

Comparison of the role of *Steinernema carpocapsae* and *Bacillus thuringiensis* in Control of *Tuta absoluta* under Laboratory and Greenhouse conditions

Elmira Abootorabi^{1*} , Shahram Farrokhi², Farhad Saiedi Naieni²

Received: July 25, 2023

Accepted: June 13, 2024

1-Instructor, Nematology Dept. National Plant Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Tehran, Iran.

2-Assist. Prof., 1- Instructor, Nematology Dept. National Plant Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Tehran, Iran.

Corresponding Author E-mail: Elabootorabi@gmail.com

Abstract

Background and objective: The tomato leafminer, *Tuta absoluta* is a devastating key pest of tomato, and its damage may reach up to 100%. Here, the potential of the infective juveniles (IJ_s) of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* species on different larval stadia of *T. absoluta* was studied under laboratory conditions and the ability of most effective nematode concentration when applied in the greenhouse conditions.

Material and Methods: In the *in vitro*, the six concentrations of third-infective juveniles *S. carpocapsae* (0, 125, 200, 355, 632 and 1124 IJs/ml) were tested against the three larval instars, L2, L3 and L4 of *T. absoluta*. In the greenhouse test, three treatments included; *S. carpocapsae* (1124 IJs/ml), *Bacillus thuringiensis* (0.25%, Belthirul 32% WP, Probelte Co.) selected from among the four tested Bt options and control in a completely randomized design with six replicates were conducted.

Results: In the *Invitro*, forty-eight hours after infection, the entomopathogenic nematode was able to infect all instars of the pest. With increasing density of *S. feltiae*, the pest larva mortality also increased with a significant difference at 1% probability level. The percentage mortality of L2, L3 and L4 at the highest concentration of nematodes (1124 IJs) were 43.5, 78.8 and 93.2%, respectively. In the *Invivo*, at the lowest concentration of nematodes (125 IJs) were 16.8, 26.7, and 30.3%. The percentage mortality of different *T. absoluta* larval stages by *S. carpocapsae* and *B. thuringiensis* treatments were 77.5%±2.9 and 40%±13.7 with a significant difference at 1 % probability level.

Conclusion: The results indicate the potential of *S. carpocapsae* as a native entomopathogenic nematode could be used in an integrated management measure in controlling of the *T. absoluta* and Compared to Bt, it played a more effective role in reducing the pest population.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*. Biological control, *Steinernema carpocapsae*, *Tuta absoluta*



This is an open-access article under the CC BY NC license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/>)

Copyright© 2025 Elmira Abootorabi E-mail: Elabootorabi@gmail.com

<https://doi.org/10.22034/saps.2023.57731.3086>



مقایسه نقش *Bacillus thuringiensis* و *Steinernema carpocapsae* در کنترل بید گوجه فرنگی *Tuta absoluta* در شرایط آزمایشگاه و گلخانه

المیرا ابوترابی^{۱*}، شهرام فرخی^۲، فرهاد سعیدی نائینی^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۰۳	تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۴
--------------------------	-------------------------

۱- مربی بخش نماتدشناسی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.
۲- استادیار، بخش نماتدشناسی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.
*مسئول مکاتبه: E-mail: Elabootorabi@gmail.com

چکیده

مقدمه و اهداف: بید گوجه فرنگی (*Tuta absoluta*)، یکی از آفات مخرب و کلیدی گوجه فرنگی است که در صورت طغیان محصول را به طور کامل از بین می برد. در این بررسی بیماریگری نماتد *Steinernema carpocapsae* روی سنن مختلف لاروی *T. absoluta* در شرایط آزمایشگاه و همچنین غلظت موثر نماتد در کنترل آفت در شرایط گلخانه ارزیابی شد.

مواد و روش ها: در مطالعه آزمایشگاهی، تاثیر غلظت های صفر، ۱۲۵، ۲۰۰، ۳۵۵، ۶۳۲ و ۱۱۲۴ عدد لارو عفونت زای سن سوم نماتد (IJs) روی لاروهای سنن دو تا چهار بید گوجه فرنگی ارزیابی شد. برای انجام آزمایش در شرایط گلخانه، سه تیمار شامل موثرترین غلظت نماتد معادل ۱۱۲۴ عدد IJs در یک میلی لیتر آب، فراورده بلتیرول (*Bacillus thuringiensis*) با غلظت ۲/۵ در هزار (WP۳۲) انتخاب از بین چهار گزینه ی مورد آزمایش Bt به عنوان تیمار مقایسه و تیمار شاهد بدون نماتد در شش تکرار در نظر گرفته شد.

یافته ها: در بررسی آزمایشگاهی، ۴۸ ساعت پس از آلوده سازی، نماتد قادر به بیمارکردن سنن لاروی آفت بوده و در تراکم بالای جمعیت نماتد، درصد تلفات نیز افزایش یافته است. درصد تلفات سنن لاروی *T. absoluta* در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی داری با یکدیگر داشتند. درصد مرگ و میر لاروهای سنن دوم، سوم و چهارم در بالاترین غلظت نماتد (۱۱۲۴ عدد IJs) به ترتیب ۴۳/۵، ۷۸/۸ و ۹۳/۲ درصد بود. این مقادیر در کمترین غلظت نماتد (۱۲۵ عدد IJs) به ترتیب معادل ۱۶/۸، ۲۶/۷ و ۳۰/۳ درصد بود. در ارزیابی گلخانه ای، میانگین تلفات سنن مختلف لاروی بید گوجه فرنگی در تیمار *S. carpocapsae* با ۲/۹ ± ۷۷/۵ درصد در مقایسه با نتایج حاصل از تاثیر فراورده Bt با ۱۳/۷ ± ۴۰ درصد و تیمار شاهد، اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد داشت.

نتیجه گیری: پتانسیل و تاثیر *S. carpocapsae* در ایجاد تلفات در لاروهای بید گوجه فرنگی قابل توجه بود و در مقایسه با Bt نقش موثرتری در کاهش جمعیت آفت داشت.

واژه های کلیدی: بید گوجه فرنگی، کنترل بیولوژیک، نماتد بیمارگر حشرات، *Steinernema* *Bacillus thuringiensis* *Tuta absoluta* *carpocapsae*

مقدمه

شب‌پره مینوز یا بید گوجه‌فرنگی با نام علمی *Tuta absoluta* Meyrick (Lep., Gelechiidae) یکی از مهمترین آفات گوجه‌فرنگی می‌باشد. این آفت تهدیدی جهانی برای محصول گوجه‌فرنگی در جنوب آمریکا، اروپا، شمال آفریقا و اخیراً در خاورمیانه شده است. با وجود اینکه ترجیح غذایی آن گوجه‌فرنگی می‌باشد اما روی سایر گیاهان تیره *Solanaceae* از جمله بادمجان، فلفل شیرین، سیب‌زمینی، داتوره و تاجریزی دیده شده و از آن‌ها تغذیه می‌کند (دسنکس و همکاران ۲۰۱۱). بید گوجه‌فرنگی برای اولین بار در سال ۱۳۸۹ در یکی از مزارع گوجه‌فرنگی در اطراف ارومیه توسط جوادی امام‌زاده، جمع‌آوری و توسط عالی‌پناه شناسایی شد. دومین محل انتشار آفت در کشور، شهرستان برازجان استان بوشهر بود که آفت در تله‌های فرمونی شکار شد. با ردیابی آفت در دیگر مناطق کشور، مشخص شد که بید گوجه‌فرنگی در مدت ۱۳ ماه، مزارع گوجه‌فرنگی ۲۴ استان کشور را آلوده کرده است (بنی‌عامری و چراغیان ۲۰۱۱).

در حال حاضر اصلی‌ترین روش کنترل این آفت استفاده از سموم شیمیایی است. سمومی که برای کنترل آن استفاده می‌شوند معمولاً حشره‌کش‌های فسفره و پایروتروئیدی هستند، البته اخیراً حشره‌کش اسپینوساد با نحوه تاثیر متفاوت نیز برای کنترل آن به کار می‌رود که در بعضی از مناطق سمپاشی به صورت هفتگی صورت می‌گیرد که باعث جلوگیری از افزایش تراکم آفت و همچنین باعث افزایش محصول می‌شود، با این وجود افزایش کاربرد روش مبارزه شیمیایی باعث مقاومت در این آفت شده است (رییست و همکاران ۲۰۱۲). بنابراین مشکلات مقاومت و همچنین اثرات منفی آفت‌کش‌های شیمیایی موجب شده است که راه‌های جایگزین آفت‌کش-های شیمیایی برای کنترل آفات در نظر گرفته شوند (ایسمام ۲۰۰۶).

یکی از روش‌های موثر در کنترل این گونه آفات، بهره‌گیری از روش کنترل بیولوژیک است که تا کنون در

بسیاری از کشورها انجام شده و یا در حال انجام است (بلوئم و استر ۲۰۱۱). مهار زیستی آفات توسط نماتدهای بیمارگر حشرات^۱ یکی از موضوعاتی است که در دهه-های اخیر توجه زیادی را به خود جلب نموده است (هانت ۲۰۰۷). این نماتدها، به دلیل توانایی ایجاد مرگ سریع میزبان و قابلیت استفاده از آنها همراه با سایر عوامل کنترل بیولوژیک و همچنین سموم شیمیایی که موارد زیادی از هم‌افزایی نیز گزارش شده است، خود را به عنوان یکی از عوامل کنترل بیولوژیک کارآمد در کنترل آفات مطرح است. از این رو، نماتدهای بیمارگر حشرات به عنوان یک گزینه مناسب در مدیریت تلفیقی آفات معرفی شده است (کوپن هوفر و گریوال ۲۰۰۵). در شرایط مساعد، بید گوجه‌فرنگی بین ۱۲-۱۰ نسل در سال دارد و یک نسل آن بسته به شرایط محیطی حدود ۳۵-۳۰ روز به طول می‌انجامد. خسارت آن به‌صورت کاهش رشد گیاه میزبان، ایجاد دالان در برگ، خسارت به میوه و کاهش بازارپسندی آن قابل مشاهده است. لذا با توجه به اهمیت خسارتزائی، نام این حشره در فهرست آفات قرنطینه‌ای بسیاری از کشورها قرار گرفته است.

تاکنون از ایران، پنج گونه نماتد بیمارگر حشرات شامل: *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar، *Steinernema bicornutum* Tallosi, Peters and Ehlers, *Steinernema carpocapsae* Weiser, *Steinernema feltiae* Filipjev, *Steinernema glaseri* Steiner از آذربایجان‌های شرقی و غربی، اردبیل، تهران و خراسان شمالی گزارش شده‌اند (پرویزی و همکاران ۲۰۰۲، تنهامعافی و همکاران ۲۰۰۶، کریمی و همکاران ۲۰۰۷، عیوضیان و همکاران ۲۰۰۹، نیکدل و همکاران ۲۰۱۰، کریمی و همکاران ۲۰۱۳).

در بررسی‌های تجربی و مقدماتی گونه *S. carpocapsae* در شرایط آزمایشگاهی توانست ظرف مدت ۴۸ ساعت همه لاروهای بید گوجه‌فرنگی را پارازیت نماید (ابوترابی ۲۰۱۴). در سایر بررسی‌ها، نماتد مذکور قادر به پارازیت نمودن سنین مختلف لاروی کرم گلوگاه انار (*Ectomyelois ceratoniae*) طی ۷۲-۴۸ ساعت بود (ابوترابی ۲۰۱۱) همچنین تاثیر کنترل‌کنندگی گونه *S.*

۱. Entomopathogenic nematodes

carpocapsae روی کرم ساقه‌خوار ذرت (*Ostrinia nubilalis*) این آفت به خوبی کنترل شد (ابوترابی و ولی - زاده ۲۰۱۱).

نتایج حاصل از یک تحقیق، اثر گونه‌های *S. feltiae*، *S. carpocapsae* و *H. bacteriophora* را در پارازیت‌ه نمودن لارو *T. absoluta* در شرایط گلخانه تحقیقاتی به ترتیب ۹۰، ۷۰ و ۷۱ درصد داخل دالان پارانیشیم برگ و ۹۴/۸ و ۹۴/۱ و ۸۸/۹ درصد خارج از دالان نشان داد. همچنین بر اثر محلولپاشی ۱۰۰۰ عدد لارو در میلی‌لیتر از گونه‌های مذکور روی بوته‌های آلوده به *T. absoluta*، باعث ایجاد ۸۷ تا ۹۵ درصد تلفات شده است (باتالا و کارا ۲۰۱۰). اثر آنتاگونیستی سه گونه نماتد بیمارگر، شامل *S. feltiae*، *S. carpocapsae* و *H. bacteriophora* روی مراحل مختلف زیستی *T. absoluta* در شرایط آزمایشگاهی، به ترتیب ۹۶/۷، ۱۰۰ و ۵۲/۳ درصد پارازیت‌یسم لاروها را نشان داد (گارسیا و همکاران ۲۰۱۳).

باکتری *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* یک باکتری همه‌جازی، گرم مثبت، هوازی یا بی‌هوازی اختیاری است که در سال ۱۹۱۱ توسط ارنست برلینر از لاروهای آلوده بید آرد جداسازی، شناسایی و نام‌گذاری شد (بربرت مولینا و همکاران ۲۰۰۸). این باکتری یک حشره‌کش موفق در کشاورزی است که در حال حاضر از ژن‌های آن در گیاهان تراریخت، برای ایجاد مقاومت به آفت در گیاه نیز استفاده می‌شود. باکتری *Bt* در همولنف حشرات به سرعت تکثیر پیدا می‌کند و باعث ایجاد عفونت خونی می‌شود (هیرسون و همکاران ۱۹۸۶). در یک پژوهش، در پنج گلخانه گوجه‌فرنگی برای کنترل بیولوژیک بید گوجه‌فرنگی از زنبور *Trichogramma achaeae* باکتری *Bt* و سن شکارگر *Macrolophus caliginosus* استفاده و مشاهده شد که هر تیمار به صورت جداگانه و به‌ویژه ترکیب هر سه عامل با هم تاثیر زیادی در کاهش خسارت بید گوجه‌فرنگی دارند (چیلکس و همکاران ۲۰۱۳). در یک مطالعه دیگر ترکیب باکتری *Bt* و سن *Nesidiocoris tenuis* علیه بید گوجه‌فرنگی خسارت آن را تا ۹۷ درصد کاهش داده است (مولا و همکاران ۲۰۱۱).

بر اساس منابع، یکی از روش‌های جایگزین سموم حشره‌کش، بهره‌گیری از فرمولاسیون‌های مختلف باکتری *Bt* به‌عنوان یکی از عوامل کنترل بیولوژیک در چند دهه اخیر است که فاقد هر گونه اثرات زیست محیطی مخرب می‌باشند. بررسی‌های متعددی در ارتباط با تاثیر *Bt* در کنترل بید گوجه‌فرنگی (*T. absoluta*)، نقش موثر این عامل بیولوژیک را در این زمینه تایید می‌نماید، به‌طوری‌که این باکتری قادر به ایجاد بیماری در تمام سنین لاروی بید گوجه‌فرنگی می‌باشد (گیوستولین و همکاران ۲۰۰۱). بررسی‌های انجام شده در شرایط آزمایشگاهی، گلدانی و مزرعه‌ای نشان داد که ۹۰ درصد از لاروهای بید گوجه‌فرنگی توسط باکتری *Bt* کنترل شده است. که در این بین لارو سن اول در مقایسه با سایر سنین لاروی این آفت، نسبت به باکتری حساس‌تر بوده و بیشترین درصد کنترل مربوط به همین سن لاروی می‌باشد (گونزالز و همکاران ۲۰۱۱). در بررسی انجام شده توسط ال سعیدی و همکاران (۲۰۱۷)، از تاثیر غلظت‌های مختلف *Bt* در مرگومیر سنین ۱ تا ۴ لارو *Tuta absoluta*، نتایج نشان داد، غلظت ۱۰^۶ سلول در میلی لیتر *Bt* روی سنین ۱، ۲، ۳ و ۴ لارو توتا، به ترتیب باعث ایجاد تلفات ۲۰٪، ۲۲/۶٪، ۱۸/۶٪ و ۲۳/۳٪ گردید.

نتایج حاصل از ارزیابی اثر پنج سویه باکتری *Bt* در سه غلظت ۱، ۳ و ۵ درصد در میلی لیتر در مرگو-میرلارو سن ۳ *Tuta absoluta*، نشان داد که هر چه غلظت باکتری افزایش یابد، در مدت زمان کوتاه تری، تلفات لارو توتا، سریعتر به وقوع می‌پیوندد و میزان تلفات ۱۰۰ درصد بوده است (بایندر ارول و اردوغان ۲۰۲۲).

این پژوهش با هدف بررسی قابلیت بیمارگری جدایه بومی نماتد *S. carpocapsae* و باکتری *B.thurengiensis* در کنترل بید گوجه‌فرنگی (*T. absoluta*) در شرایط آزمایشگاه و گلخانه، به‌منظور ارائه راهکار جدیدی در مدیریت تلفیقی این آفت انجام شده است.

مواد و روش‌ها

تکثیر نماتد *S. carpocapsae*

برای جداسازی نماتد از خاک‌های نمونه‌برداری شده از مزارع یونجه در استان تهران (تنهامعافی و همکاران ۲۰۰۶)، از روش طعمه‌گذاری با لارو سن آخر شب‌پره موم‌خوار *Galleria mellonella* L. استفاده شد. لاروهای بیمار با روش تله وایت^۲ بررسی و نماتدها با استفاده از این روش جداسازی شدند (وایت ۱۹۲۷). لاروهای عفونت‌زای نماتد پس از جمع‌آوری، در دمای ۱۲°C نگهداری شدند (استوک و گودریچ بلییر ۲۰۱۲).

جمع‌آوری، تکثیر و پرورش لارو *T. absoluta*

برای این منظور، تعدادی از حشرات نر و ماده بالغ بید گوجه‌فرنگی جمع‌آوری شده از گلخانه گوجه‌فرنگی آلوده به بید گوجه‌فرنگی واقع در شهرستان ورامین، روی بوته‌های گوجه‌فرنگی رقم فلات درون قفس‌های توری رهاسازی شدند. پس از جفت‌گیری و تخم‌ریزی حشرات ماده روی سطح برگ‌ها، امکان دستیابی به جمعیت مورد نیاز از سنین مختلف لاروی فراهم شد.

آزمون بیماری‌زایی در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی

ارزیابی کارایی نماتد *S. carpocapsae* روی سنین مختلف لاروی *T. absoluta*

در این مرحله، تاثیر لاروهای عفونت‌زای سن سوم *S. carpocapsae* بر سنین دوم تا چهارم لارو بید گوجه‌فرنگی بررسی شد. برای این منظور یک میلی‌لیتر آب مقطر استریل حاوی غلظت‌های صفر، ۱۲۵، ۲۰۰، ۲۵۵، ۳۲۲، ۱۱۲۴ عدد لارو سن سوم عفونت‌زای نماتد *S. carpocapsae* به تفکیک در ظرف‌های پتری (قطر دهانه ۵/۵ سانتی‌متر) حاوی کاغذ صافی مرطوب ریخته و سپس ۱۵ عدد لارو سالم سنین دوم تا چهارم بید گوجه‌فرنگی به‌طور مجزا به داخل آنها منتقل شد. در ظرف‌های مربوط به تیمار شاهد حاوی لاروهای آفت، فقط از آب مقطر استریل (بدون نماتد) استفاده شد. پتری‌ها به مدت

سه روز در دمای ۲۴±۲°C با فتوپریود طبیعی (۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی) نگهداری شدند. لاروهای مرده برای تایید آلودگی به نماتد، به تله وایت منتقل شدند (کایا و استوک ۱۹۹۷). لاروهای مرده، در زیر استرئومیکروسکوپ تشریح و درصد مرگ‌ومیر لاروها بر اساس فرمول آبوت (آبوت ۱۹۲۵) محاسبه شد.

آنالیز داده‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل (فاکتور غلظت در پنج سطح و فاکتور سن لاروی میزبان در سه سطح)، در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار برای هر سن لاروی انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون فاکتوریل بر اساس برنامه آماری SAS ۱۰.۹ ارزیابی و میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) در سطح احتمال یک درصد مقایسه شدند.

ارزیابی کارایی باکتری *B. thuringiensis* روی سنینمختلف لاروی *T. absoluta*

ابتدا فرمولاسیون‌های باکتری *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (BTK) برای اطمینان از وجود کریستال و اسپور در محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد. برای انتخاب بهترین فراورده میکروبی BTK، از چهار فرمولاسیون شامل بایولپ پودری (سه در هزار)، بایولپ مایع (۶ در هزار) فرمولاسیون مایع تولید شده در بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک (۶ در هزار) و فرمولاسیون پودری ساخت شرکت پروبلته اسپانیا (بلیتیرول ۲/۵ در هزار) به همراه توئین ۸۰ (۰/۵ در هزار) استفاده شد.

برای تعیین بهترین فرمولاسیون باکتری *B. thuringiensis* روی هر برگچه گیاه گوجه‌فرنگی که به‌صورت جداگانه با غلظت‌های مورد نظر از فرمولاسیون‌های باکتری، محلول‌پاشی شده بودند، با استفاده از قلم‌موی ظریف به تفکیک پنج عدد تخم سرسیاه و آماده تفریح، لارو سنین دوم و چهارم *T. absoluta* قرار داده و در شرایط اتاق حرارت ثابت میزان

^۲. White trap

خشک شدن لارو نماتد، رطوبت فضای داخل گلخانه نیز تامین می‌شد.

تیمار شاهد شامل بوته‌های آلوده به سنن مختلف آفت بود که مشابه گلدان‌های تیمار شده با سوسپانسیون حاوی نماتد، طی سه نوبت سطح پشتی و شکمی برگ‌ها با آب خالص محلول‌پاشی شد. ۴۸ تا ۷۲ ساعت پس از محلول‌پاشی، برگ‌های آلوده به بید گوجه‌فرنگی بررسی و در صورت عدم تحرک و مشاهده تغییر رنگ لارو آفت، لارو از سطح برگ جدا و به تله وایت انتقال داده شدند. درصد تلفات اصلاح شده، بر اساس روش آبوت (۱۹۲۵) تعیین شد.

از فراورده تجاری بلیتیرول (32% WP) (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*) که در بررسی آزمایشگاهی از بین چهار تیمار آزمایشی انتخاب شده بود، به نسبت ۲/۵ در هزار به‌عنوان تیمار مقایسه‌ای استفاده شد. با توجه به تفاوت ماهیت و گوارشی بودن نحوه تأثیر Bt، پس از پرورش نشاء گوجه‌فرنگی و رسیدن بوته‌ها به مرحله هشت برگی، ابتدا محلول‌پاشی باکتری روی سطح برگ‌ها صورت گرفت و پس از ۲۰ دقیقه، ۳۰ عدد لارو بید گوجه‌فرنگی (سنن دوم تا چهارم) روی برگ‌ها به‌طور تصادفی قرار داده شد. پس از گذشت چهار روز، ضمن شکافتن دالان‌های لاروی، نتیجه تأثیر باکتری در ایجاد تلفات لارو بر اساس علائم بیماری و فعالیت لاروهای سالم ارزیابی و محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار آماری SAS ۱۰.۹ صورت گرفت و گروه‌بندی میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) ارزیابی و با یکدیگر مقایسه شد.

نتایج و بحث

در بررسی آزمایشگاهی ۴۸ ساعت پس از آلوده-سازی، سنن لاروی دوم تا چهارم *T. absoluta* به‌خوبی توسط نماتد *S. carpocapsae* آلوده شدند به جز لارو سن اول *T. absoluta* که به دلیل کوچک بودن روزنه‌های تنفسی نماتدها قادر به نفوذ نبودند (شکل ۱).

تلفات لاروهای سنن اول تا چهارم حداکثر تا ۹ روز بررسی و ثبت شد. برای هر یک از تیمارها (فرمولاسیون باکتری و سن لاروی) ۱۰ عدد برگچه مورد بررسی قرار گرفت. برای این آزمایش سنن دقیق لاروی از روی ابعاد کپسول سر لاروی داخل دالان برگچه‌ها تشخیص داده شد. در هر روش از برگچه‌های تیمار شده با محلول تویین ۸۰ به‌عنوان شاهد استفاده شد.

آزمایش گلخانه‌ای

بررسی تأثیر *S. carpocapsae* روی سنن مختلف لاروی *T. absoluta*

آزمایش گلدانی با سه تیمار شامل تیمار نماتد، Bt و شاهد در شرایط گلخانه با دمای $24 \pm 2^\circ\text{C}$ و رطوبت نسبی ۵۰-۷۰ درصد و فتوپریود طبیعی، در شش تکرار انجام شد. برای این منظور نشاء گوجه‌فرنگی (رقم فلات) در گلدان‌های یک کیلوگرمی پرورش داده شد و پس از اینکه رشد نشاء به مرحله ۳۰ سانتی‌متری رسید، به‌وسیله قلم‌مو و به‌طور تصادفی ۳۰ عدد لارو سالم و فعال بید گوجه‌فرنگی (۱۰ عدد لارو از هر یک از سنن دوم تا چهارم) روی سطح برگ‌های هر بوته قرار داده شد. محل قرار گرفتن لاروها علامت‌گذاری و دو روز به آن‌ها مهلت داده شد تا داخل بافت گیاه دالان حفر کنند.

از برآورد نتایج اولیه حاصل از بررسی آزمایشگاهی، تراکم ۱۱۲۴ عدد نماتد در میلی‌لیتر برای انجام آزمایش گلدانی در نظر گرفته شد. برای محلول‌پاشی سطح بوته‌ها به طول ۳۰ سانتی‌متر شامل حدود ۲۰ برگ اصلی، به ازاء تعداد ۱۱۲۴ عدد نماتد در حجم یک میلی‌لیتر، سوسپانسیونی به حجم ۱۵ میلی‌لیتر آماده‌سازی نموده و ضمن هم زدن مداوم و یکنواخت شدن محلول، آن را به سه قسمت مساوی تقسیم نموده و هر قسمت از سوسپانسیون که حاوی حدود ۵۶۰۰ لارو نماتد بود، با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط نموده و روی سطح پشتی و شکمی برگ‌ها با فاصله زمانی هر شش ساعت یکبار محلول‌پاشی انجام شد. علاوه بر این به منظور مرطوب نگه داشتن سطح برگ‌ها و ممانعت از



شکل ۱- تجمع نماتدهای *Steinernema carpocapsae* روی لاشه لارو سن سوم *Tuta absoluta*.

در این آزمایش، نتایج تاثیر غلظت‌های مختلف نماتد *S. carpocapsae* روی سنین لاروی دوم تا چهارم *T. absoluta*، به صورت درصد تلفات ۴۸ ساعت پس از آلوده‌سازی، در جدول (۱) آورده شده، اختلاف تیمارها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. با افزایش غلظت نماتد، درصد تلفات نیز افزایش یافت، به طوری که در بالاترین و موثرترین غلظت نماتد (۱۱۲۴ عدد لارو سن سوم نماتد)، بیشترین تلفات در سنین لاروی دوم تا چهارم به ترتیب به میزان $43/5 \pm 9/36$ ، $78/8 \pm 5/26$ و $93/2 \pm 9/21$ درصد بدست آمد. بیشترین تلفات در لارو سن چهارم بید گوجه فرنگی (L4) و سپس لارو سن سوم (L3) تحت تاثیر بالاترین غلظت نماتد (۱۱۲۴ عدد لارو) مشاهده شد که نشان می‌دهد نماتد *S. carpocapsae* سنین سوم و چهارم لارو بید گوجه فرنگی را که منافذ قابل نفوذتری در مقایسه با سنین پایین‌تر دارند، بیشتر مورد هدف قرار می‌دهد (جدول ۱). بدون در نظر گرفتن سن لاروی میزبان هدف، در مجموع به طور متوسط تلفاتی معادل ۲۴/۸ الی ۷۱/۸ درصد بر اثر پنج غلظت نماتد به کار رفته در این آزمایش، بدست آمده است (داده‌های تجمیع شده، جدول ۱).

در این آزمایش، نتایج تاثیر غلظت‌های مختلف نماتد *S. carpocapsae* روی سنین لاروی دوم تا چهارم *T. absoluta*، به صورت درصد تلفات ۴۸ ساعت پس از آلوده‌سازی، در جدول (۱) آورده شده، اختلاف تیمارها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. با افزایش غلظت نماتد، درصد تلفات نیز افزایش یافت، به طوری که در بالاترین و موثرترین غلظت نماتد (۱۱۲۴ عدد لارو سن سوم نماتد)، بیشترین تلفات در سنین لاروی دوم تا چهارم به ترتیب به میزان $43/5 \pm 9/36$ ، $78/8 \pm 5/26$ و $93/2 \pm 9/21$ درصد بدست آمد. بیشترین تلفات در لارو

جدول ۱- درصد تلفات (میانگین $\pm$ SE) سنین لاروی دوم تا چهارم *Tuta absoluta* توسط نماتد *Steinernema carpocapsae* بعد از ۴۸ ساعت در شرایط آزمایشگاه.

تیمار (تعداد نماتد / میلی لیتر)	سنین لارو نماتد (n=15)			میانگین داده ها** (n=35)
	L2	L3	L4	
125	$16/8 \pm 4/58$ e*	$26/7 \pm 1/83$ e	$30/3 \pm 2/75$ e	$24/8 \pm 2/07$ D*
200	$21/8 \pm 3/81$ e	$29/3 \pm 4/19$ e	$34/8 \pm 3/33$ e	$28/8 \pm 1/39$ D
355	$26/7 \pm 4/51$ e	$41/6 \pm 3/08$ d	$55/9 \pm 4/32$ c	$41/6 \pm 1/14$ C
632	$29/1 \pm 3/66$ e	$58/6 \pm 1/47$ c	$74/6 \pm 5/72$ b	$54/4 \pm 2/23$ B
1124	$43/9 \pm 5/36$ e	$78/5 \pm 8/26$ a	$93/2 \pm 9/21$ a	$71/8 \pm 7/61$ A
Control	$8/9 \pm 2/22$	$8/9 \pm 2/22$	$4/4 \pm 2/22$	$7/4 \pm 0/74$

* میانگین های دارای حروف مشابه در هر ستون اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد ندارند.

** داده تجمیع شده: مجموع نتایج مربوط به سه سن لاروی بررسی شده می باشد.

میانگین درصد تلفات ناشی از آن، به ترتیب روی سنین اول تا چهارم لاروی معادل

از میان چهار فرمولاسیون *B. thuringiensis* فراورده بلتیرول (شرکت پروبلته اسپانیا) روی سنین دو تا چهار لاروی بید گوجه فرنگی، بیشترین تاثیر را داشت.

۱۳۹ ± ۶۶/۶۷، ۶۴ ± ۹/۸، ۶/۵ ± ۳۱/۶۰ و ۱۱/۸ ± ۷۵ بدست آمد، که به همین دلیل از این فرمولاسیون برای انجام آزمایش گلخانه‌ای استفاده شد. در بررسی گلدانی، پس از رهاسازی سنن لاروی بیدگوجه‌فرنگی روی بوته‌ها و محلولپاشی نماتد، میزان تلفات ارزیابی شد (جدول ۲). اکثر لاروها در اثر آلودگی

به نماتد، بیمار شده بودند. در گلدان‌های شاهد، اکثر لاروها به حشره کامل تبدیل شدند. چهار روز پس از آلوده‌سازی لارو بید گوجه‌فرنگی با Bt، تاثیر باکتری در ایجاد تلفات لارو بر اساس علائم بیماری و فعالیت لاروهای سالم ارزیابی و محاسبه شد. شرایط آزمایش و سنن لاروی آفت مشابه واحدهای آزمایشی ارزیابی نماتد آماده سازی شد.

جدول ۲- میانگین درصد مرگ و میر لارو بید گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* توسط نماتد *Steinernema carpocapsae* و فرمولاسیون تجاری *Bacillus thuringiensis* در شرایط گلخانه.

تیمار (n=30)	میانگین درصد مرگ و میر ± اشتباه استاندارد
<i>S. carpocapsae</i> ۱۱۲۴IJ/ml	۷۷/۵ ± ۲/۹a
Bt ۲/۵/۱۰۰۰ ml	۴۰ ± ۱۳/۷b
Control	۱۲/۴ ± ۳/۴ c

میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه در یک ستون، بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد هستند.

طبق گزارش دودس و پیترز (۲۰۰۲)، سنن بالاتر لارو بید گوجه‌فرنگی به دلیل داشتن جثه و روزه‌های تنفسی بزرگتر و قابل ورود برای نماتد، بیشتر مورد هدف قرار گرفت. همچنین به واسطه سوخت و ساز بیشتر، مقدار تولید محرک‌های فراری که باعث جلب نماتد می‌شوند، در لاروهای بزرگتر بیشتر است (هالم و همکاران ۲۰۱۱). نتیجه تاثیر سه گونه *S. carpocapsa*، *S. feltiae* و *H. bacteriophora* روی سنن یک تا چهار لارو بید گوجه‌فرنگی، نشان داد که هر سه گونه نماتد، بیشترین تاثیر را روی سنن سه و چهار لارو در مقایسه با سنن یک و دو داشته اند که در بین سه گونه، *S. feltiae* ماکزیم کنترل را روی لارو آفت داشته است (وان دام و همکاران ۲۰۱۵). بر اساس گزارش این محقق، گونه *S. feltiae* روی سنن یک تا چهار لارو بید گوجه‌فرنگی به ترتیب با داشتن ۳/۶، ۶/۳، ۲۵ و ۲۱/۲ درصد تلفات، گونه *S. carpocapsa* به ترتیب با داشتن ۷/۷، ۳/۳، ۰، ۲/۶ درصد تلفات و گونه *H. bacteriophora* به ترتیب با داشتن ۵/۶

۴/۸، ۱۱/۱ و ۱۱/۳ درصد تلفات، اثر داشته‌اند. مطابق نتایج بررسی حاضر نیز تعداد تلفات در سنن لاروی سه و چهار بید گوجه‌فرنگی با داشتن اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد در مقایسه با تیمار شاهد و لارو سن دوم، قابل توجه بوده است. نتایج نشان داد که توانایی نماتد در ایجاد بیماریزایی و تلفات در لارو بید گوجه‌فرنگی با افزایش غلظت، بیشتر خواهد شد. بالاترین درصد مرگ و میر لارو سن چهارم بید گوجه‌فرنگی که بر اثر بیشترین غلظت نماتد اثر داده شده است (۹۳/۲ درصد)، حدود سه برابر تلفات لارو سن دوم در همین غلظت (۴۳/۹ درصد) بوده است. همچنین با افزایش سن لاروها، درصد آلوده شدن آنها نیز افزایش یافت و بیشترین سن لاروی بید گوجه‌فرنگی که مورد هدف نماتد قرار گرفت، لاروهای سنن سوم و چهارم بود. با گذشت ۴۸ ساعت پس از تلقیح تیمارهای آزمایشی، ۹۰ درصد تعداد لاروهای موجود در تیمار شاهد زنده باقی مانده و اکثرا تبدیل به شفیره و پروانه بالغ شدند و ۱۰ درصد

در تلفیق با یکدیگر در ایجاد تلفات موثر در جمعیت بید گوجه‌فرنگی است.

در بررسی گلدانی که سه تیمار نماتد، باکتری و شاهد در نظر گرفته شد، برای ارزیابی توانایی نفوذ نماتد به داخل پارانشیم برگ، ضمن رهاسازی سنین دو تا چهار لارو بید گوجه‌فرنگی به تعداد ۱۰ عدد از هر سن لاروی روی سطح برگها و ایجاد دالان توسط لاروها، محلولپاشی نماتد دو روز پس از رهاسازی لاروها صورت گرفت در حالیکه برای ارزیابی باکتری Bt، ابتدا سطح برگها توسط محلول تجاری بلیتیرول، محلولپاشی شد و ۳۰ دقیقه بعد رهاسازی لارو آفت صورت گرفت. با توجه به نتایج آزمایش، به نظر می‌رسد که این نماتد قادر به نفوذ به داخل پارانشیم برگ از محل شکاف‌های ایجاد شده در سطح برگ و ردیابی لارو آفت در حد چند میلی‌متر می‌باشد. از طرفی لاروهای آفت نیز به نماتد حساس بوده و کاربرد سوسپانسیون نماتد روی اندام‌های هوایی گیاه، می‌تواند لاروها را پارازیت نموده و منجر به کاهش خسارت آفت در مقایسه با تیمار شاهد شود.

بر اساس گزارش‌های اوربانزا و همکاران (۲۰۱۳) لاروهای بزرگ‌تر به غذای بیشتری احتیاج داشته و سطح دالان حفر شده توسط آن‌ها بیشتر است (اوربانزا و همکاران ۲۰۱۳)، بنابراین زمانی که نماتد روی گیاه محلولپاشی می‌شود، اگر وسعت دالان‌های ایجاد شده بیشتر باشد، احتمال نفوذ نماتد به درون دالان و یافتن لارو حشره آفت بیشتر است. طبق نظر آرتور و همکاران (۲۰۰۴) قرار گرفتن این آفت درون دالان‌های حفر شده در بافت گیاه، محیط مناسبی برای نماتد پدید می‌آورد که آن را از اثرات زیان بار محیطی از جمله خشکی و اشعهٔ فرابنفش حفظ می‌کند (آرتور و همکاران ۲۰۰۴). بر این اساس، نتایج حاصل از مشاهدات گلدانی نشان داد که، صرف‌نظر از تعداد معدودی لارو زنده باقی مانده در سطح برگ که احتمالاً از دسترس نماتد دور مانده‌اند و همچنین لاروهایی که پس از رهاسازی، از سطح برگ گریخته بودند، میزان تلفات در گلدان‌های تیمار شده با *S. carpocapsae*، بیش از ۷۷ درصد و این میزان در

تلفات بدون حضور نماتد، ناشی از محدودیت‌های موجود محیطی بوده است که در مقایسه با سایر تیمارها، نقش موثر حضور نماتد *S. carpocapsae* در توانایی آلوده‌سازی سنین مختلف لاروی بید گوجه‌فرنگی به‌ویژه سنین لاروی سوم و چهارم را نشان می‌دهد.

در بررسی آزمایشگاهی، تاثیر چهار ترکیب داخلی و خارجی *B. thuringiensis*، فراورده تجاری بلیتیرول (شرکت پروپلته اسپانیا) با غلظت ۲/۵ در هزار موثرترین نقش را در کنترل آفت داشته است. این ترکیب تجاری در مقایسه با نماتد *S. carpocapsae* که باعث مرگ و میر ۹۳/۲ درصد از لارو سن چهار بید گوجه‌فرنگی شد، توانست حدود ۷۵ درصد از این سن لاروی را بیمار نماید. همچنین بر خلاف نماتد که به دلیل کوچک بودن جثه و روزه‌های تنفسی لارو سن اول بید گوجه‌فرنگی، قادر به بیمار نمودن آن نبود، باکتری Bt توانست حدود ۶۷ درصد این سن لاروی را بیمار نماید که نشان می‌دهد باکتری Bt که به صورت گوارشی عمل می‌کند، قادر است آفت را حتی در مراحل اولیه لاروی و پیش از نفوذ به داخل بافت گیاه، مورد هدف قرار داده و تاییدی است بر ادعای گونزالس و همکاران (۲۰۱۱) که بیان کردند لارو سن یک در مقایسه با سایر سنین این آفت، نسبت به باکتری حساس‌تر بوده و اهمیت کنترل مربوط به سن یک لاروی بید گوجه‌فرنگی بوده است.

بر اساس گزارش دسنکس و همکاران (۲۰۱۰) عمده خسارت بید گوجه‌فرنگی توسط لاروهای سنین سه و چهار که به برگ و میوه گیاه میزبان حمله می‌کنند، ایجاد می‌شود. لذا نتایج آزمایشگاهی حاصل از بررسی حاضر، نشان داد که تیمار نماتد در مقایسه با تیمار باکتری به لحاظ تاثیر بیشتر بر کنترل سنین سه و چهار بید گوجه‌فرنگی، قابلیت زیادی از نظر کنترل آفت داشته است. بنابراین از نظر مهار زیستی در مقایسه با باکتری Bt از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. در مجموع، ارزیابی تاثیر دو تیمار نماتد و باکتری به دلیل نقش تاثیرگذار هر کدام از آنها روی سنین مختلف لارو بید گوجه‌فرنگی، بیانگر نقش موثر این دو عامل کنترل بیولوژیک به‌ویژه

گلدان‌های تیمار شده با *B. thuringiensis* ۴۰ درصد بوده است. در تیمار شاهد، تنها ۱۲ درصد لاروها بنا به دلیل شرایط محیطی اعم از تغییرات دما و رطوبت، از بین رفتند و اکثر لاروها به شفیره و پروانه بالغ تبدیل شدند. بنابراین ملاحظه می‌شود که تیمار نماتد حدود دو برابر باکتری در ایجاد تلفات بید گوجه‌فرنگی نقش داشته و موجب کنترل آفت و ممانعت از رسیدن به مرحله بلوغ و تکثیر آفت می‌شود.

همانگونه که در بررسی‌های آزمایشگاهی و گلدانی مشخص شد، دو عامل بیولوژیک *S. carpocapsae* و *B. thuringiensis* هر کدام با درصدهای متفاوتی قادر به کنترل سنین مختلف لاروی گوجه‌فرنگی می‌باشند. لذا در

مجموع پیشنهاد می‌شود برای کنترل جمعیت و مدیریت تلفیقی بید گوجه‌فرنگی، تنها به یک عامل کنترل بیولوژیک اکتفا نکرده و بسته به مورد و امکانات موجود از دو یا چند عامل مانند زنبورهای پارازیتوئید (ال آرنوتی و همکاران ۲۰۱۴)، سن شکارگر (دباکر و همکاران ۲۰۱۴) و عوامل بیماری‌گری هم‌چون Bt و نماتدها استفاده شود.

سپاسگزاری

از بخش تحقیقات نماتد شناسی موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور که امکانات لازم جهت اجرای این تحقیق را فراهم نمودند، کمال تشکر را دارم.

منابع مورد استفاده

- Abbott WS. 1925. A method of computing effectiveness of an insecticide. Journal of Econ Entomology. 18: 265-267. <http://dx.doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- Abootorabi E. 2011. The control feasibility of *Ectomyeloid ceratoniae* by Entomopathogenic nematode. National Pomegranate Symposium, Ferdowsi- Iran; 28-29. (In Persian with English Abstract). <http://doi.org/10.22092/Bcpp.2019.119557>
- Abootorabi E and Valizadeh A. 2012. of maize borer (*Ostrinia nubilalis*). The first National Congress of Monitoring and Forecasting in Plant Protection, Borujerd; Iran; 14-15. (In Persian with English Abstract). <http://doi.org/10.22092/Bcpp.2019.119557>
- Abootorabi E. 2014. Report of native isolate pathogenicity of *Steinernema feltiae* on tomato leafminer, *Tuta absoluta*. Biocontrol in Plant Protection, 1:107-109. (In Persian with English Abstract). <http://doi.org/10.22092/Bcpp.2019.119557>
- Alsaedi Gh, Ashuri A and Talebi Hassanloui R. 2017. Evaluation of *Bacillus thuringiensis* to Control *Tuta absoluta* under Laboratory Conditions. Agricultural Sciences. 8 (2): 591-599. <http://doi.org/10.4236/as.2017.87045>.
- Arthurs S, Heinz KM and Prasifka JR. 2004. An analysis of using entomopathogenic nematodes against above ground pest. Bulletin of Entomological Research, 94:207-306. <http://doi.org/10.1079/ber.2003309>.
- Baniamiri V and Cheraghian A. 2011. The current status of *Tuta absoluta* in Iran and initial control strategies In: International symposium on management of *Tuta absoluta* (tomato borer) proceeding. Agadir, Morocco, November 16-18. <https://doi.org/10.2478/jppr-2014-0046>.
- Batalla- Carrera L, Morton A and Garcia- delpino F. 2010. Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tomato leafminer *Tuta absoluta* in laboratory and greenhouse conditions. Biological Control. 55:523-530. <http://doi.org/10.1007/s10526-010-9284-z>
- Bayindir Erol A and Erdogan O. 2022. Insecticidal effects of some *Bacillus thuringiensis* commercial biopreparats on the larvae of the Tomato Leaf Miner, *Tuta absoluta*. Research Article. 6(4): 632-636.: <https://doi.org/10.31015/jaefs.2022.4.17>.
- Berbert-Molina MA, Prata AMR, Pessanha LG and Silveira MM. 2008. Kinetics of *Bacillus thuringiensis* var. israelensis growth on high glucose concentrations. Journal of industrial microbiology & biotechnology, 35(11), 1397-1404. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0439-1>

- Bloem S and Esther S. 2011. New pest response guidelines tomato leafminer (*Tuta absoluta*). USDA.
- Chailleux A, Bearez P, Pizzol J, Amiens-Desneux E, Ramirez-Romero R. and Desneux N. 2013. Potential for combined use of parasitoids and generalist predators for biological control of the key invasive tomato pest *Tuta absoluta*. Journal of pest science, 86(3):533-541. <https://doi.org/10.1007/s10340-0130448-6>.
- De Backer L, Haubruge E, Caparros Megido R and Verheggen F. 2014. *Macrolophus pygmaeus* as an efficient predator of the tomato leafminer *Tuta absoluta* in Europe. Biotechnology, Agronomy, Society and Environment. Vol (18): 536-543. <http://doi.org/11006/163>.
- Desneux N, Wajnberg E, Wyckhuys, KAG, Burgio G, Arpaia S, Narvaez-Vasquez CA, Gonzalez-Cabrera J, Ruescas DC, Tabone E, Frandon J, Pizzol J, Poncet C, Cabello T and Urbaneja A. 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. Journal of Pest Science, 83: 197-215. <http://doi.org/10.1007/s10340-010-0321-6>.
- Desneux N, Luna MG, Guillemaud T and Urbaneja A. 2011. The invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*, continues to spread in Afro- Eurasia and beyond: the new threat to tomato world production. Journal of Pest Science, 84: 403-408. <http://doi.org/10.1007/s10340-011-0384-z>.
- Dowds BCA and Peters A. 2002. Virulence mechanisms. Pp. 79-98 in R. Gaugler, ed. Entomopathogenic nematology. New York, NY: CABI. <https://doi.org/10.1079/9780851995670.0079>.
- El- Arnauty, S. A., Pizzol, J., Galal, H. H., Kortam, M. N., Afifi, A. L., Beyssat, V., Desneux, N., Biondi, A & Heikal, I. H. 2014. Assessment of two Trichogramma species for control of *Tuta absoluta* in North African Tomato Greenhouses. African Entomology. Vol (22):801-809. <http://doi.org/10.4001/003.022.0410>.
- Eivazian Kary N, Niknam G, Griffin CT and Mohammadi SA. 2009. A survey of entomopathogenic nematodes of the families Steinernematidae and Heterorhabditidae (Nematoda: Rhabditida) in the north-west of Iran. Nematology, 11 (1): 107-116. <http://doi.org/10.1163/156854108X398453>.
- Garcia-del-Pino F, Alabern X and Morton A. 2013. Efficacy of soil treatments of entomopathogenic nematodes against the larvae, pupa and adults of *Tuta absoluta* and their interaction with the insecticides used against this insect. Biological Control. 58: 723-731. <http://doi.org/10.16970/ted.84972>.
- Giustolin TA, Venderamim JD, Alves SB, Vieira SA and Pereira RM. 2001. Susceptibility of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) reared on two species of *Lycopersicon* to *Bacillus thuringiensis* var Kurstaki. Journal of Applied Entomology. 125: 551-556. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0418.2001.00579.x>.
- Gonzalez- Cabrera J, Molla O, Moton H and Urbaneja A. 2011. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) for controlling the tomato borer, of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Biocontrol. 56: 71-80. <https://doi.org/10.1007/s10526-010-9310-1>.
- Hallem EA, Dillman AR, Hong AV, Zhang Y, Yano JM, DeMarco SF and Sternberg P W. 2011. A sensory code for host seeking in parasitic nematodes. Current Biology, 21: 377-383. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.01.048>.
- Heierson A, Sidén I, Kivaisi A and Boman HG. 1986. Bacteriophage-resistant mutants of *Bacillus thuringiensis* with decreased virulence in pupae of *Hyalophora cecropia*. Journal of Bacteriology, 167(1), 18-24. <https://doi.org/10.1128/jb.167.1.18-24.1986>.
- Hunt DJ. 2007. Entomopathogenic Nematodes: Systematics, Phylogeny a Bacterial Symbionts, Nematology Monographs and Perspectives. Koninklijke Brill NV, Leiden <https://doi.org/10.1163/ej.9789004152939.i-816.2>

- . Isman MB. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annual Review Entomology. 51, 45-66. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.151146>.
- Kamali S, Karimi J, Hosseini M, Campos-Herrera R and Duncan LW. 2013. Biocontrol potential of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsa* on cucurbit fly, *Dacus ciliates* (Diptera: Tephritidae). Biocontrol Science and Technology, 23(11): 1307-1323. (In Persian with English Abstract). <https://doi.org/10.1080/09583157.2013.835790>.
- Karimi J, Kharazi-Pakdel A, Yoshiga T, Koohi Habibi M and Hassani- Kakhki M. 2011. Characterization of *Xenorhabdus* (Y-Proteobacteria) strains associated bacteria with the *Steinernema* (Nematode: Steinernematidae) isolates from Iran. Journal of Entomological Society of Iran, 31 (1): 57-69. (In Persian with English Abstract). <https://jesi.areeo.ac.ir/?lang=en>.
- Kaya HK and Stock SP. 1997. Techniques in insect nematology. In: Lacey, L. A. (ed.), Manual of techniques in insect pathology. Academic press, London, UK.
- Koppenhofer AM and Grewal PS. 2005. Nematodes as biocontrol agents.
- Mollá O, González-Cabrera J and Urbaneja A. 2011. The combined use of *Bacillus thuringiensis* and *Nesidiocoris tenuis* against the tomato borer *Tuta absoluta*. Biological Control. 56, 883-891. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9353-y>.
- Nikdel M, Niknam G, Griffin CT and Eivazian Kary N. 2010. Diversity of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Steinernematidae, Heterorhabditidae) from Arasbaran forests and rangelands in north-west Iran. Nematology, 12: 767-773. <https://doi.org/10.1163/138855410X12628646276168>.
- Petras SF and Casida LE. 1985. Survival of *Bacillus thuringiensis* spores in soil. Applied and Environmental Microbiology, 50(6), 1496-1501. <https://doi.org/10.1128/aem.50.6.1496-1501.1985>.
- Reyes M, Rocha K, Alarco 'n L, Siegwart M and Sauphanor B. 2012. Metabolic mechanisms involved in the resistance of field populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) to spinosad. Pesticide Biochemistry Physiology. 102:45-50. <https://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.10.008>.
- Sharma MP, Sharma AN and Hussaini SS. 2011. Entomopathogenic nematodes, a potential microbial biopesticide: Mass production and commercialization status- a mini review. Archives of Phytopathology and Plant Production, 44: 855-870. <http://dx.doi.org/10.1080/03235400903345315>.
- Stock, S.P. & Goodrich- Blair, H. 2012. Nematode parasites, pathogens and associates of insects and invertebrates of economic importance. Pp. 373- 426. In: Lacey, L. A. (ed.), Manual of Techniques in Insect Pathology. 2nd ed. Academic Press, San Diego. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386899-2.00012-9>
- Tanha Maafi Z, Ebrahimi N, Abootorabi E and Spiridonov S E. 2006. Record of two Steinernematid species from Iran. 17th Iranian Plant Protection Congress, 428p. (In Persian)
- Urbaneja, A., Desneux, N., Gabarra, R., Arno, J., Gonzalez-Cabrera, J., Mafra Neto, A., Stoltman, L., Pinto, A. de S & Parra, J.R.P. 2013. Biology, ecology and management of the South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*. Pp. 98-125. In: Pena, J.E. (ed), Potential Invasive Pests of Agricultural Crops. CAB International, Wallingford. <https://doi.org/10.1079%2F9781845938291.0098>
- Van Damme VM, KEG Beck B, Berckmoes E, Moerkens R, Wittemans L, De Vis R, Nuyttens D, Casteels HF, Maes M, Tirry L and De Clercq P. 2015. Efficacy of entomopathogenic nematodes against larvae of *Tuta absoluta* in the Laboratory. Pest manag Society of Chemical Industry (SCI). 8 P. <https://doi.org/10.1002/ps.4195> Epub 2016 jan 4.
- White, G.F. 1927. A method for obtaining nematode infected larvae from cultures. Science 66: 302-303. <https://doi.org/10.1126/science.66.1709.302-a>.