The University of Tehran Press

Biological Control of Pests and Plant Diseases

Online ISNN: 2322-2883

Homepage: https://jbiocontrol.ut.ac.ir/

Compatibility of two native isolates of entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* IRMoghan1 and *Steinernema feltiae* with bio-rational insecticide Flubendiamide

Laleh Ebrahimi[1]✉

1. Corresponding Author, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. E-mail: ebrahimi.laleh@gmail.com

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 23 January 2024

Revised: 11 February 2024

Accepted: 11 February 2024

Published online: 22 December 2022

Keywords:

pathogenicity,

bio-rational insecticide,

compatibility,

biological control,

Steinernema sp.

ABSTRACT

One of the important aspects of the field application of entomopathogenic nematodes is their compatibility with common chemicals in agricultural systems. In this research, the effect of bio-rational insecticide, flubendiamide on the survival and pathogenicity of native entomopathogenic nematode isolates, *Steinernema carpocapsae* IRMoghan1 and *Steinernema feltiae* was evaluated. For the survival experiment, nematode suspensions (500 $IJml^{-1}$) were prepared in 150 ml recommended dose of flubendiamide (25 ppm) and at different time intervals (24, 48 and 72 hours and seven days) survival percentages of the nematodes were recorded. For the pathogenicity experiment, the nematodes that were exposed to the insecticide were used in the bioassay against *Galleria mellonella* (concentration of 150 IJ $Larvae^{-1}$) and the mortality of the insects was recorded after 72 hours. Based on the results of variance analysis, *S. carpocapsae* IRMoghan1 showed higher mortality compared to *S. feltiae* due to flubendiamide treatment ($P \leq 0.01$). Also, after 24 hours and 48 hours of treatment with flubendiamide, the lowest percentage of mortality and seven days after the treatment, the highest mortality rate of the nematodes were observed ($P \leq 0.01$). Statistical analysis of the bioassay results of nematodes recovered from different time treatments with flubendiamide insecticide on *G. mellonella* larvae showed no significant difference between two nematode isolates ($p>0.05$). Flubendiamide was considered compatible with and harmless (Class 1) to both native isolates according to IOBC/WPRS. Compatibility of the native isolates is a valuable characteristic for application development of EPNs in the country.

Cite this article: Ebrahimi, L. (2022). Compatibility of two native isolates of entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* IRMoghan1 and *Steinernema feltiae* with bio-rational insecticide Flubendiamide. *Biological Control of Pests and Plant Diseases*, 11 (2), 83-93. DOI: https://doi.org/10.22059/JBIOC.2024.371373.330

© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.

DOI: https://doi.org/10.22059/JBIOC.2024.371373.330

Extended Abstract

Entomopathogenic nematodes (EPNs) are obligate parasites of insects and some other arthropods that cause the death of their hosts with the help of their symbiotic bacteria. Those nematodes are valuable biological control agents for pests. The compatibility of EPNs with insecticides is of great importance to use the mixture in the tank of sprayers or the simultaneous use of nematodes with insecticides in the integrated pest management (IPM) systems. On the one hand, such compatibility leads to economic savings in the application of control agents, and on the other hand, increasing the pest control percentage due to the combination of nematodes with insecticides, without increasing the concentration of insecticides, achieves positive economic and environmental benefits. The compatibility of EPNs is a species and isolates specific characteristics. In this research, the effect of bio-rational insecticide on the survival and pathogenicity of infective juveniles (IJ) native isolates of EPNs, *Steinernema carpocapsae* IRMoghan1, and *Steinernema feltiae* was evaluated. For the

survival experiment, a suspension containing 500 IJml-1 of each nematode isolate was prepared in 150 milliliters of the recommended dose of flubendiamide (25 ppm). Then, five milliliters of the suspension were poured into Petri dishes (diameter 5.5 cm, in 30 Petri dishes). A similar concentration of IJ of both EPN isolates was prepared in distilled water and transferred into Petri dishes as a control. Petri dishes were sealed with Parafilm and incubated at 24 ± 1 °C in the dark for 24 hours, 48 hours, 72 hours, and seven days. At each time interval, five Petri dishes were examined for viability and pathogenicity of nematodes. For each treatment, in each time interval, 500 microliters of suspension were taken from Petri dishes in three replicates, and live and dead infecting larvae were counted under a stereomicroscope. Inactivated nematode larvae were considered dead if they remained motionless after stimulation. The experiment was repeated three times on three different days for each nematode isolate. The pathogenicity of the nematodes that were exposed to the flubendiamide was tested at each time interval. First, the prepared nematode-insecticide suspensions were washed three times with sterile distilled water to remove the insecticide residues. Then nematode suspension was prepared in distilled water (600 live and active nematode larvae per ml) for each treatment (each nematode isolate and control). Bioassay experiments on *Galleria mellonella* were performed in 12-well cell culture plates (length 12.3, width 8.25 and height 2.23 cm) which were covered with filter paper. In each well, 250 microliters of nematode suspension (150 IJ) and one last instar larva of *G. mellonella* were added. The plates were incubated at 24±1°C in the dark for 72 hours. Then, the mortality of *G. mellonella* larvae was recorded and to ensure the death of the insect due to nematode infection, the carcasses were dissected and the presence of nematodes inside the carcasses was confirmed. The results of variance analysis showed a significant difference in the percentage of mortality of two species of nematodes treated with flubendiamide insecticide ($p<0.001$) ; *S. carpocapse* IRMoghan1 showed higher mortality compared to *S. feltiae* due to flubendiamide treatment. Statistical analysis of the bioassay results of nematodes recovered from different time treatments with flubendiamide on *G. mellonella* larvae showed no significant difference between two nematode isolates ($p>0.05$), although both nematode isolates caused higher mortality on *G. mellonella* than the control without nematodes. The high percentage of mortality of the larvae in the bioassay with flubendiamide-treated EPNs indicates the high efficiency of native isolates. Based on the results the native EPN isolates showed a high compatibility with flubendiamide, which is a valuable advantage for both Iranian isolates.

نشریه کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی، دوره ۱۱، شماره ۲

انتشارات دانشگاه تهران

شاپا الکترونیکی: ۲۴۲۳-۸۰۹۰

Homepage: https://jbiocontrol.ut.ac.ir/

ارزیابی سازگاری دو جدایه بومی نماتدهای بیمارگر حشرات *Steinernema carpocapsae* IRMoghan1 و *Steinernema feltiae* با حشره‌کش زیست-پایه فلوبن-دیامید

لاله ابراهیمی ✉

۱. نویسنده مسئول، بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، تهران، ایران. رایانامه: ebrahimi.laleh@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۰۳

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۱/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۲۲

تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۱۰/۰۱

کلیدواژه‌ها:

بیماری‌زایی، حشره‌کش زیست-پایه، سازگاری، کنترل زیستی، Steinernema sp.

چکیده

یکی از جنبه‌های مهم کاربرد مزرعه‌ای نماتدهای بیماری‌زای حشرات، اطلاع از سازگاری آنها در ترکیب با آفت‌کش‌های شیمیایی رایج در سیستم کشاورزی مورد کنترل می‌باشد. در این تحقیق، اثر حشره‌کش زیست-پایه فلوبن‌دیامید روی زنده‌مانی و قدرت بیماری‌زایی دو جدایه بومی نماتدهای بیماری‌زای حشرات، *Steinernema carpocapsae* IRMoghan1 و *Steinernema feltiae* انجام شد. برای آزمون زنده‌مانی، سوسپانسیون نماتد (۵۰۰ لارو آلوده‌کننده نماتد در میلی‌لیتر) در ۱۵۰ میلی‌لیتر دوز توصیه‌شده محلول فلوبن‌دیامید (۲۵ پی‌پی‌ام) تهیه شد و در فواصل زمانی مختلف (۲۴ ، ۴۸ و ۷۲ ساعت و هفت روز) درصد زنده‌مانی نماتدها ثبت گردید. در آزمون بیماری‌زایی، نماتدهایی که در معرض حشره‌کش قرار گرفتند، در زیست‌سنجی علیه *Galleria mellonella* (غلظت ۱۵۰ لارو آلوده‌کننده به ازای لارو حشره) استفاده شدند و مرگ‌ومیر حشره پس از ۷۲ ساعت ثبت شد. براساس نتایج تجزیه واریانس جدایه *S. carpocapse* IRMoghan1 نسبت به *S. feltiae* مرگ‌ومیر بالاتری را در اثر تیمار با فلوبن‌دیامید نشان داد ($P \leq 0.01$). پس از ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت تیمار با حشره‌کش فلوبن‌دیامید کمترین و هفت روز پس از تیمار، بیشترین میزان مرگ‌و میر نماتدها مشاهده گردید ($P \leq 0.01$). تجزیه آماری نتایج زیست‌سنجی نماتدهای بازیابی شده از تیمارهای زمانی مختلف با حشره‌کش فلوبن‌دیامید روی لاروهای *G. mellonella* نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار میان دو جدایه نماتد بود ($p>0.05$). براساس گروه‌بندی IOBC/WPRS، فلوبن‌دیامید نسبت به هر دو جدایه نماتد بی‌ضرر و سازگار بوده و در گروه یک (class 1) قرار گرفت. سازگاری جدایه‌های بومی ویژگی ارزشمندی در توسعه کاربرد این نماتدها در کشور می‌باشد.

استناد: ابراهیمی، لاله (۱۴۰۱). ارزیابی سازگاری دو جدایه بومی نماتدهای بیمارگر حشرات *Steinernema carpocapsae* IRMoghan1 و *Steinernema feltiae* با حشره‌کش زیست-پایه فلوبن‌دیامید. *نشریه کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی*، ۱۱ (۲)، ۹۳-۸۳. DOI: https://doi.org/10.22059/JBIOC.2024.371373.330

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: https://doi.org/10.22059/JBIOC.2024.371373.330

مقدمه

نماتدهای بیمارگر حشرات عوامل بسیار ارزشمند کنترل زیستی آفات می‌باشند و در سال‌های اخیر امیدواری‌های زیادی را در محققین و تولیدکنندگان ایجاد نموده‌اند. این نماتدها، انگل‌های اجباری حشرات و برخی بندپایان دیگر هستند که با کمک باکتری هم‌زیست‌شان باعث مرگ میزبان‌های خود می‌شوند (Koppenhöfer *et al*. 2020). پیشرفت‌های اخیر در زمینه جنبه‌های مختلف زیست‌شناسی، تولید و فرمولاسیون نماتدهای بیماری‌زای حشرات می‌تواند به کاربردی شدن پتانسیل عظیم آن‌ها به عنوان عوامل کنترل زیستی اشباعی مؤثر، کاربردی و به نسبت ارزان آفات کشاورزی کمک نماید. این نماتدها علیه آفات حشره‌ای بی‌شماری در بسیاری از محیط‌ها مؤثر و کارآمد هستند، و نماتدهای تولید شده به صورت انبوه، موفقیت‌های تجارتی قابل قبول در بازارهای مختلف و محصولات با ارزش به دست آورده‌اند (Koppenhöfer *et al*. 2020 ;۲۰۰۲ *et al*. Shapiro Ilan).

نماتدهای بیماری‌زای حشرات اغلب همراه با آفت‌کش‌های شیمیایی، اصلاح کننده‌های خاک و کودها استفاده می‌شوند. لاروهای آلوده‌کننده (IJs[1]) نماتدهای بیماری‌زای حشرات نسبت به مواجهه کوتاه مدت (دو تا شش ساعت) با اغلب کنه‌کش‌ها، قارچ‌کش‌ها، علف‌کش‌ها و حشره‌کش‌ها متحمل می‌باشند (Alumai & Grewal 2004; Nalinci *et al*. 2021; Jean-Baptiste *et al*. 2021)؛ بنابراین می‌توان این نماتدها را به طور همزمان با آفت‌کش‌های دیگر استفاده کرد. با این حال، مطالعات قبلی نشان داده‌اند که برخی از آفت‌کش‌ها می‌توانند زنده‌مانی و قدرت بیماری‌زایی نماتدهای بیماری‌زای حشرات را کاهش دهند (Alumai & Grewal 2004).

مینوز برگ گوجه فرنگی (*Phthorimaea absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)، که تا این اواخر به عنوان *Tuta absoluta* (Chang & Metz 2021) شناخته می‌شد، یک آفت ویرانگر است که به سرعت گسترش یافته و اکثر کشورهای اروپایی، آفریقایی و آسیایی را آلوده کرده و تهدیدکننده تولید گوجه فرنگی در سراسر جهان است (Husin & Port 2021; Desneux *et al*. 2022). حساسیت بالای شب‌پره مینوز گوجه فرنگی به گونه‌های مختلف نماتدهای بیماری‌زای حشرات در مطالعه‌های متعددی گزارش شده است (Batalla-Carrera *et al*. 2010; Garcia-del-Pino *et al*. 2013; Turkoz & Kaskavalci 2016; Van (Damme *et al*. 2016; Ndereyimana *et al*. 2020. در ایران نیز بررسی‌ها نشان‌دهنده موفقیت جدایه‌های بومی نماتدهای بیماری‌زای حشرات در کنترل این آفت بود (Ebrahimi *et al*. 2023; Amizadeh *et al*. 2019; Abutorabi & Farrokhi 2019)

فلوبن‌دیامید یک حشره‌کش زیست-پایه است و یکی از حشره‌کش‌های رایجی است که در ایران علیه *Ph. absoluta* استفاده می‌شود. فلوبن‌دیامید از گروه حشره‌کش‌های دیامید است که علیه طیف وسیعی از آفات بال‌پولکدار بسیار فعال هستند، دارای سمیت حاد پایین علیه پستانداران هستند و مشخصات محیطی مطلوبی را نشان می‌دهد و می‌تواند در برنامه‌های مدیریت یکپارچه آفات مورد استفاده قرار گیرند (Campos *et al*. 2015). کارایی بالای حشره‌کش فلوبن‌دیامید روی مینوز برگ گوجه‌فرنگی در ایران قبلا گزارش شده است (Sheikhi Garjan *et al*. 2018; Ashtari *et al*. 2019).

سازگاری نماتدهای بیماری‌زای حشرات با حشره‌کش‌ها با هدف کاربرد مخلوط در مخزن سمپاش‌ها یا کاربرد همزمان نماتدها با حشره‌کش‌ها در سیستم‌های مدیریت تلفیقی آفات (IPM) دارای اهمیت بالایی هست. چنین سازگاریی از یک سو منتهی به صرفه‌جویی اقتصادی در مرحله کاربرد عوامل کنترلی می‌گردد و از سوی دیگر، با افزایش میزان کنترل آفات در اثر تلفیق نماتد با حشره‌کش، بدون افزایش غلظت حشره‌کش اثرات مثبت اقتصادی و زیست- محیطی به دنبال دارد. سازگاری نماتدهای بیماری‌زای حشرات یک ویژگی اختصاصی گونه و جدایه است (Laznik & Trdan 2014). این تحقیق با هدف بررسی سازگاری جدایه‌های بومی نماتدهای بیماری‌زای حشرات با فلوبن‌دیامید انجام یافت.

1. Infective Juveniles

روش‌شناسی پژوهش

نماتدهای بیماری‌زای حشرات

دو جدایه نماتد در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. جدایه اول *S. carpocapsae* IRMoghan1 که از منطقه مغان جداسازی و در پایگاه داده NCBI (مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی) با رس‌شمار MF187616 ثبت شده است (Ebrahimi *et al.* 2019) و جدایه دیگر، *Steinernema feltiae* بود که از منطقه سردرود جداسازی شده است (Ebrahimi *et al.* 2011). برای تکثیر، نماتدها روی لاروهای سن آخر شب‌پره موم‌خوار بزرگ، *Galleria mellonella* کشت داده شدند (Woodring & Kaya 1988). لاروهای آلوده‌کننده در یک فلاسک کشت سلولی ۶۰ میلی‌لیتری در آب مقطر در دمای شش درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و در یک هفته پس از برداشت در آزمایش‌ها استفاده شدند. قبل از شروع آزمایش‌ها، نماتدها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق سازگار شدند.

حشره‌کش

محلول حشره‌کش فلوبن‌دیامید، Flubendiamide 20 WG (Takumi,Tata Rallis Limited) با آب مقطر استریل تهیه شد.

اثر حشره‌کش فلوبن‌دیامید بر زنده ماندن و بیماری‌زایی نماتدهای بیمارگر حشرات

زنده ماندن و بیماری‌زایی لاروهای آلوده‌کننده دو جدایه نماتد که در معرض حشره‌کش قرار گرفته بودند، مورد ارزیابی قرار گرفت. به طور خلاصه، سوسپانسیون حاوی ۵۰۰ لارو آلوده‌کننده به ازای هر میلی‌لیتر آب مقطر از هر جدایه نماتد در ۱۵۰ میلی‌لیتر دوز توصیه شده محلول فلوبن‌دیامید (۲۵ پی‌پی ام) تهیه شد. سپس پنج میلی‌لیتر از سوسپانسیون به داخل ظروف پتری (قطر ۵/۵ سانتی‌متر، در ۳۰ عدد ظرف پتری) ریخته شد. غلظت مشابهی از لاروهای آلوده‌کننده دو جدایه نماتد در آب مقطر تهیه شد و به عنوان شاهد به داخل ظروف پتری منتقل شد. ظروف پتری با پارافیلم بسته شدند و در دمای ۱ ± ۲۴ درجه سانتی‌گراد در تاریکی به مدت ۲۴ ساعت، ۴۸ ساعت، ۷۲ ساعت و هفت روز انکوبه شدند. در هر بازه زمانی، پنج دیش پتری از نظر زنده ماندن و دو پتری دیش از نظر بیماری‌زایی نماتدها مورد بررسی قرار گرفت. در ارزیابی زنده‌مانی، برای هر تیمار، در هر بازه زمانی، ۵۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون از ظروف پتری در سه تکرار گرفته شد و لاروهای آلوده‌کننده زنده و مرده در زیر استریومیکروسکوپ شمارش شدند. لاروهای نماتد غیرفعال اگر پس از تحریک، بی‌حرکت بودند مرده در نظر گرفته می‌شدند. آزمایش برای هر جدایه نماتد سه بار در سه روز مختلف تکرار شد.

بیماری‌زایی نماتدهایی که در معرض حشره‌کش قرار گرفتند، در هر بازه زمانی مورد آزمایش قرار گرفت. ابتدا سوسپانسیون‌های نماتد- حشره‌کش تهیه‌شده سه بار با آب استریل شستشو داده شد تا بقایای حشره‌کش حذف شود. سپس سوسپانسیون نماتد در آب مقطر (۶۰۰ لارو زنده و فعال نماتد به ازای هر میلی‌لیتر) برای هر تیمار (هر یک از جدایه‌های نماتد و شاهد) تهیه شد. آزمایش‌های زیست‌سنجی روی *G. mellonella* در پلیت‌های کشت سلول ۱۲ چاهکی (طول ۱۲/۳، عرض ۸/۲۵ و ارتفاع ۲/۲۳ سانتی‌متر) که با کاغذ صافی پوشانده شده بودند، انجام شد. در هر چاهک ۲۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون نماتد (۱۵۰ لارو آلوده‌کننده) و یک لارو سن آخر *G. mellonella* اضافه شد. پلیت شاهد به جای سوسپانسیون نماتد، آب مقطر استریل دریافت کرد. پلیت‌ها در دمای ۱±۲۴ درجه سانتی‌گراد در تاریکی به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شدند. سپس مرگ‌ومیر لاروهای *G. mellonella* ثبت شد و برای اطمینان از مرگ حشره در اثر آلودگی به نماتد، لاشه‌ها تشریح و از وجود نماتد در داخل لاشه اطمینان حاصل شد. آزمایش سه بار تکرار شد.

تجزیه آماری

آزمایش در قالب فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. عامل نماتد در دو سطح (جدایه *S. carpocapsae* IRMoghan1 و *S. feltiae*) و عامل زمان در چهار سطح (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و هفت روز) در سه تکرار بررسی گردید. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها به روش توکی، با کمک نرم افزار SAS انجام گرفت (SAS Institute 2012). برای اصلاح مرگ‌ومیر براساس شاهد از فرمول ابوت (Abbott 1925) استفاده شد.

یافته‌های پژوهش

نتایج تجزیه واریانس نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار درصد مرگ‌و میر دو گونه نماتد تیمار شده با حشره‌کش فلوبن‌دیامید بود (df=1, 14; F value=1203.62, p<0.001)؛ به طوری که جدایه *S. carpocapsae* IRMoghan1 نسبت به *S. feltiae* مرگ‌ومیر بالاتری را در اثر تیمار با فلوبن‌دیامید نشان داد. تفاوت میان مدت زمان‌های مختلف تیمار با حشره‌کش نیز از نظر ایجاد مرگ‌ومیر روی نماتدهای مورد بررسی از نظر آماری معنی‌دار بود (df=3, 14; F value=1574.07, p<0.001)؛ پس از ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت تیمار با حشره‌کش فلوبن‌دیامید کمترین درصد مرگ‌ومیر (بدون تفاوت معنی‌دار) و پس از هفت روز تیمار با این حشره‌کش، بیشترین میزان مرگ‌ومیر نماتدها مشاهده گردید. اثر متقابل زمان و جدایه نماتد نیز معنی‌دار بود (df=3, 14; F value=758.07, p<0.001). مقایسه میانگین درصد مرگ‌ومیر لاروهای آلوده‌کننده دو گونه نماتد در چهار مدت زمان تیمار متفاوت در جدول (۱) نشان داده شده است.

براساس گروه‌بندی IOBC/WPRS حشره‌کش‌ها از نظر ایجاد مرگ‌ومیر روی نماتدهای بیماری‌زای حشرات در ۲۴ الی ۴۸ ساعت پس از تیمار، به چهار گروه تقسیم می‌شوند: گروه (۱) بی‌ضرر (harmless): مرگ‌ومیر کمتر از ۳۰ درصد؛ گروه (۲) کمی مضر (slightly harmful): مرگ‌و میر بین ۳۰ تا ۷۹ درصد؛ گروه (۳) نسبتا مضر (moderately harmful): مرگ و میر بین ۸۰ تا ۹۹ درصد؛ گروه (۴) مضر (harmful): مرگ‌ومیر بیش از ۹۹ درصد (Vainio 1992; Peters 2003). با توجه به مرگ‌ومیر کمتر از ۵ درصد هر دو جدایه نماتد تا ۷۲ ساعت پس از تیمار، براساس گروه‌بندی IOBC/WPRS، فلوبن‌دیامید نسبت به هر دو جدایه نماتد بی‌ضرر و سازگار بوده و در گروه یک قرار گرفت

جدول ۱. میانگین مرگ‌ومیر لاروهای آلوده‌کننده نماتدهای بیماری‌زای حشرات تیمارشده با حشره‌کش فلوبن‌دیامید در مدت زمان‌های مختلف

جدایه نماتد بیماری‌زای حشرات	فاصله زمانی	درصد مرگ‌ومیر (خطای استاندارد±میانگین)
Steinernema carpocapsae IRMoghan1	۲۴ ساعت	۳/۱۹ ±۰/۲۹ c
Steinernema carpocapsae IRMoghan1	۴۸ ساعت	۳/۲۱ ±۰/۵۴c
Steinernema carpocapsae IRMoghan1	۷۲ ساعت	۳/۲۰ ±۰/۲۰c
Steinernema carpocapsae IRMoghan1	۷ روز	۲۶/۹۴ ±۱/۰۱a
Steinernema feltiae	۲۴ ساعت	۱/۴۵ ±۰/۰۵d
Steinernema feltiae	۴۸ ساعت	۱/۴۳ ±۰/۰۷d
Steinernema feltiae	۷۲ ساعت	۲/۸۹ ±۰/۲۹c
Steinernema feltiae	۷ روز	۶/۲۲±۰/۱۰b

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد براساس آزمون توکی می‌باشد.

تجزیه آماری نتایج زیست‌سنجی نماتدهای بازیابی شده از تیمارهای زمانی مختلف با حشره‌کش فلوبن‌دیامید روی لاروهای *G. mellonella* نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار میان دو جدایه نماتد بود (df=1, 14; F value=0.04, p>0.05)، هر چند هر دو جدایه نماتد نسبت به شاهد فاقد نماتد (۰ درصد)، مرگ‌ومیر بالاتری روی *G. mellonella* ایجاد نمودند. مدت زمان تیمار با حشره‌کش فلوبن‌دیامید نیز تاثیر معنی‌داری روی بیماری‌زایی هیچ یک از دو جدایه نماتد نداشت (جدول ۲).

بحث

گونه‌های مختلف نماتدهای بیماری‌زای حشرات از جمله *S. carpocapsae* و *S. feltiae* برای کنترل طیف وسیعی از آفات حشرات در اگرواکوسیستم‌های مختلف به کار می‌روند و زمانی که در شرایط مساعد استفاده شوند، این نماتدها می‌توانند به اندازه حشره‌کش‌های شیمیایی موثر باشند (Alumai & Grewal 2004; Koppenhöfer *et al.* 2020). سازگاری نماتدهای بیماری‌زای حشرات با نهاده‌های مختلف کشاورزی امکان اختلاط در مخزن ادوات اسپری‌کننده کشاورزی را افزایش داده و منجر به بهره‌وری اقتصادی می‌گردد و در مورد اختلاط با آفت‌کش‌ها، این سازگاری منتهی به اثرات هم‌افزایی و افزایش میزان کنترل آفات می‌گردد (Alumai & Grewal 2004; Abd-Elgawad 2023). هر چند، بررسی سازگاری برای جدایه‌ها و گونه‌های مختلف بایستی به صورت جداگانه قبل از اختلاط انجام گیرد، اما برخی مواد مانند ترکیبات آفت‌کش فسفره و همچنین کودهای غیر آلی فسفره اغلب اثرات منفی روی زنده‌مانی و قدرت بیماری‌زایی نماتدهای بیماری‌زای حشرات دارند (Campos-Herrera *et al.* 2015; Abd-Elgawad 2023).

جدول۲. مقایسه میانگین مرگ‌ومیر لاروهای سن آخر *Galleria mellonella* در زیست‌سنجی با جدایه‌های نماتدهای بیماری‌زای حشرات تیمارشده با حشره‌کش فلوبن‌دیامید در فواصل زمانی مختلف

جدایه نماتد بیماری‌زای حشرات	فاصله زمانی	درصد مرگ‌ومیر (خطای استاندارد±میانگین)
Steinernema carpocapsae IRMoghan1	۲۴ ساعت	۱۰۰ ±۰/۰[a]
Steinernema carpocapsae IRMoghan1	۴۸ ساعت	۱۰۰ ±۰/۰[a]
Steinernema carpocapsae IRMoghan1	۷۲ ساعت	۱۰۰ ±۰/۰[a]
Steinernema carpocapsae IRMoghan1	۷ روز	۹۷/۷۶ ±۳/۸۶ [a]
Steinernema feltiae	۲۴ ساعت	۱۰۰ ±۰/۰[a]
Steinernema feltiae	۴۸ ساعت	۱۰۰ ±۰/۰[a]
Steinernema feltiae	۷۲ ساعت	۱۰۰ ±۰/۰[a]
Steinernema feltiae	۷ روز	۹۸/۳۳±۳/۸۶[a]
شاهد		۰ ±۰.۰[b]

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد براساس آزمون توکی می‌باشد.

برخی مطالعه‌ها پیش از این اثر فلوبن‌دیامید را روی نماتدهای بیماری‌زای حشرات بررسی کرده‌اند. برای مثال، براساس نتایج Garcia-del-Pino *et al.* (2013)، فلوبن‌دیامید منجر به مرگ‌ومیر بالاتر جدایه اسپانیایی *Heterorhabditis bacteriophora* نسبت به *S. feltiae* و *S. carpocapsae* گردید. در مطالعه Garcia-del-Pino *et al.* (2013) نیز مشابه با یافته‌های تحقیق حاضر، هر دو جدایه *S.feltiae* و *S. carpocapsae* در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تیمار، زنده‌مانی بالای ۹۰ درصد نشان داند. با این حال، برخلاف جدایه‌های ایرانی، در ۷۲ ساعت پس از تیمار جدایه اسپانیایی *S. feltiae* مرگ‌ومیر

حدود ۳۰ درصدی نشان داد، در حالی که این میزان برای جدایه ایرانی سه درصد بود. هر چند میزان دوز مصرفی فلوبن‌دیامید علیه جدایه‌های اسپانیایی (۴۰ پی‌پی‌ام) بیشتر از مطالعه حاضر (۲۵ پی‌پی‌ام) بود. براساس نتایج Garcia-del-Pino *et al*. (2013) فلوبن‌دیامید تاثیر منفی روی بیماری‌زایی هیچ یک از نماتدهای مورد بررسی روی *G. mellonella* ایجاد نکرد که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد.

براساس مطالعه خان و همکاران (۲۰۲۱)، فلوبن‌دیامید منجر به مرگ‌ومیر بسیار پایین لاروهای آلوده‌کننده *S. carpocapsae* در ۴۸ ساعت (حدود سه درصد) و ۷۲ ساعت (حدود هفت درصد) شد که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد (Khan *et al*. 2021).

مرگ‌ومیر لاروهای نماتدهای بیماری‌زای حشرات در اثر حشره‌کش‌های شیمیایی مختلف نشان‌دهنده تاثیرپذیری متفاوت گونه‌ها و جدایه‌های مختلف نسبت به حشره‌کش‌ها می‌باشد. براساس نتایج Amizadeh *et al*. (2019) جدایه ایرانی گونه *S. feltiae*، پس از قرار گرفتن در معرض آفت‌کش‌های مختلف به مدت ۲۴ ساعت، کمترین میزان مرگ‌ومیر (۲۰ درصد) را در مقابل کلرانترانیلیپرول و ایندوکساکارب و بیشترین مرگ‌ومیر (۸۷ درصد) را در مقابل آبامکتین نشان داد. هرچند در این مطالعه فلوبن‌دیامید یا ترکیب مشابهی مورد بررسی قرار نگرفته بود، با این حال کمترین میزان مرگ و میر در ۲۴ ساعت، بیشتر از مرگ‌ومیر ایجاد شده توسط فلوبن‌دیامید در ۷۲ ساعت پس از در معرض قرار گیری هر دو جدایه نماتد بومی بود.

در حالت کلی، براساس نتایج مربوط به سازگاری نماتدهای بیماری‌زای حشرات با نهاده‌های کشاورزی، این نماتدها می‌توانند در زمان تماس با مواد شیمیایی مختلف زنده بمانند (Jean-Baptiste *et al*. 2021). چنین سازگاری با ترکیبات شیمیایی ممکن است به حفظ و زنده‌مانی نماتدها در محیط کمک کند و به نفع کنترل بیولوژیک آفات باشد. همچنین، ممکن است نماتدها با این مواد شیمیایی به صورت هم‌افزایی استفاده شوند و به این ترتیب، استفاده همزمان با ترکیبات شیمیایی کارایی کنترل را افزایش دهد.

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

نماتدهای بیماری‌زای حشرات یکی از گزینه‌های مفید برای گنجاندن در برنامه‌های مدیریت‌های تلفیقی آفات هستند که به تنهایی یا در ترکیب با حشره‌کش‌های شیمیایی استفاده می‌شوند. در مطالعه حاضر، سازگاری دو جدایه بومی نماتد بیماری‌زای حشرات با فلوبن‌دیامید بررسی شد. براساس گروه‌بندی IOBC/WPRS، فلوبن‌دیامید نسبت به هر دو جدایه نماتد بی‌ضرر و سازگار بود و در گروه یک قرار گرفت. درصد مرگ‌ومیر پایین هر دو جدایه نماتد تا ۷۲ ساعت تیمار با حشره‌کش فلوبن‌دیامید و عدم تاثیرپذیری قدرت بیماری‌زایی نماتدها از این حشره‌کش، نشان‌دهنده سازگاری بالای این نماتدها نسبت به این حشره‌کش می‌باشد و بنابراین امکان مخلوط کردن هر دو جدایه در مخزن سم‌پاشی با فلوبن‌دیامید وجود دارد، چرا که مدت زمان مورد نیاز در مخلوط کردن نماتدها با سموم شیمیایی برای پاشش همزمان روی گیاه هدف از چند ساعت تجاوز نمی‌کند. جدایه‌های بومی نماتدهای بیماری‌زای حشرات از توان بالقوه بالایی برای کنترل آفات برخوردار هستند. حمایت از تحقیقات بنیادی جهت توسعه این عوامل ارزشمند در کشور ضروری می‌باشد.

سپاس‌گزاری

این پژوهش بخشی از نتایج پروژه انجام یافته در موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور است. نویسنده کمال تشکر را از حمایت‌های موسسه و همچنین ایستگاه تحقیقات کرج موسسه تحقیقات گیاهپزشکی دارد.

منابع

ابوترابی، المیرا؛ و فرخی، شهرام (۱۳۹۷). ارزیابی بیمارگری *Steinernema feltiae* روی بید گوجه فرنگی *Tuta absoluta* در شرایط آزمایشگاه و گلخانه. *مهار زیستی در گیاه پزشکی*، *۶*، ۴۱-۳۱ .

اشتری، صدیقه؛ صباحی، قدرت‌اله؛ و طالبی جهرمی، خلیل (۱۳۹۷). اثر برخی آفت‌کش‌ها بر روی مینوز گوجه‌فرنگی :.Lep) *Tuta absoluta* (Gelechiidae) و دو گونهٔ زنبور پارازیتوئید (Hym: *Trichogramma brassicae* (Trichogrammatidae و *T. evanescens*. *دانش گیاهپزشکی ایران*، ۴۹، ۳۵۱-۳۴۱ .

شیخی گرجان، عزیز؛ رحمانی، مرضیه؛ ایمانی، سهراب؛ و جوادزاده، مهران (۱۳۹۷). اثر حشره‌کش‌های نسل جدید روی بید گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* (Meyrick) (lepidoptera, Gelechiidae) در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای، *پژوهش‌های کاربردی در گیاهپزشکی ۷*، ۱۰۸-۹۷.

References

Abbott, W.A. (1925). A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18, 265-267.

Abutorabi, E., & Farrokhi, S. (2019). Efficacy of a native isolate of *Steinernema feltiae* on tomato leafminer (*Tuta absoluta*) under laboratory and greenhouse conditions. *Biocontrol in Plant Protection*, *6*(2), 31-41. (In Persian).

Abd-Elgawad, M. M. (2023). Optimizing entomopathogenic nematode genetics and applications for the integrated management of horticultural pests. *Horticulturae*, *9*(8), 865. https://doi.org/10.3390/horticulturae9080865

Alumai, A., & Grewal, P. S. (2004). Tank-mix compatibility of the entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae*, with selected chemical pesticides used in turfgrass. *Biocontrol Science and Technology*, *14*(7), 725-730. https://doi.org/10.1080/09583150410001724334

Amizadeh, M., Hejazi, M. J., Niknam, G., & Askari-Saryazdi, G. (2019). Interaction between the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae* and selected chemical insecticides for management of the tomato leafminer, *Tuta absoluta*. *Biocontrol*, *64*, 709-721. https://doi.org/10.1007/s10526-019-09973-x

Ashtari, S., Sabahi, Q., & Talebi Jahromi, K. (2019). Effects of some insecticides against tomato leaf miner Tuta absoluta (Lepidoptera: Gelechiidae) and egg parasitoids *Trichogramma brassicae* and *T. evanescens* (Hym.: Trichogrammatidae). *Iranian Journal of Plant Protection Science*, *49*(2), 341-351. (In Persian).

Batalla-Carrera, L., Morton, A., & García-del-Pino, F. (2010). Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tomato leafminer *Tuta absoluta* in laboratory and greenhouse conditions. *BioControl*, *55*, 523-530. https://doi.org/10.1007/s10526-010-9284-z

Campos-Herrera, R., Jaffuel, G., Chiriboga, X., Blanco-Pérez, R., Fesselet, M., Půža, V., Mascher, F. & Turlings, T.C. (2015). Traditional and molecular detection methods reveal intense interguild competition and other multitrophic interactions associated with native entomopathogenic nematodes in Swiss tillage soils. *Plant and Soil*, *389*, 237-255. https://doi.org/10.1007/s11104-014-2358-4

Chang, P. E. C., & Metz, M. A. (2021). Classification of *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917)(Lepidoptera: Gelechiidae: Gelechiinae: Gnorimoschemini) based on cladistic analysis of morphology. *Proceedings of the entomological Society of Washington*, *123*(1), 41-54. https://doi.org/10.4289/0013-8797.123.1.41

Desneux, N., Han, P., Mansour, R., Arnó, J., Brévault, T., Campos, M. R., Chailleux, A., Guedes, R.N., Karimi, J., Konan, K.A.J., & Lavoir, A.V. (2022). Integrated pest management of *Tuta absoluta*: practical implementations across different world regions. *Journal of Pest Science*, 1-23. https://doi.org/10.1007/s10340-021-01442-8

Ebrahimi, L. (2023). Efficacy of entomopathogenic nematodes and flubendiamide against tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae). *4th Iranian International congress of*

Entomology, 18–20 September, Iran.

Ebrahimi, L., Niknam, G., & Lewis, E. E. (2011). Lethal and sublethal effects of Iranian isolates of *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora* on the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *BioControl*, *56*, 781-788. https://doi.org/10.1007/s10526-011-9343-0

Ebrahimi, L., TanhaMaafi, Z., & Sharifi, P. (2019). First report of the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae*, from Moghan region of Iran and its efficacy against the turnip moth, *Agrotis segetum* Denis and Schiffermuller (Lepidoptera: Noctuidae), larvae. Egyptian *Journal of Biological Pest Control*, 29, 66. https://doi.org/10.1186/s41938-019-0168-y

Garcia-del-Pino, F., Alabern, X., & Morton, A. (2013). Efficacy of soil treatments of entomopathogenic nematodes against the larvae, pupae and adults of *Tuta absoluta* and their interaction with the insecticides used against this insect. *BioControl*, *58*, 723-731. https://doi.org/10.1007/s10526-013-9525-z

Husin, T. O. B., & Port, G. R. (2021). Efficacy of entomopathogenic nematodes against *Tuta absoluta*. *Biological Control*, *160*, 104699. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104699

Jean-Baptiste, M. C., de Brida, A. L., Bernardi, D., da Costa Dias, S., de Bastos Pazini, J., Leite, L. G., Wilcken, S.R.S. & Garcia, F. R. M. (2021). Effectiveness of entomopathogenic nematodes against *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) pupae and nematode compatibility with chemical insecticides. *Journal of Economic Entomology*, *114*(1), 248-256. https://doi.org/10.1093/jee/toaa301

Khan, R. R., Arshad, M., Aslam, A., & Arshad, M. (2021). Additive interactions of some reduced-risk biocides and two entomopathogenic nematodes suggest implications for integrated control of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Scientific Reports*, *11*(1), 1268. https://doi.org/10.1038/s41598-020-79725-w

Koppenhöfer, A. M., Shapiro-Ilan, D. I., & Hiltpold, I. (2020). Entomopathogenic nematodes in sustainable food production. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *4*, 125. https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00125

Laznik, Ž., & Trdan, S. (2014). The influence of insecticides on the viability of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) under laboratory conditions. *Pest Management Science*, *70*(5), 784-789. https://doi.org/10.1002/ps.3614

Nalinci, E., Karagoz, M., Gulcu, B., Ulug, D., Gulsen, S. H., Cimen, H., Touray, M., David Shapiro-Ilan, D. & Hazir, S. (2021). The effect of chemical insecticides on the scavenging performance of *Steinernema carpocapsae*: Direct effects and exposure to insects killed by chemical insecticides. *Journal of Invertebrate Pathology*, *184*, 107641. https://doi.org/10.1016/j.jip.2021.107641

Ndereyimana, A., Nyalala, S., Murerwa, P., & Gaidashova, S. (2020). Field efficacy of entomopathogens and plant extracts on *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) infesting tomato in Rwanda. *Crop Protection*, *134*, 105183. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105183

Peters, A. (2003). Pesticides and entomopathogenic nematodes-current status and future work. *IOBC WPRS Bulletin*, *26*(5), 107-110.

SAS Institute (2012). SAS Enterprise Guide ver. 9.3.

Shapiro-Ilan, D. I., Gouge, D. H., & Koppenhöfer, A. M. (2002). Factors affecting commercial success: case studies in cotton, turf and citrus. In *Entomopathogenic Nematology* (pp. 333-355). Wallingford UK: CABI publishing.

Sheikhi Garjan, A., Rahmani, M., Emani, S., & Javadzadeh, M. (2018). Toxicity of some new generation insecticides against tomato Leafminer Moth, *Tuta absoluta* (Meyrick) under laboratory and greenhouse conditions. *Journal of Applied Research in Plant Protection*, *7*(1), 99-108. (In Persian).

Turkoz, S. & Kaşkavalci, G. (2016). Determination of the efficacy of some entomopathogenic nematodes against *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera: Gelechiidae) under laboratory conditions. *Turkish Journal of Entomology*, *40*(2). https://doi.org/10.16970/ted.92606

Vainio, A. (1992). Guideline for laboratory testing of the side-effects of pesticides on entomophagous nematodes *Steinernema* spp. *IOBC/WPRS Bulletin*, *15*, 145–147.

Van Damme, V. M., Beck, B. K., Berckmoes, E., Moerkens, R., Wittemans, L., De Vis, R., Nuyttens D., Casteels, H.F., Maes, M., Tirry, L., & De Clercq, P. (2016). Efficacy of entomopathogenic nematodes against larvae of *Tuta absoluta* in the laboratory. *Pest Management Science*, *72*(9), 1702-1709. https://doi.org/10.1002/ps.419

Woodring, J. L., & Kaya, H. K. (1988). Steinernematid and heterorhabditid nematodes: a handbook of biology and techniques. *Southern Cooperative Series Bulletin (USA)*.