گیاه‌پزشکی (مجله علمی کشاورزی)
جلد ٤٦، شماره ١، بهار ١٤٠٢
10.22055/ppr.2023.18031

ارزیابی کارایی نماتد *Steinernema carpocapsae* و باکتری *Bacillus thuringiensis* در کنترل سوسک برگ‌خوار نارون (*Xanthogaleruca luteola*) در شرایط آزمایشگاه

هانا حاجی اللهوردی‌پور*[1] و رسول مرزبان[2]

۱-* **نویسنده مسوول:** استادیار بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران (h.hajiallahverdi@areeo.ac.ir)

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

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۰۱

چکیده

سوسک برگ‌خوار نارون (*Xanthogaleruca luteola*)، از مهمترین و مخرب‌ترین آفات نارون است که در حال حاضر کنترل آن در ایران عمدتاً با حشره‌کش‌های شیمیایی انجام می‌گیرد. پژوهش‌هایی که پیرامون کنترل بیولوژیک سوسک برگ‌خوار نارون صورت گرفته، نماتدهای بیمارگر حشرات را به عنوان کاندید مناسب و مطلوب برای کنترل آن معرفی می‌کنند. همچنین بر استفاده همزمان از نماتد بیمارگر حشرات و باکتری *Bacillus thuringiensis* در مدیریت تلفیقی برگ‌خوار نارون تاکید شده است. در این پژوهش تأثیر غلظت‌های مختلف جدایه بومی نماتد *Steinernema carpocapsae* و باکتری *B. thuringiensis* در دو حالت مجزا و تلفیقی روی مرگ و میر لاروهای سن دوم و حشرات کامل برگ‌خوار نارون در آزمایشگاه بررسی شد. بیمارگری جدایه بومی *S. carpocapsae* و زیرگونه *B. thuringiensis galleriae* روی لاروهای سن دوم و حشرات کامل برگ‌خوار نارون به اثبات رسید و در مجموع، مرگ و میر بین ۵۱/۸۷ تا ۸۸/۳۳ درصد متغیر بود. نتایج نشان داد اختلاف معنی‌داری بین کشندگی نماتد و باکتری مورد آزمایش در هر کدام از مراحل زیستی برگ‌خوار وجود نداشت اما لاروهای برگ‌خوار در مقایسه با حشرات کامل در بیشتر تیمارها حساسیت بیشتری هم به نماتد و هم به باکتری بیمارگر داشتند. همچنین برهم‌کنش بین باکتری و نماتد مورد مطالعه از نوع تجمعی بوده و هیچ کدام از اثرات تشدیدکنندگی و بازدارندگی در کاربرد تلفیقی آنها مشاهده نگردید. بنابراین می‌توان *B. thuringiensis* و *S. carpocapsae* را به عنوان ابزارهای مدیریتی موثر و در عین حال ایمن به‌طور همزمان در چارچوب مدیریت تلفیقی لاروهای برگ‌خوار نارون به‌کار برد.

***کلیدواژه‌ها: Xanthogaleruca*، نماتد بیمارگر حشرات، Bt، برهم‌کنش، تلفیق**

دبیر تخصصی: دکتر صدیقه عظیمی

Citation: Haji Allahverdipour, H. & Marzban, R. (2023). Efficacy Assessment of the Nematode *Steinernema carpocapsae* and the Bacterium *Bacillus thuringiensis* in Control of Elm Leaf Beetle, (*Xanthogaleruca luteola*) under Laboratory Conditions. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, *46*(1), 25-37. https://doi.org/10.22055/ppr.2023.18031.

مقدمه

درخت نارون (*Ulmus* spp.)، یکی از درختان غالب فضای سبز شهری در بسیاری از قسمت های ایران است و آفت سوسک برگ‌خوار نارون *luteola* Muller (*Galerucella*) *Xanthogaleruca* از مهمترین و مخرب‌ترین حشرات آفت نارون محسوب می‌شود (Arbab et al., 2002; Abai, 2010) این آفت اولین بار در سال ۱۳۲۴ از ایران گزارش شده است (Behdad, 1988).

خسارت اصلی سوسک برگ‌خوار نارون در مرحله لاروی و با تغذیه از پارانشیم زیرین برگ است. درختان نارون با از دست دادن سبزینه و کاهش فتوسنتز دچار ضعف عمومی و خزان زودرس می‌شوند. تغذیه این آفت باعث بدشکلی‌هایی در تاج درخت و اختلالات فیزیولوژیک می‌گردد که حساسیت آن را به سایر آفات افزایش می‌دهد (Arbab et al., 2002). در حال حاضر کنترل سوسک برگ‌خوار نارون در ایران عمدتاً با حشره‌کش‌های شیمیایی، یخ‌آب زمستانه و کندوکوب بستر در فصل زمستان، پاشش آب و آهک روی تنه درختان و نوار چسب‌دار زرد رنگ انجام می‌شود. کنترل شیمیایی لاروهای سنین بالا به دلیل پراکنده شدن آنها و نیاز به غلظت‌های بالاتر آفت‌کش عواقب منفی بسیاری دارد، در حالی که لاروها خسارت خود را نیز وارد کرده‌اند. به دلیل روند تدریجی تخم‌گذاری و ظهور تدریجی لاروها باید سمپاشی‌های متعدد انجام شود. با توجه به حضور گسترده نارون در فضای سبز شهری و کنترل شیمیایی برگ‌خوار نارون و به تبع آن آلودگی‌های محیط شهری و نابودی دشمنان طبیعی باید شیوه‌های ایمن و دوست‌دار محیط زیست مانند کنترل بیولوژیک را جایگزین کنترل شیمیایی نمود (Abai, 2010).

بیشتر مطالعات انجام شده در زمینه کنترل بیولوژیک آفت مذکور در دنیا روی پارازیتوئیدها و شکارگرها متمرکز بوده است (Clausen, 1956; Dowden, 1962; Clair et al., 1987; Dahlsten & Hall, 1999). تلاش‌ها برای کنترل میکروبی سوسک برگ‌خوار نارون اغلب محدود به باکتری و نماتد بوده است (Wells et al., 1994). پژوهش‌هایی که پیرامون کنترل بیولوژیک این آفت در سایر کشورها صورت گرفته، نماتدهای بیمارگر حشرات را به عنوان کاندید مطلوبی برای کنترل سوسک برگ‌خوار نارون معرفی می کنند. *Steinernema carpocapsae* Weiser, 1955 علیه آفت مذکور در کانادا موثر است که به صورت فرآورده‌های تجاری مختلف در بازار موجود است (Thurston, 1998; Thurston, 2001; Giayetto & Cichón, 2006; Sikandar et al., 2021). در اولین تلاش برای استفاده از نماتدهای بیمارگر حشرات علیه سوسک برگ‌خوار نارون، کاربرد نماتد *S. carpocapsae* برای کنترل لاروهایی که برای شفیره شدن وارد خاک می شوند، موثرترین روش بوده است (Kaya et al., 1981).

در برنامه کنترل بیولوژیک برگ‌خوار نارون در آمریکای شمالی، نماتد *S. carpocapsae* مخلوط با مالچ سلولزی در از بین بردن تعداد بالایی از لاروهای مهاجر موثر بود و مالچ سلولزی شرایط مناسبی را برای بقای نماتد به مدت حداقل یک ماه فراهم نمود (Thurston, 1998; 2001). پتانسیل نماتدهای بیمارگر حشرات بومی ایتالیا در کنترل بسیاری از آفات کشاورزی و جنگل از جمله برگ‌خوار نارون، امیدبخش معرفی شده است (Triggiani & Cravedi, 2011). در کاربرد نماتدهای بیمارگر در کنترل این آفت در ایتالیا، دو جدایه بومی از *Steinernema feltiae* Filipjev, 1934 و *S. carpocapsae* و جدایه تجاری نماتد *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 روی شاخ و برگ نارون با آلودگی بالا به لاروهای برگ‌خوار پاشیده شدند. رضایت‌بخش‌ترین نتایج با تیمار *S. carpocapsae* بدست آمد که سه و پنج روز بعد

از تیمار به ترتیب ۵۷ و ۶۷ درصد کاهش جمعیت لارو آفت حاصل شد (Triggiani & Tarasco, 2007).

در بررسی جدایه‌های بومی کشور آرژانتین نماتد *H. bacteriophora* روی لاروهای سوسک برگ‌خوار نارون در آزمایشگاه، همه جدایه‌ها به جز Biodiversidad، ۲ و ۷ روز بعد از تیمار موثر بودند. Biodiversidad تنها بعد از ۷ روز در آفت مذکور مرگ و میر ایجاد کرد. رشد و نمو این جدایه‌ها در برگ‌خوار نارون همانند شب پره موم‌خوار بود که میزبان حساسی برای نماتدهای بیمارگر است (Giayetto & Cichón, 2006).

در خصوص کاربرد نماتدهای بیمارگر در کنترل سوسک برگ‌خوار نارون در ایران نیز مطالعاتی انجام شده است. در مقایسه تاثیر سه گونه تجاری از نماتدهای بیمارگر حشرات روی برگ‌خوار نارون در تشتک‌های پتری، درصد مرگ و میر لاروهای آفت در تیمارهای *S. feltiae*، *S. carpocapsae* و *H. bacteriophora* در غلظت ۳۰۰ لارو عفونت‌زا در میلی‌لیتر به ترتیب ۵۰/۶۹، ۴۶/۱۱ و ۳۷/۶۳ درصد به‌دست آمد. سه گونه مذکور، مرگ و میری برابر با ۷۶/۲۴، ۵۶/۵۳ و ۶۰ درصد روی حشره کامل برگ‌خوار نارون ایجاد کردند. در بین نماتدهای مورد بررسی، *S. feltiae* دارای بیشترین اثر روی لاروها و حشرات کامل برگ‌خوار نارون بود (Zeinolabedin Fard et al., 2020). در همین پژوهش، مقادیر زمان کشنده پنجاه درصد نماتدهای مذکور به ترتیب برای لاروها ۴۴/۵، ۵۰/۸ و ۶۷/۶ ساعت و برای حشرات کامل ۲۲/۲، ۳۶/۲ و ۳۴/۷ ساعت بود (Abbasipour et al., 2017).

در پژوهش دیگری لاروهای سن یک سوسک برگ‌خوار نارون به صورت انفرادی در معرض غلظت‌های ۳۲/۵، ۶۵، ۱۳۰، ۲۶۰، ۵۲۰ و ۱۰۴۰ لارو عفونت‌زا در میلی‌لیتر از جدایه بومی *H. bacteriophora* قرار گرفتند و مرگ و میر آنها ۳۶، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از تیمار ثبت شد. مقادیر دز کشنده پنجاه درصد، ۷۳/۱۲، ۳۴/۷۱ و ۱۰/۹۳ لارو عفونت‌زا در میلی‌لیتر محاسبه شد. این پژوهشگران، جدایه بومی مذکور را به عنوان یک کاندید بالقوه برای مطالعات بیشتر در زمینه کنترل بیولوژیک برگ‌خوار نارون معرفی کردند (Sharghi et al., 2019).

پژوهش‌ها نشان می‌دهد که استفاده همزمان از نماتد و باکتری بیمارگر حشرات در مدیریت تلفیقی سوسک برگ‌خوار نارون به طور چشمگیری جمعیت آفت را کاهش داده است (Thurston, 1998, 2001; Lacey et al., 2015). *Bacillus thuringiensis* (Bt) Berliner باکتری خاک‌زادی است که حاوی کریستال‌های پروتئینی و توکسین‌های سیتولیتیک با خاصیت حشره‌کشی است. توکسین‌های Bt به عنوان آفت‌کش زیستی علیه لاروهای پروانه‌ها، سوسک‌های Chrysomelidae مورد استفاده قرار می‌گیرند. هرکدام از زیرگونه‌ها و استرین‌های Bt، مخلوط توکسین‌های پروتئینی مخصوص به خود را تولید می‌کند. زیرگونه‌ای از این باکتری بنام (Btg) *B. thuringiensis* subsp. *galleriae* دارای خانواده توکسین‌های سیتولیتیک ۸ است که طیف میزبانی وسیعی دارند و برای کنترل حشرات کامل و لاروهای سخت‌بالپوشان به کار می‌رود. اخیراً Btg در کشورهای متعدد به عنوان آفت‌کش زیستی ثبت شده است (Redmond et al., 2019).

زیرگونه دیگری از این باکتری بنام *B. thuringiensis* subsp. *tenebrionis* (Btt) به صورت فرآورده‌های تجاری ام-وان®[1] و نوودور[2] برای استفاده علیه لارو سوسک‌های برگ‌خوار ثبت شده است (Gouli et al., 2016; Eski et al., 2017). کاربرد Btt به صورت پاشش روی شاخ و برگ درختان نارون در کشور آمریکا انجام شده است (Dreistadt, 2008). در استرالیا، کاربرد Btt در

1- M-One

2- Novodor

جمعیتی از لاروهای سن اول و سوم سوسک برگ‌خوار نارون، مرگ و میر ۵۶/۵ تا ۶۷/۲ درصد را در غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۶ درصد در شرایط محیط طبیعی درپی داشته است (Wells et al., 1994). کاربرد حشره‌کش‌های باکتریایی Bttبنام‌های ام-وان® و ام-ترک®[1] در غلظت‌های توصیه شده روی برچسب فرآورده‌ها علیه سوسک برگ‌خوار نارون در کشور آمریکا، به منظور بررسی تاثیر این باکتری روی مراحل اولیه لاروی نشان داد اگرچه کاهش جمعیت در همه آزمون‌ها مشاهده شد اما از نقطه نظر خسارت، مناطق تیمارشده تفاوت معنی داری با مناطق تیمارنشده نداشتند (Dahlsten et al., 1993). در آمریکا Btt روی لاروها و حشرات کامل سوسک برگ‌خوار نارون زهرآگین بود؛ اما دوام فرمولاسیون‌ها روی شاخ و برگ کوتاه بوده است (Cranshaw et al., 1989).

در مطالعه حساسیت لاروهای سوسک برگ‌خوار نارون به Btt در غلظت‌های ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ میلی‌لیتر در یک لیتر آب منجر به مرگ و میر بالاتر از ۵۰ درصد لاروها در مقایسه با ۲۴ درصد مرگ و میر در شاهد گردید. لاروهای سن اول و دوم سوسک برگ‌خوار نسبت به Btt حساس‌تر از لاروهای سن سوم بودند (Francardi, 1990). در بررسی حساسیت سنین مختلف لاروی برگ‌خوار نارون در دزهای متفاوت Btt مشخص شد افزایش دز حداقل ۱۰ برابری در لاروهای سن سوم برای حصول مرگ و میر برابر در لاروهای سن اول نیاز است و منحنی‌های دز-پاسخ لاروهای برگ‌خوار نارون به Btt نشان‌دهنده آن بود که با افزایش دز، مرگ و میر لاروها زیاد می‌شود (Wells et al., 1994).

مطالعات نمایانگر آن است که زیرگونه‌های مختلف *B. thuringiensis* از لحاظ درجه تاثیر روی برگ‌خوار نارون متفاوت عمل می‌کنند. درختان تیمارشده با Btt فقط ۱۰ درصد از شاخ و برگ‌شان را به واسطه تغذیه برگ‌خوار نارون از دست دادند و درختان تیمارنشده، ۴۰ درصد از کل شاخ و برگ را در عرض سه هفته از دست دادند، در حالی‌که زیرگونه *B. thuringiensis dendrolimus* اثر قابل توجهی روی گونه‌های مختلف برگ‌خوار نارون ایجاد نکرد (Kalyuzhnaya et al., 1995). Btt فقط چندین روز در شرایط مزرعه ماندگاری و فعالیت دارد؛ بنابراین دو مرتبه کاربرد به فاصله دو هفته برای مراقبت از شاخ و برگ ضروری به نظر می‌رسد. در مناطقی که برگ‌خوار نارون بیشتر از یک نسل دارد، تیمار با Btt باید در آغاز تغذیه لاروهای نسل دوم تکرار شود (Berry & DeAngelis, 2000).

در پژوهش حاضر برای اولین بار پتانسیل جدایه‌ای بومی از نماتد *S. carpocapsae* و باکتری *B. thuringiensis galleriae* علیه لاروها و حشرات کامل سوسک برگ‌خوار نارون در چند غلظت نماتد و باکتری در شرایط آزمایشگاهی ارزیابی شد و همچنین اثر تلفیقی این دو عامل روی مرگ و میر لاروهای برگ‌خوار مطالعه گردید تا در صورت کارآمد بودن، برای بررسی‌های بیشتر در شرایط طبیعی و فضای سبز شهری در کنترل بیولوژیک آفت مذکور به‌کار گرفته شوند.

مواد و روش‌ها

حشره میزبان

حشرات کامل و لاروهای سن دوم *Xanthogaleruca luteola* از فروردین تا تیرماه ۱۴۰۰ از درختان نارون زینتی چتری بوستان‌های شهرداری منطقه یک تهران جمع‌آوری و در ظروف پلاستیکی دارای سوراخ‌های تهویه، بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و زیست‌سنجی روی آنها انجام گرفت. برای تغذیه حشرات از برگ‌های تازه نارون استفاده شد.

1- M-Trak

زیست‌سنجی‌ها

زیست‌سنجی نماتد

جدایه بومی نماتد بیمارگر حشرات (*Steinernema carpocapsae*) که از خاک باغ‌های انار شهرستان کاشمر جمع آوری شده بود (Memari, 2016)، درون لاروهای شب پره موم خوار *Galleria mellonella* تکثیر شد. بدین منظور از لاروهای سن آخر شب پره موم خوار درون ظروف پتری نه سانتی‌متری پوشیده شده با کاغذ صافی آغشته به سوسپانسیون نماتد (غلظت ۳۰۰ لارو عفونت‌زا در یک میلی‌لیتر آب) استفاده شد. ظروف پتری در دمای ۱±۲۶ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی قرار گرفتند. پس از چهار روز لاشه لاروهای شب‌پره به تله وایت انتقال یافت (Orozco et al., 2014). نماتدهای استخراج شده برای مدت زمان کوتاهی در ظروف کشت سلولی در دمای پنج درجه سانتی‌گراد تا زمان آزمایش نگهداری شدند.

بررسی اثر نماتد *S. carpocapsae* روی دو مرحله لاروی و حشرات کامل برگ‌خوار نارون با روش زیست‌سنجی برگ[1] و تحت شرایط آزمایشگاهی انجام گرفت. بدین صورت که برگ‌های نارون کف جعبه های پلی استایرن قرار گرفت و در هر تکرار، بیست لارو سن دوم یا حشره کامل برگ‌خوار (هر دو مرحله به صورت مجزا و جداگانه آلوده می‌شوند) به هر کدام از جعبه‌ها اضافه شد. تیمارها شامل غلظت‌های ۴۰۰ و ۵۰۰ لارو عفونت‌زا در یک میلی‌لیتر آب مقطر بود که توسط یک افشانه کوچک به روی سطح برگ‌های درون جعبه به گونه‌ای که تمام سطح برگ‌ها پوشش داده شود، پاشیده شد. انتخاب غلظت‌های لارو عفونت‌زای نماتد براساس مطالعات Sharghi et al. (2019) و Zeinolabedin Fard et al. (2020) صورت گرفت. برای تیمار شاهد فقط از آب مقطر استفاده شد. هر تیمار سه بار تکرار شد. جعبه ها در دمای ۱±۲۶ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد نگهداری شدند. ثبت درصد مرگ و میر از ۲۴ ساعت پس از اعمال تیمار آغاز شد.

زیست‌سنجی باکتری

باکتری *B. thuringiensis* subsp. *galleriae* (Btg) با نام تجاری بیتل‌گان®[2] تولید شرکت Green earth ag & turf در زیست‌سنجی‌ها مورد استفاده قرار گرفت. تیمارهای Btg در دو غلظت پنج در هزار و ۱۰ در هزار روی دو مرحله لارو سن دوم و حشرات کامل برگ‌خوار نارون بود. این غلظت‌ها بر اساس آزمایش‌های مقدماتی روی لاروها و حشرات کامل انتخاب گردید. برگ‌های نارون به مدت ۳۰ ثانیه در سوسپانسیون باکتری غوطه‌ور و تکان داده شدند و به مدت دو ساعت روی کاغذ در مجاورت هوا قرار گرفتند تا آب سطح برگ خشک شود. برگ‌ها داخل ظروف زیست‌سنجی گذاشته شدند و ۲۰ لارو سن دوم یا حشره کامل بسته به آزمون مورد نظر به روی برگ‌ها منتقل شدند. بقیه شرایط آزمایش، مشابه زیست‌سنجی نماتد بود.

تلفیق نماتد و باکتری

در آزمایش‌های اختلاط، هر دو عامل نماتد و باکتری به صورت تلفیقی به‌کار گرفته شد. ابتدا برگ‌های نارون با دو غلظت از Btg تیمار شدند و بعد از قرار گرفتن درون جعبه‌ها، سوسپانسیون نماتد به روی سطح برگ‌ها پاشیده شد و در هر جعبه، ۲۰ لارو سن دوم به روی برگ‌ها اضافه شدند. تیمارها شامل الف- غلظت ۴۰۰ لارو عفونت‌زا نماتد در میلی‌لیتر و ۵ در هزار Btg ب- غلظت ۵۰۰ لارو عفونت‌زا نماتد در میلی‌لیتر و ۵ در هزار Btg ج- غلظت ۴۰۰ لارو عفونت‌زا نماتد در میلی‌لیتر و ۱۰ در هزار Btg د- غلظت ۵۰۰ لارو عفونت‌زا نماتد در میلی‌لیتر و ۱۰ در هزار Btg می‌شدند.

1- leaf bioassay

2- Beetlegone

انتخاب غلظت‌های لارو عفونت‌زای نماتد بر اساس مطالعات Sharghi et al. (2019) و Zeinolabedin Fard et al. (2020) صورت گرفت. بقیه شرایط آزمایش مشابه زیست‌سنجی‌های قبلی بود.

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام و درصد مرگ و میر اصلاح شده توسط فرمول ابوت[1] محاسبه گردید. داده‌ها با آنالیز واریانس دوطرفه با استفاده از مدل خطی عمومی توسط نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شد. در مورد مقدار معنی‌دار F، میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. برهم‌کنش بین نماتد و باکتری با استفاده از فرمول رابرتسون و پرایزلر[2] محاسبه گردید (Zampara et al., 2014):

$$P_E = P_0 + (1-P_0) * (P_1) + (1-P_0) * (1-P_1) * (P_2)$$

P_E: مرگ و میر مورد انتظار از ترکیب هر دو بیمارگر، P_0: مرگ و میر شاهد، P_1: مرگ و میر ایجاد شده توسط بیمارگر اول، P_2: مرگ و میر ایجاد شده توسط بیمارگر دوم.

فرمول کای اسکور[3] برای بررسی فرض استقلال و یا وابستگی دو عامل مورد استفاده قرار گرفت (df=2, P=0.05). اگر X^2 < ۵/۹۹ باشد، برهم‌کنش تجمعی، اگر X^2 > ۵/۹۹ رابطه دو عامل از نوع تشدیدکنندگی و اگر X^2 > ۵/۹۹ ولی مرگ و میر مشاهده شده کمتر از مورد انتظار باشد، رابطه بازدارندگی مطرح است.

نتایج

بررسی اثر نماتد *S. carpocapsae* روی مرحله لاروی و حشره کامل برگ‌خوار نارون، بیمارگری این جدایه بومی نماتد را روی آفت هدف اثبات کرد. لاروهایی که آلوده به نماتد بودند رنگ بدنشان به قهوه‌ای سوخته و تیره تغییر یافت که یکی از نشانه‌های آلودگی به نماتدهای *Steinernema* است (Kaya & Gaugler, 1993). حشرات کامل آلوده به نماتد نیز شکم‌های قهوه‌ای رنگ داشتند و با گذاشتن آنها روی تله وایت، نسل جدید لاروهای عفونت‌زا ظاهر شد (شکل ۱).

شکل ۱- حشرات کامل برگ‌خوار نارون آلوده به نماتد *S. carpocapsae* روی تله وایت (چپ) در مقایسه با حشرات کامل سالم (راست)

Figure 1. *Xanthogaleruca luteola* adults infected by the nematode *S. carpocapsae* on White trap (left) compared with healthy adults (right)

1- Abbott
2- Robertson & Preisler
3- Chi-squared

باکتری *B. thuringiensis* subsp. *galleriae* نیز روی لاروها و حشرات کامل برگ‌خوار نارون موجب بیمارگری شد. علائم حشرات آلوده به باکتری شامل توقف یا کاهش تغذیه و بعد از مرگ، لاشه‌های له و سیاه براق به‌ویژه در مورد لاروها (شکل ۲) بود. قسمت‌هایی از بالپوش حشرات کامل، لکه‌های تیره و سیاه داشتند. سوسک‌ها تا چندین روز بعد از تیمار قادر به تخم‌گذاری و حرکت بودند ولی تمایل کمتری به تغذیه از برگ‌های داخل جعبه داشتند که با توجه به خسارت کمتر به برگها مشهود بود.

اثر تیمار در تجزیه واریانس معنی‌دار مشخص شد (جدول ۱). تجزیه داده‌ها نشان داد که هفت روز پس از تیمار، اختلاف معنی‌داری بین کشندگی ایجاد شده توسط نماتد و باکتری روی هر کدام از مراحل زیستی برگ‌خوار نارون به جز تیمار غلظت ۴۰۰ نماتد روی لاروها وجود نداشت، اما بین مرگ و میری که هریک از این عوامل روی لاروهای سن دوم برگ‌خوار در مقایسه با حشرات کامل اعمال می‌کردند، تفاوت معنی‌دار وجود داشت و لاروهای برگ‌خوار در مقایسه با حشرات کامل در غالب تیمارها حساسیت بیشتری هم به نماتد و هم به باکتری بیمارگر داشتند (جدول ۲).

مرگ و میر برگ‌خوار نارون در اثر نماتد و در اثر باکتری از یک روز بعد از تیمار آغاز شد ولی به‌طور کلی باکتری Btg برای اعمال کشندگی زمان بیشتری نسبت به نماتد نیاز داشت که با توجه به چرخه زندگی و زیست‌شناسی نماتدهای بیمارگر حشرات و باکتری Bt قابل توضیح است. اوج مرگ و میر در آزمون نماتد در روز سوم تیمار و برای آزمون باکتری در روز ششم تیمار اتفاق افتاد.

شکل ۲- تغییر رنگ لاروهای برگ‌خوار نارون آلوده (چپ) به باکتری *Bacillus thuringiensis* در مقایسه با لاروهای سالم (راست)

Figure 2. Color change in *X. luteola* larvae infected by the bacteria *Bacillus thuringiensis* (left) compared with uninfected ones (right)

جدول ۱- تجزیه واریانس داده های مربوط به اثر تیمارهای *S. carpocapsae* و *B. thuringiensis* بر مرگ ومیر لاروها و حشرات کامل *X. luteola*

Table 1. Analysis of variance related to effect of *S. carpocapsae* and *B. thuringiensis* treatments on larval and adult mortalities of *X. luteola*

	Sum of squares	Df	Mean square	F	Sig.
Treatment	7089.53	11	644.50	14.92	<0.001
Repeat	1036.11	24	43.17		
Total	8125.64	35			

**Significant at 1%

نتایج نشان داد که برهم‌کنش بین باکتری Btg و نماتد *S. carpocapsae* در همه غلظت‌های بکار رفته بعد از ۷ روز از نوع تجمعی بوده و هیچ کدام از اثرات تشدیدکنندگی و بازدارندگی در کاربرد تلفیقی نماتد و باکتری در هیچ کدام از غلظت‌ها مشاهده نگردید؛ به عبارت دیگر باکتری Btg هیچ‌گونه اثر آنتاگونیستی و یا رقابت در استفاده از منابع غذایی و رشد سریع‌تر با باکتری همزیست نماتد *Xenorhabdus nematophila* ندارد؛ بنابراین می‌توان این دو عامل را به‌طور مختلط همراه با هم به کار برد ولی هیچ‌گونه اثرات هم‌افزایی ایجاد نمی‌کنند (جدول ۳).

بحث

در پژوهش حاضر، کارآیی جدایه بومی نماتد *S. carpocapsae* روی لاروها و حشرات کامل برگ‌خوار نارون به اثبات رسید و مرگ و میر ایجاد شده در غلظت‌های مورد مطالعه، در دامنه ۵۱/۸۷ تا ۸۰/۷۷ درصد متغیر بود. در مطالعه‌ای مشابه، جدایه تجاری همین گونه از نماتد و تولید شرکت کوپرت، مرگ و میری بین ۷۰ تا ۸۰ درصد روی برگ‌خوار نارون ایجاد کرد (Zeinolabedin Fard et al. 2020).

اگرچه در غلظت پایین نماتد، اختلاف معنی‌داری بین مرگ و میر ایجاد شده در لاروها و حشرات کامل برگ‌خوار نبود اما در غلظت بالاتر، لاروها مرگ و میر بالاتری نسبت به حشرات کامل داشتند که با در نظر گرفتن این مساله که حشرات کامل سخت‌بالپوشان معمولاً در مقابل نماتدها مقاومت نشان می‌دهند، قابل توجیه است. این نتایج برخلاف تحقیق قبلی(Zeinolabedin Fard et al. 2020) است که نماتدها روی حشرات کامل، موثرتر از لاروهای سن سه بوده‌اند.

جدول ۲- میانگین مرگ و میر (±SE) لاروها و حشرات کامل *X. luteola* تیمار شده با *S. carpocapsae* و *B. thuringiensis*

Table 2. Mean Mortality (±SE) of *X. luteola* larvae and adults treated by the *S. carpocapsae* and *B. thuringiensis*

Treatments	Mortality%	
	2nd instar Larvae	Adults
Bt 5	86.66±4.40 c	55.38±2.89 ab
Bt 10	85.66±4.80 c	61.25±5.03 ab
Ne. 400	65.42±1.54 b	57.09±4.22 ab
Ne. 500	80.77±0.92 c	51.87±2.96 a
Ne. 400+ Bt 5	87.33±3.92 c	
Ne. 400+ Bt 10	85.33±4.48 c	
Ne. 500+ Bt 5	88.33±3.92 c	
Ne. 500+ Bt 10	86.33±3.92 c	

There is no significant difference between treatments which have at least one letter in common ($P < 0.05$) by Duncan's test.

B. thuringiensis at 5‰ (Bt 5); *B. thuringiensis* at 10‰ (Bt 10); *S. carpocapsae* at 400 IJ/ml (Ne. 400); *S. carpocapsae* at 500 IJ/ml (Ne. 500);

جدول ۳- برهم‌کنش بین غلظت‌های مختلف باکتری Btg و نماتد *S. carpocapsae* روی لاروهای سن دوم *X. luteola* با استفاده از آزمون کای اسکور

Table 3. Interaction between the combined doses of Btg bacteria and the nematode *S. carpocapsae* on 2nd instar larvae of *X. luteola* using Chi-square analysis

Dose		Mortality (%)		X^2	Interaction
Nematode (IJ/ml)	Bt (g/1000ml)	Observed	Expected	(df=2, P=0.05)	
400	5	87.33	96.16	0.022	A
400	10	85.33	95.5	0.025	A
500	5	88.33	97.7	0.013	A
500	10	86.33	97.57	0.017	A

در مورد باکتری Btg، لاروها حساسیت بیشتری در مقایسه با حشرات کامل نسبت به باکتری در غلظت‌های مورد آزمون داشتند؛ اگرچه مطالعه قبلی در خصوص ارزیابی فرآورده تجاری بی‌تیران® باکتری *B. thuringiensis tenebrionis*، نشان داد که حشرات کامل سوسک برگ‌خوار نارون نسبت به لاروهای سن سوم حساس‌تر بودند و مقادیر دز کشنده پنجاه درصد برای لاروها و حشرات کامل به ترتیب ۱۰۶/۸۳ و ۵۷/۶ میلی‌گرم در لیتر بود (Hajialiloobonab et al. 2016).

در پژوهش حاضر، کارآیی زیرگونه *B. thuringiensis galleriae*، روی سوسک برگ‌خوار نارون خصوصاً مرحله لاروی سن دو به اثبات رسید و مرگ و میر لاروها و حشرات کامل در غلظت‌های ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر، در دامنه ۵۵/۳۸ تا ۸۶/۶۶ درصد متغیر بود. در مطالعه‌ای مشابه، مرگ و میر سوسک برگ‌خوار نارون در اثر زیرگونه *B. thuringiensis tenebrionis* در غلظت‌های مذکور، به ترتیب ۶۶/۷ و ۸۰/۰ درصد ذکر شده است (Saberi et al., 2020). در پژوهش دیگری فرآورده تجاری بایوبیت® از باکتری *B. thuringiensis tenebrionis*، در غلظت‌های ۰/۵ تا ۲ میلی‌گرم در لیتر مرگ و میری بین ۱۵ تا ۸۱/۶۷ درصد اعمال کرد (Hajialiloobonab et al., 2017) که نشانگر تاثیر بهتر فرآورده تجاری Btt نسبت به فرآورده تجاری Btg و همچنین Btt غیرفرموله شده است.

برهم‌کنش بین Bt و نماتدهای بیمارگر حشرات به هر سه حالت تشدیدکنندگی، تجمعی و بازدارندگی بسته به گونه و یا استرین بیمارگرها، آفت هدف، دز بکار رفته، زمان سپری شده، ترتیب آلوده‌سازی و شرایط محیطی گزارش شده است (Koppenhöfer et al., 1999; Zampara et al., 2014; Devi, 2019). اگرچه کاربرد همزمان نماتد و باکتری بیمارگر حشرات روی لاروهای برگ‌خوار نارون در هیچ کدام از تیمارها اثر تشدیدکنندگی نداشتند ولی با توجه به برهم‌کنش تجمعی این دو عامل می‌توان آنها را به عنوان ابزارهای مدیریتی موثر و در عین حال ایمن به‌طور همزمان در چارچوب مدیریت تلفیقی لاروهای برگ‌خوار نارون به‌کار برد که براساس مطالعات انجام شده، موثرترین روش در کنترل برگ‌خوار نارون، مدیریت تلفیقی آن و کاربرد بیمارگرهای حشرات به عنوان جزیی از اجزاء مدیریت آن است. با توجه به سازگاری این دو عامل و فقدان اثرات بازدارندگی متقابل، می‌توان هر دو عامل را در ترکیب با هم با ادوات پاششی رایج و پاشنده‌های متداول برای سموم شیمیایی در مدیریت سوسک برگ‌خوار نارون در فضای سبز شهری به‌کار برد.

نماتدهای بیمارگر حشرات معمولاً ظرف ۴۸-۲۴ ساعت حشرات میزبان را از پا در می‌آورند اما باکتری Btg ابتدا باعث توقف و کاهش تغذیه در حشرات و به مرور باعث مرگ آنها می‌شود. از پای در آوردن سریع برگ‌خوار نارون توسط بیمارگر حشرات و اثرات ضد تغذیه‌ایی و ضد اشتهایی باکتری Btg از ویژگی‌های مثبت مشاهده شده این دو عامل میکروبی است که در هنگام کاربرد تلفیقی این دو می‌توان همزمان از آن‌ها بهره جست بدون اینکه نماتد و باکتری اثران منفی روی کارآیی همدیگر داشته باشند. مطالعه حاضر اولین پژوهشی است که به بررسی اثر تلفیقی نماتد بیمارگر و باکتری بیمارگر حشرات و برهم‌کنش بین این دو عامل روی لاروها و حشرات کامل برگ‌خوار نارون می‌پردازد و با نفی اثر بازدارندگی و رقابت بین این دو، کاربرد تلفیقی آنها را در کنترل برگ‌خوار نارون بلامانع می‌داند. به‌علاوه کارآیی جدایه‌ای بومی از نماتدهای بیمارگر حشرات و زیرگونه *galleriae* از باکتری Bt تاکنون مورد بررسی و تایید قرار نگرفته بود. در مجموع می‌توان گفت که نماتد *S. carpocapsae* و باکتری Bt پتانسیل خوبی برای کنترل برگ‌خوار نارون دارند ولی

ضرورت انجام مطالعه در مورد میزان کارآیی و پایداری آنها در شرایط محیط طبیعی وجود دارد.

سپاس‌گزاری

این پژوهش با استفاده از امکانات و منابع موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی و در بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک آن در قالب پروژه تحقیقاتی "پتانسیل نماتدهای بیمارگر حشرات و *Bacillus thuringiensis* در کنترل برگ‌خوار نارون *Xanthogaleruca luteola* " انجام شده است که بدین وسیله از پرسنل بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک و همچنین جناب آقای مهندس علیرضا رحیم‌زاده،کارشناس فضای سبز شهرداری منطقه یک تهران که به نحوی در پروژه مذکور دخیل بوده‌اند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آورد.

REFERENCES

Arbab, A., Sahragard, A. & Jalali Sendi, J. (2002). Laboratory investigation on Elm Leaf Beetle *Xanthogaleruca luteola* Muller (Col.: Chrysomelidae) biology. *Journal of Entomological Society of Iran*, *21*, 73–85. (In Farsi with English Summary). https://doi.org/10.17221/89/2020-jfs

Abai, M. (2010) *Pests of forest trees and shrubs of Iran*. AREEO Publication. (In Farsi). https://doi.org/10.1016/c2011-0-06146-x

Abbasipour, H., Zeinolabedin Fard, N., & Saeedizadeh, A. (2017). Comparison of entomopathogenic nematodes efficacy on control of the elm-leaf beetle, *Xanthogaleruca luteola* Müller (Col.: Chrysomelidae) in vitro. 2nd Iranian International Congress of Entomology, 2-4 September. Karaj. Iran.

Behdad, E. (1988). *Pests of forest trees and shrubs and ornamentals in Iran*. SEPEHRPublication. (In Farsi).

Berry, R. E., & DeAngelis, J. D. (2000). Insect control on nursery and landscape plants with entomopathogens. In L. A. Lacey, & H. K. Kaya (Eds.), *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology* (pp. 629–650). Springer Science. https://doi.org/ 10.1007/978-1-4020-5933-9_30

CABI (2019). *Pyrrhalta luteola* (elm leaf beetle). Datasheet Invasive Species Pest. Available at https://www.cabi.org/isc/datasheet/44619

Clair, D. J., Dahlsten, D. L., & Hart, E. R. (1987). Rearing *Tetrastichus gallerucae* (Hymenoptera: Eulophidae) for biological control of the elm leaf beetle, *Xanthogaleruca luteola*. Entomophaga, *32*, 457-61. https://doi.org/10.1007/bf02373514

Clausen, C. P. (1956). Biological control of insect pests in the continental United States. U. S. Dept. Agric. Tech. Bull., 1139. 151 p.

Cranshaw, W. S., Day, S. J., Gritzmacher, T. J., & Zimmerman, R. J. (1989). Field and laboratory evaluations of *Bacillus thuringiensis* strains for control of elm leaf beetle. *Journal of Arboriculture*, *15*, 31–34. https://doi.org/10.1603/0022-0493-93.3.713

Dahlsten, D. L., & Hall, R. W. (1999). Biological control of insects in outdoor urban environments. In T. S. Bellows, & T. W. Fisher (Eds.), *Handbook of Biological Control: Principles and Applications.* Academic Press. 1046 p. https://doi.org/10.1016/b978-012257305-7/50083-7

Dahlsten, D. L., Rowney, D. L., & Lawson, A. B. (1998). IPM helps control elm leaf beetle. *California Agriculture*, *52*(2), 18–23. https://doi.org/10.3733/ca.v052n02p18

Dahlsten, D. L., Tait, S. M., Rowney, D. L., & Gingg, B. J. (1993). A monitoring system and development of ecologically sound treatment for elm leaf beetle. *Journal of Arboriculture*, *19*(4), 181–186. https://doi.org/10.48044/jauf.1993.030

Devi, G. (2019) White grub management by entomopathogenic nematodes. *International Journal of Current Research*, *11* (12), 8876–8886. https://doi.org/10.24941/ijcr.37523.12.2019

Dowden, P. B. (1962). Parasites and predators of forest insects liberated in the United States through 1960. U. S. Dept. Agric. Hand book. 226. 70 p.

Dreistadt, S. (2008). Elm Leaf Beetle, *Xanthogaleruca* (=*Pyrrhalta*) *luteola* (Muller) (Coleoptera: Chrysomelidae). In J. L. Capinera (Ed.), *Encyclopedia of Entomology* (2nd ed., pp. 1297–1300) Cambridge University Press. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6359-6

Eski, A., Demir, I., Sezen, K., & Demirbağ, Z. (2017). A new biopesticide from a local *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* (Xd3) against alder leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *33*(5), 95. https://doi.org/10.1007/s11274-017-2263-0

Francardi, V. (1990). Results in the use of a new microbiological preparation based on *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* in the control of the larvae of *Pyrrhalta luteola* (Mull). *Redia-Giornale Di Zoologia*, *73*, 463–472.

Giayetto, A. L., & Cichón, L. I. (2006). Distribución, gama de huéspedes y especificidad de cinco poblaciones de *Heterorhabditis bacteriophora* (NEMATODA: HETERORHABDITIDAE) del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, Argentina. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, *35* (2), 163–183.

Gouli, V. V., Gouli, S. Y., & Marcelino, J. A. P. (2016). *Concise Illustrated Dictionary of Biocontrol Terms*. Academic Press. https://doi.org/10.1016/C2015-0-00782-1

Hajialiloobonab, S., Moravej, G., & Haidari Latibari, M. (2017). Comparative study on the effect of *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* on adult and third instar larva of elm leaf beetle, *Xanthogaleruca luteola* (Mull) under laboratory and field conditions. *Proceedings of the 8th Bioconference*. 1-2 November. Rasht. Iran. P. 7. (In Farsi with English Summary).

Hajialiloobonab, S., Moravej, G., & Sadeghi Namaghi, H. (2016). Comparative study on the efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* and a neem-based insecticide on adults and larvae of *Xanthogaleruca luteola* (Mull) (Col: Chrysomelidae) in laboratory conditions. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, *4*(4), 1122–1125.

Kalyuzhnaya, N. S., Gorbacheva, O. V., & Didyk, L. K. (1995). *Galerucella luteola* Müll. (Coleoptera, Chrysomelidae) as a pest of plantations of trees in the southern Ergeni Hills (Kalmykia) *Ėntomologicheskoe Obozrenie*, *74*(1), 45–51.

Kaya, H. K., & Gaugler, R. (1993). Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology, 38*, 181–206. https://doi.org/10.1146/annurev.en.38.010193.001145

Kaya, H. K., Hara, A. H., & Reardon, R. C. (1981). Laboratory and field evaluation of *Neoaplectana carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) against the elm leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) and the western spruce budworm (Lepidoptera: Torthcidae). *Canadian Entomologist*, *113*, 787–793. https://doi.org/10.4039/ent113787-9

Koppenhöfer, A. M., Choo, H. Y., Kaya, H. K., Lee, D. W., & Gelernter, W. D. (1999). Increased field and greenhouse efficacy against scarab grubs with a combination of an entomopathogenic nematode and *Bacillus thuringiensis*. *Biological Control*, *14*, 37–44. https://doi.org/10.1006/BCON.1998.0663

Lacey, L. A., Grzywacz, D., Shapiro-Ilan, D. I., Frutos, R., Brownbridge, M., Goettel, M. S. (2015). Insect pathogens as biological control agents: back to the future. *Journal of Invertebrate Pathology, 132*, 1–41. https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.009

Memari, Z. (2016). *Study the effect of entomopathogenic nematodes on Ectomyelois ceratoniae Zeller* (Lep. Pyralidae) [MSc thesis, Ferdowsi University of Mashhad].

Orozco, R. A., Lee, M. M., & Stock, S. P. (2014). Soil sampling and isolation of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae, Heterorhabditidae). *Journal of Visualized Experiments, 89*, 52083. https://doi.org/10.3791/52083

Qadri, M., Short S., Gast, K., Hernandez, J., & Wong AC-N (2020). Microbiome innovation in agriculture: Development of microbial based tools for insect pest management. *Frontiers in Sustainable Food Systems, 4*, 547751. https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.547751

Redmond, C. T., Wallis, L., Geis, M., Williamson, R. C., & Potter, D. A. (2019). Strengths and limitations of *Bacillus thuringiensis galleriae* for managing Japanese beetle (*Popillia japonica*) adults and grubs with caveats for cross-order activity to monarch butterfly (*Danaus plexippus*) larvae. *Pest Management Science*, *76*(2), 472–479. https://doi.org/10.1002/ps.5532

Saberi, F., Marzban, R., Ardjmand, M., Pajoum Shariati, F., & Tavakoli, O. (2020). Optimization of culture media to enhance the ability of local *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis*. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 19*(7), 468-475. https://doi.org/10.1016/j.jssas.2020.08.004

Sharghi, H., Eivazian Kary, N., & Mohammadi, D. (2019). Susceptibility of *Polyphylla olivieri* and *Xanthogaleruca luteola* to an entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora*. *3rd Iranian International Congress of Entomology*. 17-19 August, Tabriz. Iran. p. 180.

Sikandar, A., Yuan, R. H., Lian, X. L., Zhen, M. A., Zhao, P., Li, F., Lu, X. P., & Wang, Y. Y. (2021). Entomopathogenic nematodes as bioinsecticides– A review. *Applied Ecology and Environmental Research, 19*(3), 2459-2476. https://doi.org/10.15666/aeer/1903_24592476

Thurston, G. S. (1998). Biological control of Elm Leaf Beetle. *Journal of Arboriculture*, *24*(3), 154–159. https://doi.org/10.1079/9780851995274.0000

Thurston, G. S. (2001). *Xanthogaleruca luteola* (Muller), Elm Leaf Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). In P. G. Mason, & J. T. Huber (Eds.), *Biological Control Programmes in Canada, 1981-2000* (pp. 272-274). CABI. https://doi.org/10.1079/9780851995274.0000

Triggiani, O., & Cravedi, P. (2011). Entomopathogenic nematodes. *Redia-Giornale Di Zoologia, 94*, 119–122.

Triggiani, O., & Tarasco, E. (2007). Applying entomopathogenic nematodes to *Xanthogaleruca luteola* (Coleptera Chrysomelidae)-infested foliage. *Redia-Giornale Di Zoologia, 90*, 29–31. https://doi.org/ 10.17221/89/2020-JFS

Wells, A. J., Kwong, R. M., & Field, R. (1994). Elm leaf beetle control using the biological insecticide, Novodor (*Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis*). *Plant Protection Quarterly*, *9*, 52–55.

Zampara, I. Z., Zamparas, C., Mantzoukas, S., & Karanastasi, E. (2014). Study on the combined action of the entomopathogenic bacterium *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. *Entomologia Hellenica, 23*, 74–86. https://doi.org/10.12681/EH.11539

Zeinolabedin Fard, N., Abbasipour, H., Saeedizadeh, A., & Karimi, J. (2020). Laboratory assay of entomopathogenic nematodes against the elm leaf beetle, *Xanthogaleruca luteola* Müller (Col.: Chrysomelidae). *Journal of Forest Science, 66,* 524–531. https://doi.org/10.17221/89/2020-JFS

© 2023 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/.

Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)
46(1), Spring, 2023

10.22055/ppr.2023.18031

Efficacy Assessment of the Nematode *Steinernema carpocapsae* and the Bacterium *Bacillus thuringiensis* in Control of Elm Leaf Beetle, (*Xanthogaleruca luteola*) under Laboratory Conditions

H. Haji Allahverdipour [1*], R. Marzban [2]

1. ***Corresponding Author:** Assistant Professor, Biological Control Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran (h.hajiallahverdi@areeo.ac.ir)
2. Associate Professor, Biological Control Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Received: 20 July 2022 Accepted: 21 January 2023

Abstract

Background and Objectives

Elm leaf beetle (ELB), *Xanthogaleruca luteola* (Chrysomelidae), is one of the most serious and destructive pests of elm which is mainly suppressed by chemical pesticides. Concerning the prevalence of elm trees in urban green spaces and chemical control of elm and the consequent urban environmental pollution and natural enemy suppression, safe and eco-friendly tactics like biological control should be substituted for chemical control. Research carried out on biological control of ELB has suggested entomopathogenic nematodes (EPNs) as suitable and favorable candidate for the control of ELB. Regarding ELB integrated pest management, the combined use of EPNs and the bacteria *Bacillus thuringiensis* has been recommended. In the current study, the effect of different concentrations of the native isolate of *Steinernema carpocapsae* and the bacteria *B. thuringiensis* subsp. *galleriae* (Btg) either individually or in combination on ELB 2nd instar larvae and adult mortalities was tested under laboratory conditions.

Materials and Methods

Field-collected adults and larvae of ELB were exposed to *in vivo*-reared *S. carpocapsae* at 400 and 500 IJs/ml through leaf-bioassay. The elm leaves were floated for 30 sec. in 5‰ or 10‰ suspensions of Btg and air-dried before the assays. A replicate of either twenty 2nd instar larvae or twenty adults was introduced into small polystyrene boxes containing the treated leaves. The combination assays included these treatments: (a) *S. carpocapsae* 400 IJs/ml + Btg 5‰ (b) *S. carpocapsae* 500 IJs/ml + Btg 5‰ (c) *S. carpocapsae* 400 IJs/ml + Btg 10‰ (d) *S. carpocapsae* 500 IJs/ml + Btg 10‰. The corrected mortality rates were calculated by Abbott's formula. Data were analyzed using General Linear Model, ANOVA in IBM SPSS and compared by Duncan's test. Interaction between the nematode and bacterium was quantified through the formula of Robertson and Preisler.

Results
Pathogenicity of the native isolate of *S. carpocapsae* and Btg on 2nd instar larvae and adults of ELB was verified and mortalities, in general, were recorded in the range of 51.87-88.33%. Both the nematode- and bacteria-infected larvae and adults showed different pre- and post-mortem symptoms and signs. The results showed that there was no significant difference between the incurred mortalities of the studied nematodes and bacteria within each stage group of ELB except for one treatment (df=11, $P<0.05$). ELB larvae were more susceptible to the nematode and the bacteria in most treatments compared with the adults. Interaction between the tested bacterium and nematode was additive at all concentrations, and neither synergistic nor antagonistic effect was observed in the combined use of *S. carpocapsae* and Btg.
Discussion
Considering the higher susceptibility of ELB larvae to the studied nematode and bacterium compared with adults, their field application is recommended at the larval stages of ELB. The additive effect of B. *thuringiensis* and *S. carpocapsae* facilitates their combined use against ELB. Either of these entomopathogens could be simultaneously used as effective and safe management tools in the context of integrated pest management of ELB larvae.

Keywords: Xanthogaleruca; Entomopathogenic nematode; Bt; Interaction; Combination

Associate editor: S. Azimi (Ph.D.)

Citation: Haji Allahverdipour, H. & Marzban, R. (2023). Efficacy Assessment of the Nematode *Steinernema carpocapsae* and the Bacterium *Bacillus thuringiensis* in Control of Elm Leaf Beetle, (*Xanthogaleruca luteola*) under Laboratory Conditions. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 46*(1), 25-37. https://doi.org/10.22055/ppr.2023.18031.