

تعیین دامنه‌ی ترجیح دمایی دو جدایه‌ی بومی نماتد بیمارگر حشرات، *Steinernema feltiae*

(*Heterorhabditidae*, *Tylenchina*) و *Heterorhabditis bacteriophora*

(*Heterorhabditidae*, *Rhabditina*) به منظور استفاده در کنترل زیستی آفات حشره‌ای

لاله ابراهیمی¹ و غلامرضا نیکنام^{2*}

تاریخ دریافت: 89/1/30 تاریخ پذیرش: 89/12/19

1- دانشجوی دکتری حشره‌شناسی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

2- دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

* مسئول مکاتبه: E-mail: g_niknam@tabrizu.ac.ir

چکیده

به منظور تعیین دامنه‌ی ترجیح دمایی یک جدایه‌ی بومی از هر یک از گونه‌های رایج *Steinernema feltiae* Filipjev و *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar که از خاک‌های شهر تبریز و اطراف آن جداسازی و شناسایی گردیده- بودند، چرخه‌ی زندگی آن‌ها در چهار رژیم دمایی 4 ± 1 ، 15 ± 1 ، 24 ± 2 و 30 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد روی لارو سن آخر *Galleria mellonella* Linnaeus به مدت 13 روز بررسی گردید و آزمایش دو بار تکرار شد. چرخه‌ی زندگی *H. bacteriophora* در 30 ± 1 و 24 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد به ترتیب در روز دهم و در روز دوازدهم تکمیل و لاروهای آلوده‌کننده ظاهر گشتند. در دمای 15 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد تا آخرین روز دوره‌ی آزمایش تنها افراد ماده‌ی هرمافرودیت نسل اول مشاهده گردیدند و چرخه‌ی زیستی نماتد تکمیل نشد. در 4 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد، مرگ و میر ناشی از نماتد در حشرات تیمار شده مشاهده نگردید. در مورد *S. feltiae*، در 30 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد علی‌رغم آلوده- شدن حشرات به نماتد، تنها نتاج نسل اول ظهور کرد و چرخه‌ی زندگی تکمیل نگردید. در دمای 24 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد در روز هشتم چرخه‌ی زندگی تکمیل و لاروهای آلوده‌کننده ظاهر شدند. مرگ و میر لاروهای *G. mellonella* آلوده - شده با *S. feltiae* در دمای 15 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد با یک روز تاخیر نسبت به 24 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد به وقوع پیوست. تکمیل چرخه و خروج لاروهای آلوده‌کننده نیز در روز دوازدهم صورت پذیرفت. در 4 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد مرگ و میر حشرات در اثر آلودگی به این نماتد مشاهده نگردید. نتایج این بررسی نشان داد که دمای مطلوب برای فعالیت و سازگاری *S. feltiae* نسبت به *H. bacteriophora* پایین‌تر است و در کاربرد آن‌ها در برابر آفات حشره‌ای دماهای ترجیحی هر دو نماتد برای کارایی بهتر باید لحاظ گردند.

واژه‌های کلیدی: چرخه‌ی زندگی، دما، کنترل زیستی، نماتدهای بیمارگر حشرات، *Heterorhabditis bacteriophora* و *Steinernema feltiae*

Detection of Thermal Preference Range of two Endemic Isolates of Entomopathogenic Nematodes, *Steinernema feltiae* (Steinernematidae, Tylenchina) and *Heterorhabditis bacteriophora* (Heterorhabditidae, Rhabditina) for Application in Biological Control of Insect Pests

L Ebrahimi¹ and G Niknam^{2*}

Received: 19 April 2010 Accepted: 10 March 2011

¹PhD Student of Agricultural Entomology, Dept of Plant Protection, Faculty of Agric, Univ of Tabriz, Iran

²Associate Prof, Dept of Plant Protection, Faculty of Agric, Univ of Tabriz, Iran

*Corresponding author: E-mail: g_niknam@tabrizu.ac.ir

Abstract

To determination of thermal preference range, the life cycle of an endemic isolate of each common entomopathogenic nematode species in Iran, *Steinernema feltiae* Filipjev and *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar was studied, separately. One isolate of each species collected from Tabriz and its suburb soils, were evaluated under four temperature levels viz 4±1, 15±1, 24±2 and 30±1°C on *Galleria mellonella* L. last instar larvae for 13 days. The experiment was carried out twice, for each isolate. The life cycle of *H. bacteriophora* was completed at 30±1 and 24±2 °C and IJs were appeared in 10th and 12th days post infection, respectively. At 15±1°C up to end of the experiment, only first generation (hermaphrodite females) of the species was appeared and after 312 hours, its life cycle was not completed. At 4±1°C, after 13 days (312 hours post infection) larval mortality due to nematode infectivity was not observed. For *S. feltiae* at 30±1°C despite insect infectivity, just first generation offsprings were emerged and second generation was not appeared. At 24±2°C the life cycle was completed and IJs observed in 8th day. At 15±1°C, mortality of *G. mellonella* larvae was occurred with one day delay compared to 24±2°C. The life cycle was completed and IJs appeared in 12th day. At 4±1°C, insect's mortality due to nematode infection was not observed. Results of this study showed that the preference temperature for *S. feltiae* activity is lower than *H. bacteriophora* and the thermal preference ranges should be considered as they are used for biological control of insect pests.

Key words: Entomopathogenic nematodes, *Steinernema feltiae*, *Heterorhabditis bacteriophora*, temperature, biological control, life cycle

مقدمه

وجود چنین مطالعه‌ای روی جدایه‌های بومی ایران انجام نگرفته است. برای استفاده از جدایه‌های بومی نماتدهای بیمارگر حشرات به عنوان عوامل کنترل زیستی، تعیین ترجیح دمایی این عوامل به استفاده‌ی کارآمد آن‌ها در برنامه‌های مدیریت آفات منطقه در مقایسه با عوامل غیر بومی به دلیل سازگاری بیشتر، ضروری خواهد بود. با توجه به این که در منطقه‌ی شمال غرب ایران گونه‌های *S. feltiae* و *H. bacteriophora* در بین گونه‌های نماتدهای بیمارگر حشرات جمع‌آوری شده، فراوانی بیشتری دارد (عیوضیان و همکاران 2009). در این تحقیق بعد از جداسازی و شناسایی یک جدایه از هر یک از این دو گونه، حدود دمایی مناسب برای نشو و نمای آن‌ها تعیین گردید.

مواد و روش‌ها

از خاک‌های چندین ناحیه در تبریز و اطراف آن شامل اسکو، سردرود، باسمنج، خلعت‌پوشان، بناب و گوگان به منظور به دست آوردن احتمالی نماتدهای بیمارگر حشرات، 30 نمونه از عمق 20-30 سانتی‌متری خاک جمع‌آوری گردید. استخراج نماتدهای بیمارگر حشرات به روش تله‌گذاری خاک با لاروهای سن آخر *G. mellonella* (وودرینگ و کایا 1988) صورت گرفت. از صفات ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی برای شناسایی نماتدهای جداسازی شده استفاده گردید (آدامز و نگاین 2002 و نگاین و همکاران 2007). در مورد جدایه‌ی متعلق به جنس *Steinernema* برای اطمینان از صحت شناسایی، از روش دگرآمیزی (نگاین و اسمارت 1990) استفاده شد. به این منظور، جدایه‌ی شناخته‌شده‌ی *S. feltiae* از آزمایشگاه بیوکنترل دانشگاه ملی ایرلند تهیه و با جدایه‌ی بومی تلاقی داده شد.

برای تعیین دمایی بهینه جهت رشد و تکثیر نماتدهای بومی جدا شده از منطقه، چرخه‌ی زندگی یک جدایه از هر گونه در چهار رژیم دمایی 1 ± 4 ، 1 ± 15 ، 2 ± 24 و 1 ± 30 درجه‌ی سانتی‌گراد بررسی گردید. بدین منظور لاروهای سن آخر شب‌پره‌ی موم‌خوار (با

نماتدهای بیمارگر حشرات متعلق به خانواده‌های Heterorhabditidae و Steinernematidae از مؤثرترین و مفیدترین عوامل کنترل زیستی حشرات می‌باشند (رچسیگل و رچسیگل 2000 و آدامز و نگاین 2002). این نماتدها ضمن کنترل حشرات، نسبت به محیط زیست بی‌ضرر هستند، هم‌چنین می‌توان آن‌ها را از طریق مهندسی ژنتیک دست‌کاری نموده و بیماری‌زایی و پایداری آن‌ها را تغییر داد، برخی از زهرابه‌های تولیدی آن‌ها قابل انتقال و بیان در میکروارگانیسم‌ها می‌باشد و به عنوان عامل کنترل زیستی اشیاعی یا تقویتی قابل استفاده هستند (آدامز و نگاین 2002). نماتدهای بیمارگر حشرات نسبت به مهره‌داران، گیاهان، میکروارگانیسم‌ها و محیط زیست ایمن بوده و امکان تولید انبوه آن‌ها در شرایط غیر زنده وجود دارد. این نماتدها قادر به جستجوی میزبان و کشتن سریع آن (اغلب در 48 ساعت اول بعد از آلودگی) می‌باشند. علاوه بر این، قادر به چرخش دوباره در محیط بوده و سازگار با آفت‌کش‌های شیمیایی و قابل استفاده با تجهیزات پخش استاندارد برای سموم نیز می‌باشند (کایا 1993). نماتدهای بیمارگر حشرات از سده‌ی هفدهم شناخته شده‌اند اما از دهه‌ی 1930 به صورت جدی به عنوان عوامل کنترل زیستی حشرات مورد توجه قرار گرفته‌اند (اسمارت 1995).

شب‌پره‌ی موم‌خوار بزرگ، *Galleria mellonella* یک میزبان کاملاً حساس برای نماتدهای steinernematid و heterorhabditid می‌باشد که به دلیل پرورش آسان و در دسترس بودن، به عنوان میزبان آزمایشگاهی این نماتدها مورد استفاده قرار می‌گیرد (وودرینگ و کایا 1988). دما یکی از مهم‌ترین عواملی است که بیماری‌زایی، زمان مرگ میزبان، نشوونما، تولیدمثل و ذخیره سازی نماتدهای بیمارگر حشرات را تحت تاثیر قرار می‌دهد (هزیر و همکاران 2001). مطالعات متعددی در مورد تاثیر دماهای مختلف بر روی نماتدهای بیمارگر حشرات در نقاط مختلف جهان صورت پذیرفته است (کونگ و همکاران 1991، براون و گاگر 1997 و هزیر و همکاران 2001). با این

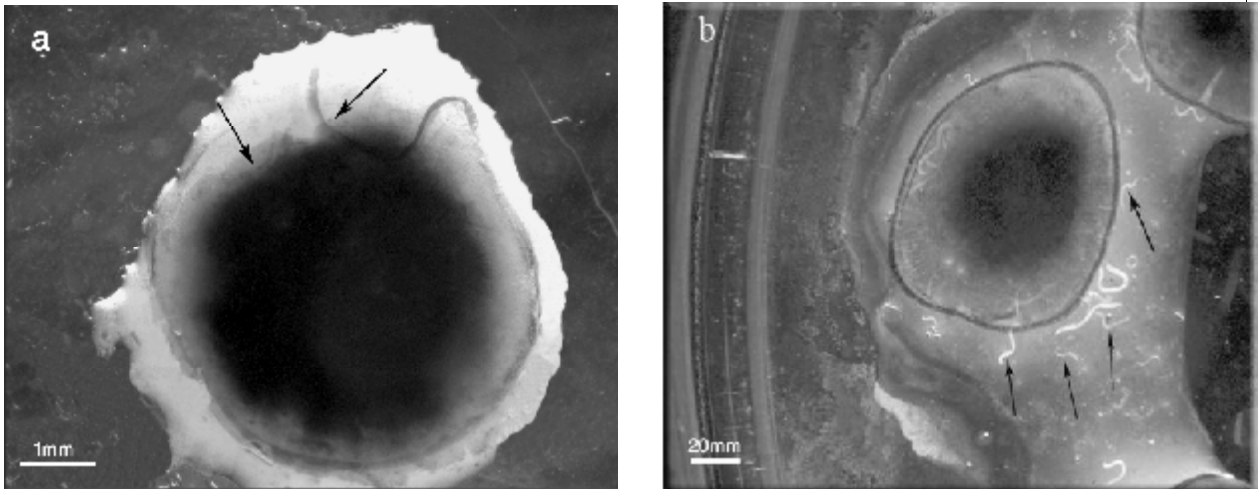
بودن نسل اول گونه‌های جنس *Heterorhabditis* نیاز به امکانات و فناوری پیشرفته‌ای دارد اما به دلیل این که گونه‌ی *H. bacteriophora* خیلی متداول بوده و دارای صفات مشخص ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی برای شناسایی می‌باشد، نیازی به انجام آزمایش دگرآمیزی در مورد آن نبود.

چرخه‌ی زندگی نماتد *H. bacteriophora* روی *G. mellonella* در 30 ± 1 و 24 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد به ترتیب در روز دهم (240 ساعت پس از آلوده سازی) و در روز دوازدهم (288 ساعت بعد از آلوده سازی) تکمیل و لاروهای آلوده‌کننده‌ی مقاوم ظاهر گشتند (جدول 1). در دمای 15 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد تا آخرین روز دوره‌ی آزمایش تنها افراد ماده‌ی هرمافرودیت نسل اول مشاهده گردیدند و تا مدت 312 ساعت دوره‌ی آزمایش، چرخه‌ی زیستی نماتد ادامه نیافت. در 4 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد بعد از گذشت 13 روز، مرگومیر ناشی از نماتد در حشرات تیمار شده مشاهده نگردید، به این معنی که نماتد قادر به آلوده‌سازی حشره و رشد و تکثیر در آن نبود. در هر دو دمای 30 ± 1 و 24 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد مرگ و میر لاروهای حشرات 48 ساعت پس از آلوده‌سازی به وقوع پیوست و نتایج حاصل از افراد هرمافرودیت در 30 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد در روز چهارم پس از آلوده‌سازی و در 24 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد روز پنجم پس از آلوده‌سازی ظاهر شدند. ظهور افراد بالغ نسل دوم که شامل افراد نر و ماده بود در 30 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد، روز پنجم و در 24 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد، روز ششم بعد از آلوده‌سازی صورت پذیرفت. در 15 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد مرگومیر تعداد کمی از لاروهای حشره در روز سوم به وقوع پیوست ولی مرگ بیشترین تعداد لاروها روز چهارم پس از آلوده‌سازی حاصل گردید.

میانگین وزن 200 میلی‌گرم) در داخل پتری شیشه‌ای به قطر نه سانتی‌متر که کف و درپوش آن با کاغذ صافی Whatman® شماره‌ی چهار پوشانده شده بود، در معرض 50 لارو آلوده‌کننده به ازای هر حشره قرار گرفت. نماتدها در دو میلی‌لیتر آب مقطر به کف پتری اضافه گردید که این حجم آب برای مرطوب نمودن کاغذ صافی مفروش‌کننده‌ی کف پتری کافی بود. همچنین، از دو میلی‌لیتر آب مقطر برای مرطوب نمودن کاغذ صافی مفروش‌کننده‌ی داخل درپوش پتری استفاده شد. تکرارهای آزمایش شامل پنج پتری و هر پتری حاوی 12 لارو *G. mellonella* بود و آزمایش دوبار برای هر گونه نماتد تکرار گردید. دوره‌ی آزمایش 12 روز در نظر گرفته شد و برای اطمینان از تثبیت نتیجه، تیمارها یک روز اضافی دیگر نگهداری شده و مورد بررسی قرار گرفتند. 48 ساعت پس از آلوده‌سازی حشرات با لاروهای آلوده‌کننده‌ی نماتد، هر 24 ساعت یکبار چهار لارو شب‌پره‌ی موم‌خوار به صورت تصادفی از هر تیمار دمایی انتخاب و تشریح گردید. نماتدهای حاصل از تشریح حشره تثبیت گردیده و اسلایدهای دائمی از مراحل مختلف زیستی آنها تهیه شد. در نهایت، دمای ترجیحی و زمان وقوع مراحل مختلف زیستی آنها و زمان تکمیل نسل‌های اول و دوم برای هر گونه نماتد تعیین و مشخص گردید.

نتایج و بحث

با توجه به صفات ریخت‌شناختی و داده‌های ریخت‌سنجی و براساس کلیدهای شناسایی موجود از جمله آدامز و نگاین (2002) و توصیف گونه‌های *Steinernema* و *Heterorhabditis* (نگاین و همکاران 2007)، جدایه‌ی متعلق به جنس *Steinernema* که از نمونه‌های خاک سردرود جداسازی شده بود، به عنوان گونه‌ی *S. feltiae* و جدایه‌ی جنس *Heterorhabditis* که از نمونه‌های خاک گوگان به دست آمده بود، به عنوان *H. bacteriophora* شناسایی گردید. جفت‌گیری نماتدها و تولید نتایج در آزمایش دگرآمیزی جدایه‌ی ایرلندی گونه‌ی *S. feltiae* و یک نماتد از جدایه‌ی مورد بررسی، مؤید صحت شناسایی گونه‌ی نماتد *S. feltiae* بود (شکل 1). این آزمون به دلیل هرمافرودیت



شکل 1- قطره‌ی همولنف *G. mellonella* در آزمون دگرآمیزی برای تأیید شناسایی گونه‌ی *S. feltiae*.
a: نماتدهای نر یک جدایه و ماده‌ی جدایه‌ی دیگر، **b:** نماتدهای بالغ و نتاج حاصل از آنها

از آلودگی گزارش نموده است. همچنین، ظهور نتاج افراد هرمافرودیت نسل اول سه تا چهار روز پس از آلودگی و ظهور افراد نر و ماده‌ی نسل دوم پنج تا شش روز پس از آلودگی بیان شده است. نتایج ارائه شده توسط وی مشابه نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر در دمای 30 ± 1 و 24 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد می‌باشد. در بررسی انجام شده توسط پوپنار (1975) به دمای مورد استفاده اشاره‌ای نشده است.

ووتس (1980) در توصیف *S. feltiae* ظهور افراد بالغ نر و ماده‌ی نسل اول را دو و نیم روز پس از آلودگی میزبان و عمر این افراد را حدود پنج روز عنوان کرده است که مؤید نتایج حاصل از بررسی چرخه‌ی زندگی این نماتد در 24 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد در آزمایش ما می‌باشد.

در مورد *S. feltiae*، در 30 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد علی‌رغم آلوده شدن حشرات به نماتد و مرگومیر 100 درصد آنها در طی 48 ساعت، تنها نتاج نسل اول تولید گردید و چرخه‌ی زندگی ادامه نیافت. در دمای 24 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد مرگومیر حشرات 48 ساعت پس از انجام آزمایش اتفاق افتاد و در روز هشتم (192 ساعت پس از آلوده‌سازی) چرخه‌ی زندگی تکمیل و لاروهای مرحله‌ی آلوده‌کننده ظاهر گردیدند. مرگومیر لاروهای *G. mellonella* در دمای 15 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد با یک روز تأخیر نسبت به 24 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد به وقوع پیوست. همچنین ظهور نتاج نسل اول و افراد بالغ نسل دوم با تأخیر صورت گرفت (جدول 2). تکمیل چرخه و خروج لاروهای آلوده‌کننده‌ی مقاوم در روز دوازدهم (288 ساعت بعد از آلوده‌سازی) صورت پذیرفت. در 4 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد مرگ و میر حشرات در اثر آلودگی به نماتد مشاهده نگردید، هرچند نماتدها به داخل بدن لاروها نفوذ کرده بودند.

پوپنار (1975) در توصیف *H. bacteriophora* و بیان زیست‌شناسی این گونه، مرگ لاروهای *G. mellonella* در اثر آلودگی به این نماتد را در عرض 48 ساعت پس

جدول 1- وضعیت مراحل زیستی نماتد *H. bacteriophora* در طی 312 ساعت دوره‌ی آزمایش بررسی دمای ترجیحی در دو دمای 30 ± 1 و 24 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد

30±1°C													
312	288	264	240	216	192	168	144	120	96	72	48	24	ساعت / مراحل زیستی
													لارو سن سوم و چهارم
													افراد هرمافرودیت نسل اول
													مراحل لاروی نتاج نسل اول
													نر و ماده‌ی نسل دوم
													لاروهای سن یک و سن دو
													لارو آلوده‌کننده
24±2 °C													
312	288	264	240	216	192	168	144	120	96	72	48	24	ساعت / مراحل زیستی
													لارو سن سوم و چهارم
													افراد هرمافرودیت نسل اول
													مراحل لاروی نتاج نسل اول
													نر و ماده‌ی نسل دوم
													لاروهای سن یک و سن دو
													لارو آلوده‌کننده

براون و گاگر (1997) تأثیر چهار دمای 25، 15، 10 و 5 درجه‌ی سانتی‌گراد را روی ظهور و بقای گونه‌های *H. bacteriophora* و *S. carpocapsae*، *S. felidae* و *S. glaseri* مورد مطالعه قرار دادند. نتایج این بررسی، کاهش معنی‌دار ظهور لاروهای آلوده‌کننده *H. bacteriophora* در دماهای پایین را نشان داد، طوری‌که در 10 و 15 درجه‌ی سانتی‌گراد هیچ نماتی از لاشه حشرات خارج نگردید. این نتایج منطبق با نتایج حاصل از تحقیق حاضر می‌باشد. در دماهای 10 و 15 درجه‌ی سانتی‌گراد لاروهای آلوده‌کننده *S. felidae* از لاشه‌های بیشتری نسبت به گونه‌های دیگر خارج شدند که این نتیجه نیز مؤید سازگاری بیشتر این گونه با دماهای پایین‌تر که در مطالعه‌ی حاضر نیز مشهود است، می‌باشد.

کونگ و همکاران (1991) تأثیر دما و رطوبت خاک را روی *S. glaseri* و *S. carpocapsae* مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آن‌ها، بیانگر تأثیر معنی‌دار دما روی بقاء و بیماری‌زایی نماتدهای مورد بررسی بود. به‌طوری‌که بقاء و بیماری‌زایی *S. carpocapsae* در دماهای پایین (25-5 درجه‌ی سانتی‌گراد) بیشتر از دمای بالا (35 درجه‌ی سانتی‌گراد) بود ولی برعکس آن، *S. glaseri* در دماهای بالاتر (35-15 درجه‌ی سانتی‌گراد) بقاء و بیماری‌زایی بیشتری نسبت به دمای پایین (15 درجه‌ی سانتی‌گراد) نشان داد که این نتایج همانند نتایج حاصل از بررسی ما، بیانگر تفاوت پاسخ‌های گونه‌های مختلف نماتدهای بیمارگر حشرات نسبت به دما می‌باشد.

جدول 2- وضعیت مراحل زیستی نماتد *S. feltiae* در طی 312 ساعت دوره‌ی آزمایش بررسی دمایی ترجیحی در دو دمای 24 ± 2 و 15 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد

24 ± 2 ° C													
ساعت	24	48	72	96	120	144	168	192	216	240	264	288	312
مراحل زیستی													
لارو سن سوم و چهارم													
نر و ماده نسل اول													
مراحل لاروی نتاج نسل اول													
نر و ماده نسل دوم													
لاروهای سن یک و سن دو													
لارو آلوده‌کننده													
15 ± 1 ° C													
ساعت	24	48	72	96	120	144	168	192	216	240	264	288	312
مراحل زیستی													
لارو سن سوم و چهارم													
نر و ماده نسل اول													
مراحل لاروی نتاج نسل اول													
نر و ماده نسل دوم													
لاروهای سن یک و سن دو													
لارو آلوده‌کننده													

نتایج بررسی دمایی ترجیحی در طول چرخه‌ی زیستی دو گونه‌ی نماتد انگل حشرات در این مطالعه و مقایسه‌ی آن‌ها با تحقیقاتی که پیش از این در مناطق مختلف جهان روی جمعیت‌های جغرافیایی همین گونه‌ها یا گونه‌های دیگر این دو جنس انجام شده است، مبین ترجیح و سازگاری بالاتر *S. feltiae* با دمای نسبتاً پایین‌تر و *H. bacteriophora* با دمای نسبتاً بالاتر می‌باشد. چرا که در دمای 15 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد علی‌رغم طولانی‌تر شدن چرخه‌ی زیستی *S. feltiae* ظهور لاروهای آلوده‌کننده اتفاق افتاد، اما در همین دما *H. bacteriophora* قادر به ادامه‌ی نشوونما و حتی تولید نتاج نسل اول که حاصل از افراد هرمافرودیت می‌باشند، نبود. برعکس، در 30 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد از هیچ لاشه‌ی آلوده به *S. feltiae* نماتی خارج

هزیر و همکاران (2001) نشوونمای پنج جداییه‌ی جغرافیایی *S. feltiae* را در دماهای 5، 8، 10، 15، 20، 25 و 28 درجه‌ی سانتی‌گراد مورد بررسی قرار دادند. در تمام جداییه‌ها دمای 8 تا 25 درجه‌ی سانتی‌گراد باعث مرگومیر 100 درصد لاروهای سن آخر شب‌پره موم‌خوار گردید و تمام جداییه‌ها در این دماها نشوونما نموده و نتاج تولید کردند. در 28 درجه‌ی سانتی‌گراد علی‌رغم مرگومیر 100 درصد میزبان، تولید نتاج صورت نگرفت. زمان مرگ میزبان و نیز تکمیل چرخه‌ی زندگی نماتدها نیز تحت تأثیر دماهای مختلف قرار گرفت، بنابراین نتایج ارائه شده توسط آن‌ها با نتایج به دست آمده در این آزمایش در دماهای 4 ± 1 ، 15 ± 1 ، 24 ± 2 و 30 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد همخوانی دارد.

خیلی مهم دما در نشوونما، میزبان‌یابی و بیماری‌زایی گونه‌های مختلف نماتدهای انگل حشرات، در نتایج مطالعات متعددی روی این مساله تاکید زیادی شده است (راتناسینگ و هاگ 1998، گوگ و همکاران 1999، لانگ و همکاران 2000، کپن‌هافر و فوزی 2003، ماهار و همکاران 2004، بروک و همکاران 2005 و لیبسی و همکاران 2006).

در حالت کلی، با تعیین ترجیح دمایی دو گونه نماتد *S. feltiae* و *H. bacteriophora* و با توجه به بومی و رایج‌تر بودن آن‌ها در منطقه (عیوضیان و همکاران 2009)، انتظار می‌رود که در برنامه‌های مدیریت آفات در مناطق پراکنش نماتدها، این دو گونه در مقایسه با عوامل غیر بومی، سازگاری بیشتری داشته و شاید کارآمدتر باشند، هر چند محققین دیگری نیز گونه‌های بومی را موثرتر می‌دانند (میلر و باربرچک 2001)، اما این ادعا همیشه صادق نیست. از طرف دیگر، در مورد کاربرد این عوامل کنترل زیستی، باید سازگاری دمایی جدایه یا گونه‌ی نماتد مورد استفاده با زیست‌شناسی حشره یا حشرات هدف و مرحله‌ی حساس و فعال آن‌ها که ترجیح دمایی خاص خود را دارند، هم‌زمانی نشان دهند تا کنترل دقیق و با کارایی بالا حاصل گردد و این ضرورت توسط محققان دیگر نیز مورد تاکید قرار گرفته است (کپن‌هافر و فوزی 2003).

نگردید و علی‌رغم آلودگی اولیه‌ی لاروهای *G. mellonella* و ظهور نتاج نسل اول در برخی از لاشه‌ها، چرخه‌ی زندگی نماتد ادامه نیافت و با تشریح لاروهای حشره‌های تیمار شده در طی دوره‌ی آزمایش، نماتدهای مرده در داخل لاشه مشاهده گردید. در همین دما *H. bacteriophora* بدون هیچ گونه مشکلی به نشوونما ادامه داده و لاروهای آلوده‌کننده از تمامی لاشه‌های مربوط به این تیمار دمایی خارج شدند. بروک و همکاران (2005) نشان دادند که بیماری‌زایی *H. bacteriophora* در دماهای پایین‌تر از 25 درجه‌ی سانتی‌گراد کاهش می‌یابد، درحالی که *H. marelatus* با دماهای پایین‌تر سازگار می‌باشد. این امر نشان می‌دهد که نه تنها در بین گونه‌های جنس‌های مختلف، بلکه در بین گونه‌های یک جنس نیز دمای مطلوب برای تولید مثل و بیماری‌زایی متفاوت می‌باشد. بنابراین در استفاده از آن‌ها برای کنترل حشرات هدف، این ترجیح دمایی حتماً باید مورد تاکید باشد. گذشته از آن، جدایه‌های جغرافیایی مختلف یک گونه نیز نسبت به دما پاسخ‌های متفاوتی دارند (هزیر و همکاران 2001). بنابراین به لحاظ رفتارهای متفاوت جدایه‌های مختلف در برابر دما، شناسایی گونه لازم بوده، ولی کافی نخواهد بود. بنابراین، هر جدایه‌ای باید قبل از استفاده‌ی وسیع مورد بررسی خصوصیات زیستی قرار گیرد. با توجه به تاثیر

منابع مورد استفاده

- Adams BJ and Nguyen KB, 2002. Taxonomy and systematics. In Gaugler, R. (ed), Entomopathogenic nematology. CABI Publishing. Pp.1-34.
- Brown IM and Gaugler R, 1997. Temperature and humidity influence emergence and survival of entomopathogenic nematodes. *Nematologica* 43: 363-381.
- Bruck DJ, Shapiro-Ilan DI and Lewis EE, 2005. Evaluation of application technologies of entomopathogenic nematodes for control of the black vine weevil. *Journal of Economic Entomology* 98: 1884-1889.
- Eivazian N, Niknam GR, Griffin CT, Mohammadi SA and Moghaddam M, 2009. A survey of entomopathogenic nematodes of families Steinerneratidae and Heterorhabditidae (Nematoda: Rhabditida) in the north-west of Iran. *Nematology* 11: 107-116.

- Gouge DH, Lee LL and Henneberry TJ, 1999. Parasitism of diapausing pink bollworm *Pectinophora gossypiella* (Lepidoptera: Gelechiidae) larvae by entomopathogenic nematodes (Nematoda: Steinernematidae, Heterorhabditidae). *Crop Protection* 18: 531-537.
- Hazir S, Stock SP, Kaya HK, Koppenhöfer AM and Keskin N, 2001. Developmental temperature effects on five geographic isolates of entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 77: 243-250.
- Kaya HK, 1993. Entomogenous and entomopathogenic nematodes in biological control. In Evans, K, Trudgill, DL and Webster, JM (eds.), *Plant parasitic nematodes in temperate agriculture*. CABI Publishing, UK. Pp. 565-591.
- Koppenhöfer AM and Fuzy EM, 2003. Ecological characterization of *Steinernema scarabaei*, a scarab-adapted entomopathogenic nematode from New Jersey. *Journal of Invertebrate Pathology* 83: 139-148.
- Kung S, Gaugler R and Kaya HK, 1991. Effects of soil temperature, moisture, and relative humidity on entomopathogenic nematode persistence. *Journal of Invertebrate Pathology* 57: 242-249.
- Lacey LA, Arthurs SP, Unruh TR, Headrick H and Fritts Jr R, 2006. Entomopathogenic nematodes for biological control of codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) in apple and pear orchards: Effect of nematode species and seasonal temperatures, adjuvants, application equipment, and post-application irrigation. *Biological Control* 37: 214-223.
- Long SJ, Richardson PN and Fenlon JS, 2000. Influence of temperature on the infectivity of entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis* spp.) to larvae and pupae of the vine weevil *Otiorhynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Nematology* 2: 309-317.
- Mahar AN, Munir M and Laghari KB, 2004. Production and pathogenicity of four steinernematids in diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Asian Journal of Plant Sciences* 3: 484-488.
- Millar LA and Barbercheck ME, 2001. Interaction between endemic and introduced entomopathogenic nematodes in conventional-till and no-till corn. *Biological Control* 22: 235-245.
- Nguyen KB, Hunt DJ and Mráček Z, 2007. Steinernematidae: species description. In Nguyen KB and Hunt, DJ (eds) *Entomopathogenic nematodes: Systematics, phylogeny and bacterial symbionts*. Brill, Leiden-Boston. Pp. 121-604
- Nguyen KB and Smart GC Jr, 1990. *Steinernema scapterisci* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae). *Journal of Nematology* 22: 187-199.
- Poinar GO Jr, 1975. Description and biology of a new insect parasitic rhabditoid, *Heterorhabditis bacteriophora* n. gen., n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae n. fam.). *Nematologica* 21: 463-470.
- Ratnasinghe G and Hague NGM, 1998. The invasion, development and reproduction of *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Nematropica* 28: 1-6.

- Rechcigl JE and Rechcigl NA, 2000. Insect pest management techniques for environmental Protection. Lewis Publishers. Boca Raton.
- Smart GC Jr, 1995. Viewpoint on entomopathogenic nematodes for the biological control of insects. Supplement to the Journal of Nematology 27: 529-534.
- Woodring JL and Kaya HK, 1988. Steinernematid and heterorhabditid nematodes: A handbook of biology and techniques. Southern Cooperative Series Bulletin 331. Arkansas Agricultural Experiment Station, Fayetteville, Arkansas.
- Wouts WM, 1980. Biology, life cycle and redescription of *Neoplectana bibionis* Bovien, 1937 (Nematoda: Steinernematidae). Journal of Nematology 12: 62-71.