Steinernema feltiae</i>	RS	Gilan. Rostam Abad	Plain	N:3655.3653 E:4929.9229
<i>Steinernema carpocapsae</i>	Saf	Gilan. Ashrafiyeh	Sanoobar tree	N:3720.0270 E:4957.9132
<i>Steinernema carpocapsae</i>	KA1	Kermanshah. Komeycheh	Meadow	N:3421.592 E:4716.335
<i>Steinernema carpocapsae</i>	3P	Ardabil.Pirayvatloo	Gramineae	N:393715.4 E:474703.6
<i>Steinernema carpocapsae</i>	NO15	Ardabil. Oltan	Alfaalfa	N:393616.5 E:474649.6
<i>Steinernema carpocapsae</i>	S.G1	Ardabil. Doostkandy village	Acanthus	N:394039.0 E:475807.7



*Steinernema feltiae*



*Steinernema carpocapsae*



*Heterorhabditis bacteriophora*

شکل ۲. تغییر رنگ لارو *Galleria mellonella* آلوده به گونه‌های مختلف نماتد بیمارگر حشرات.  
**Figure 2.** The change of color in *Galleria mellonella* infected by species of entomopathogenic nematodes.

### یافته‌های آزمایش‌های زیست‌سنجی نماتدها بر لارو شبپره

تغییر رنگ لارو شبپره به نخودی، زرد یا قهوه‌ای نمایانگر آلودگی لارو به گونه‌های *Steinernema* و تغییر رنگ به قرمز مایل به قهوه‌ای تا قرمز آجری که در تاریکی با ساطع کردن نور همراه است، آلودگی لاروها به گونه *Heterorhabditis* را نشان می‌داد (شکل ۲).

تجزیه واریانس داده‌های آزمایش یک به روی یک که روند کلی آلودگی را بیان می‌کند، توانایی جدایه‌ها در ایجاد تلفات آفت هدف تا ۹۲/۳۱ درصد در دمای  $25 \pm 1$  درجه سلسیوس را نشان داد. در این دما، جدایه‌های مربوط به دو گونه *S. feltiae* و *S. carpocapsae*، ۴۸ ساعت پس از آلوده‌سازی، به شکل افراد نر و ماده بالغ در بدن آفت ظهور یافتند و در هشتمین روز پس از آلوده‌سازی، خروج لارو در لاشه مشاهده شد. بیشترین تعداد خروج جمعیت نماتد، مربوط به لاشه آلوده به جدایه *S. carpocapsae* بود که اختلاف معنی‌دار با تعداد لارو خروجی از لاشه آلوده به جدایه‌های *S. feltiae* داشت. تلفات حشره میزبان ناشی از جدایه‌های جنس *Steinernema* تا ۹۲ درصد بود. ۷۲ ساعت پس از آلوده‌سازی حشره با گونه *H. bacteriophora*، مرگ‌ومیر آفت هدف مشاهده شد که در چهارمین روز پس از آلودگی، افراد هرمافرودیت نسل اول و شش روز پس از آلودگی، افراد نر و ماده نسل دوم ظهور یافته و در دهمین روز پس از آلوده‌سازی، خروج لارو نماتد در سطح بدن لاشه مشاهده گردید. درصد تلفات لارو شبپره موم‌خوار ناشی از گونه *H. bacteriophora*، ۸۹ تا ۱۰۰ درصد مشاهده شد که بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با دو گونه دیگر بود. در دمای  $32 \pm 1$  درجه سلسیوس، ۴۸ ساعت پس از آلودگی، علی‌رغم وقوع مرگ‌ومیر حشره میزبان آلوده به جدایه‌های *S. feltiae* و *S. carpocapsae*، خروج لارو نماتد از سطح بدن لاشه مشاهده نگردید به این معنا که چرخه زیستی نماتد در بدن لاشه تکمیل نشده است، در حالیکه در

**جدول ۲.** میانگین درصد خروج لارو نماتد از بدن لاشه *Galleria mellonella* آلوده به جدایه‌های نماتد بیمارگر حشرات و درصد مرگ‌ومیر لارو شب‌پره در دماهای مورد آزمایش\*.

**Table 2.** Average of excised IJ (%) from cadaver of *Galleria mellonella* infected by isolates of entomopathogenic nematodes and Mortality (%) of them in temperatures of experiment.

Species	Isolate	One by One				Sandy column Mortality(%)
		25±1 ° c		32±1 ° c		
		IJ(%)	Mortality(%)	IJ(%)	Mortality(%)	
<i>Steinernema carpocapsae</i>	SG1	31703 bc	89.01 abc	-	-	100 a
<i>Steinernema carpocapsae</i>	3P	34804 ab	82.85bc	-	-	100 a
<i>Steinernema carpocapsae</i>	Saf	32810 abc	92.31ab	-	-	92.5ab
<i>Steinernema carpocapsae</i>	NO15	31470 c	80.35 c	-	-	100 a
<i>Steinernema carpocapsae</i>	KA1	32890 abc	80.35 c	-	-	90a
<i>Steinernema feltiae</i>	R.S	25693 ed	9615 a	-	-	100 a
<i>Steinernema feltiae</i>	S.f.E	27589 d	89.01abc	-	-	91.1 ab
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	AB	34797 ab	85.71 abc	33963 a	86.19 b	87.5ab
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	KB2	33600 abc	8285bc	34013 a	85.71 b	87.8ab
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	P.K	33500 abc	92.31ab	33790 a	89.01 ab	37d
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Yal	33187 abc	89.01abc	33477 a	92.30 ab	85bc
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	KC3	33133 abc	89.01abc	33157 a	82.71 b	100 a
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	S.Kh	32260 abc	92.31 ab	35148 a	85.71 b	100 a

\*اعداد دارای حروف غیرمشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ دارند.

نمونه‌های آلوده به جدایه‌های *H. bacteriophora*، لاروهای نماتد، هشت روز پس از آلودگی از بدن لاشه، خارج شدند (جدول ۲). در آزمایش ستون شنی، ۷۲-۴۸ ساعت پس از آلوده سازی آفت هدف توسط جدایه‌های نماتد بیمارگر، تلفات لارو شب‌پره تا ۱۰۰ درصد مشاهده شد که این بیانگر توانایی جدایه‌ها در یافتن میزبان هدف و نفوذ به آن است. جدایه‌های متعلق به جنس *Steinernema* در زمان کمتری قادر به یافتن هدف و ایجاد تلفات در میزبان بودند و در مجموع درصد بالایی از آفت هدف را در فاصله زمانی کمتری در مقایسه با جدایه‌های جنس دیگر از بین بردند.

## Discussion

## بحث

یافته‌های شناسایی جدایه‌ها و مطابقت ویژگی‌های ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی آن‌ها با کلیدهای شناسایی معتبر، جدایه‌ها را به تفکیک منطقه نمونه‌برداری، به سه گونه *S. feltiae*، *H. bacteriophora* و *S. carpocapsae* تقسیم‌بندی کرد. مقایسه مشخصات ریخت‌سنجی جدایه‌های درون‌گونه‌ای، اختلاف معنی‌داری را نشان نداد و جدایه‌های مربوط به هر گونه دارای ویژگی‌های مشابهی بودند. جهت زیست‌سنجی جدایه‌های بومی نماتدهای بیمارگر حشرات، شدت بیماری‌زایی آن‌ها که به معنای قدرت تولید بیماری عامل بیمارگر در عامل هدف یا آفت است ارزیابی شد. آزمایش زیستی، فعالیت نماتدها را با توجه به مراحل متفاوت در فرایند عفونت‌زایی رتبه‌بندی می‌کند. تلفات حشره میزبان ناشی از آلودگی به جدایه‌های دو جنس *Heterorhabditis* و *Steinernema* در دمای  $25 \pm 1$  درجه سلسیوس نشان داد که جدایه‌های جنس *Steinernema* با داشتن اختلاف معنی‌دار در مقایسه با *H. bacteriophora* باعث وقوع تلفات بیشتری در *G. mellonella* شدند. بر اساس مشاهدات و نتایج حاصل از این آزمایش، جدایه‌های هر سه گونه در دمای  $25 \pm 1$  درجه سلسیوس، قابلیت نفوذ و بیماری‌گری لارو آفت را داشتند و جدایه‌های جنس *Steinernema* به خصوص گونه *S. carpocapsae* سرعت عمل بیشتری در یافتن هدف و بیماری‌گری لارو آفت در مدت زمان کمتر و همچنین قدرت تکثیر بیشتری در بدن لاشه در مقایسه با جدایه‌های *H. bacteriophora* داشتند.

بنا به گزارشی، محققین در بقاء پنج جدایه *S. feltiae* در دمای ۵ و ۲۸ درجه سلسیوس نشان دادند که تمام جدایه‌ها در این دامنه دمایی، باعث مرگ‌ومیر ۱۰۰ درصد لارو شب‌پره شدند ولی در دمای ۲۸ درجه سلسیوس، تکثیر نماتد در بدن لاشه صورت نگرفت (Hazir et al. 2001). بنابراین نتایج حاصل از این بررسی با نتایج ارائه شده توسط آنها، مطابقت دارد. Wouts (1980)، در توصیف گونه *S. feltiae*، مرگ و میر *G. mellonella* آلوده به این نماتد را ۴۸ ساعت پس از آلوده‌سازی و ظهور افراد نر و ماده نسل اول را دو روز پس از آلوده‌سازی میزبان، اظهار نمود، همچنین Poinar (1975) در بیان زیست‌شناسی *H. bacteriophora*، مرگ‌ومیر حشره میزبان در اثر آلودگی به این نماتد را صرف‌نظر از دمای مورد آزمایش، ۷۲-۴۸ ساعت پس از آلودگی، ظهور افراد هرمافرودیت نسل اول را سه تا چهار روز پس از آلودگی و ظهور افراد نر و ماده نسل دوم را پنج تا شش روز پس از آلودگی، بیان کرده‌اند که مؤید نتایج حاصل از این بررسی در دمای  $25 \pm 1$  درجه سلسیوس است. در دمای  $32 \pm 1$  درجه سلسیوس، از هیچ لاشه آلوده به جدایه‌های *S. feltiae* و *S. carpocapsae*، نماتدی خارج نشد و چرخه زیستی کامل نگردید و حال اینکه در همین دما، جدایه‌های *H. bacteriophora* در داخل لاشه به خوبی تکثیر شدند و از لاشه تمام حشرات تیمار شده، خروج لارو مشاهده شد. در یک بررسی، از تأثیر چهار

رژیم دمایی ۴، ۱۵، ۲۴ و ۳۰ درجه سلسیوس روی نشو و نمای جدایه‌های ایرانی *S. feltiae* و *H. bacteriophora* روی لارو سن آخر *Galleria mellonella* به نتایج مشابهی دست یافتند و سازگاری جدایه‌ای از *H. bacteriophora* به دمای بالاتر در مقایسه با *S. feltiae* را گزارش نمودند (Ebrahimi and Niknam 2012). نماتدهای متحرک از جمله گونه‌های جنس *Heterorhabditis* به یافتن میزبان ساکن تمایل دارند. نماتدهای گونه *S. carpocapsae* از استراتژی کمین استفاده کرده و به محض مواجهه با آفت هدف، آن را از پا در می‌آورند (Grewal et al. 2008). بنابراین نتایج حاصل از این بررسی، بیانگر قابلیت بیشتر جدایه‌های گونه *S. carpocapsae* در هدف‌یابی و بیمارگری آفت هدف در مقایسه با جدایه‌های متعلق به گونه *H. bacteriophora* در فاصله زمانی کوتاه‌تر است.

## Conclusion

## نتیجه‌گیری

یافته‌های این تحقیق مشابهت جدایه‌های درون‌گونه‌ای را به لحاظ ویژگی‌های ریختی و رفتاری نشان داد و مقایسه جدایه‌های مربوط به سه گونه شناسایی شده، موید سازگاری مطلوب گونه *S. carpocapsae* با پارامترهای متفاوت زیستی است. همچنین، نتایج حاصل بیان کرد که دمای بهینه برای بقاء گونه‌های شناسایی شده در جدایه‌های مورد آزمایش، دمای  $25 \pm 1$  درجه سلسیوس است و ارزیابی روند تکامل زیستی نماتد و تکثیر آن در بدن لاشه در مقایسه جدایه‌های سه گونه *H. bacteriophora*، *S. feltiae* و *S. carpocapsae*، بیانگر سازگاری بیشتر جدایه‌های جنس *Steinernema* با دمای مذکور و بالاتر بودن تعداد لارو آلوده تکثیر شده در لاشه و درصد تلفات ناشی از آن در حشره میزبان در جدایه بومی *S. carpocapsae* نسبت به جدایه‌های دو گونه دیگر است.

## References

## منابع

1. Abootorabi E (2011). The Control Feasibility of *Ectomyeloides ceratoniae* by Entomopathogenic nematode. National Pomegranate Symposium, Ferdows, Iran. P.28.
2. Abootorabi E , Farrokhi Sh (2019). Efficacy of a native isolate of *Steinernema feltiae* on tomato leafminer (*Tuta absoluta*) under laboratory and greenhouse conditions. *Biocontrol in Plant Protection* 6:31-41.
3. Adams BJ, Nguyen KB (2002). Taxonomy and Systematics. PP.1-34. In: R Gaugler (ed.). *Entomopathogenic Nematology*. CABI Publishing.
4. Akhurts RJ, Boemare NE (1990). Biology and Taxonomy of *Xenorhabdus*. PP. 75-90. In: R Gaugler, H K Kaya (eds.). *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. CRC Press, Boca Raton.
5. Bedding R, Molyneux A (1982). Penetration of insect cuticle by infective juveniles of *Heterorhabditis* spp. (*Heterorhabditidae*: *Nematoda*). *Nematologica* 28:354-359.

6. Brown L, Gaugler R (1997). Temperature and humidity influence emergence and survival of entomopathogenic nematodes. *Nematologica* 43:363-375.
7. De Grisse A (1969). Redescription ou modifications de quelques techniques utilisées dans l'étude des Nématodes Phytoparasitaires. *Meded, Rijksfaculteit der landbouwetenschappen. Gent* 34:251-369.
8. Ebrahimi L, Niknam G (2012). Detection of thermal preference range of two endemic isolates of entomopathogenic nematodes, *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora* for application in biological control of insect pests. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production* 21:77-86.
9. Grewal PS, Ehler RU, Shapiro-Ilan D I (2008). *Nematode as Biocontrol Agents*. CABI, Wallingford, UK, 528p.
10. Griffin CT, Downes MJ (1994). Recognition of low temperature active isolates of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis*. *Nematologica* 37:83-91.
11. Hazir S, Stock SP, Kaya HK, Koppenhofer AM, Keskin N (2001). Developmental temperature effects on five geographic isolates of entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 77:243-250.
12. Miller R (1989). Novel pathogenicity assessment technique of *Steinernematids* and *Heterorhabditis* entomopathogenic nematodes. *Journal of Nematology* 21:574.
13. Parvizi R, Barooti Sh, Adldoost H (1994). Report on insect parasitic nematodes in Iran. *Journal of Plant Pests and Diseases* 62:109.
14. Poinar GO (1975). Description and biology of a new insect parasitic rhabditoid, *Heterorhabditis bacteriophora* n. gen., n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae n. fam.). *Nematologica* 21:463-470.
15. Poinar GO (1990). Taxonomy and Biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. Marcel Dekker, New York, USA Pp:23-61.
16. Stock SP, Goodrich-Blair H (2012). Nematode parasites, pathogens and associates of insects and invertebrates of economic importance. *Manual of Techniques in Insect Pathology*. Academic Press, San Diago. Pp.373-426.
17. White GF (1927). A method for obtaining nematode infected larvae from cultures. *Science* 66:302-303.
18. Wouts WM (1980). Biology, life cycle and redescription of *Neoplectana bibionis* Bovien, 1937 (Nematoda: Sternematidae). *Journal of Nematology* 12:62-71.