



گیاه پزشکی (مجله علمی کشاورزی)

جلد ۴۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲

doi 10.22055/ppr.2023.43068.1684

اثرات نماتد *Steinernema carpocapsae* روی شته معمولی گندم *Schizaphis graminum* (Hemiptera: Aphididae)

هوشنگ رفیعی دستجردی^{۱*}، محسن طلعه^۲، رویا احمدپور^۳ و لاله ابراهیمی^۴

- ۱- نویسنده مسوول: استاد گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران (Hooshangrafiee@gmail.com)
- ۲- دانش آموخته دکتری حشره شناسی کشاورزی، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
- ۳- دانشجوی دکتری حشره شناسی کشاورزی، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
- ۴- استادیار موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۰۶

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۲۹

چکیده

شته معمولی گندم (*Schizaphis graminum* (Hemiptera: Aphididae)) یکی از مهمترین آفات غلات است که هر ساله خسارت زیادی به مزارع گندم کشور وارد می‌سازد. هدف تحقیق حاضر، بررسی تأثیر کشندگی و زیر کشندگی نماتد *Steinernema carpocapsae* بر فراسنجه‌های جدول زندگی و فعالیت آنزیم فنل اکسیداز شته معمولی گندم با استفاده از سوپسترای (L-DOPA (L-dihydroxyphenylalanin)) در اتاقک رشد با شرایط دمایی 25 ± 2 درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود. آنزیم فنل اکسیداز نقش کلیدی در سیستم ایمنی ذاتی حشرات دارد. مقدار LC_{50} نماتد مورد مطالعه روی شته‌های ماده بالغ *S. graminum*، ۱۳۶ لارو سن سوم بر حشره به دست آمد. طبق نتایج، این نماتد تأثیر کشندگی بالایی روی مراحل بالغ شته‌ها دارد. نتایج آزمایش تأثیر زیر کشندگی (LC_{30}) این نماتد نشان داد که میزان پوره‌زایی در تیمار نماتد (۱۹/۰۷ پوره/به ازای هر شته کامل) به طور معنی‌داری کمتر از شاهد (۳۹/۱۶ پوره/به ازای هر شته کامل) بود. همچنین، نماتد مورد مطالعه به‌طور معنی‌داری باعث کاهش ویژگی‌های دموگرافی شته معمولی گندم شدند. مقدار نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r) شته‌ها در تیمار نماتد و شاهد به ترتیب $0/300$ و $0/421$ بر روز بود. در این بررسی، میزان فعالیت آنزیم فنل اکسیداز، بر اساس میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین شته‌های تیمار شده تفاوت معنی‌داری با شاهد داشت. نتایج نشان داد که نماتد *S. carpocapsae* اثر کشندگی و زیر کشندگی قابل ملاحظه‌ای روی شته معمولی گندم دارد و بعد از مطالعات مزرعه‌ای، می‌تواند در کنترل بیولوژیک و برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفت مذکور مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: شته معمولی گندم، نماتد، زیست سنجی، ویژگی‌های زیستی، فنل اکسیداز

دبیر تخصصی: دکتر صدیقه عظیمی

Citation: Rafiee-Dastjerdi, H., Taleh, M., Ahmadpoor, R. & Ebrahimi, L. (2023). Effects of Entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* against *Schizaphis graminum* (Hemiptera: Aphididae). *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 46(2), 19-30. <https://doi.org/10.22055/ppr.2023.43068.1684>.

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) به عنوان یکی از اصلی-ترین محصولات کشاورزی تامین کننده نیاز غذایی انسان‌ها در کشورهای مختلف جهان به ویژه در کشورهای جهان سوم می-باشد (Khodabandeh, 2000; Fattah-Alhosseini et al., 2011). از مهمترین عوامل محدود کننده تولید این محصول می‌توان به حشرات و به‌ویژه شته‌ها اشاره کرد که با تغذیه از شیره گیاهی، کاهش فتوسنتز بوسیله ترشح عسلک و انتقال ویروس‌های گیاهی خسارت زیادی به گیاهان وارد می-کند (Hein et al., 1996). شته معمولی گندم *Schizaphis graminum* Rondani (Hemiptera: Aphididae) از آفات مهم گندمیان در جهان است که با تغذیه خود باعث کاهش قابل توجه عملکرد محصول می‌شود (Blackman & Eastoop, 2007; Vakhide & Safavi, 2014). علاوه بر گندم به سورگوم، جو، یولاف و چاودار خسارت می‌زند (Michels & Behle, 1989).

برای کنترل شته معمولی گندم از روش‌های مختلف بیولوژیک، زراعی و شیمیایی استفاده می‌شود (Papp & Mesterhazy, 1993)، ولی رایج‌ترین روش کنترل، سمپاشی شیمیایی می‌باشد (Wilde et al., 2001). مصرف روزافزون حشره‌کش‌های شیمیایی مشکلات زیادی از جمله بروز مقاومت حشرات به آفت‌کش‌ها، اثرات سوء روی محیط زیست، موجودات مفید و انسان‌ها را به دنبال داشته است (Desneux et al., 2006). در این راستا استفاده از بیمارگرهای حشرات از جمله نماتدها می‌تواند جایگزین مناسبی برای ترکیبات شیمیایی باشد (Kavallieratos et al., 2006; Ebrahimi et al., 2011). هدف کشاورزی پایدار، تلاش برای به حداقل رساندن استفاده از آفت‌کش‌ها است (Stark et al., 2007). بنابراین، شناسایی نماتدهای بیمارگر حشرات ضروری می‌باشد.

در حال حاضر، نماتدهای جنس *Steinernema* Travassos, 1927 (Steinernematidae Filipjev, 1934)

مهمترین نماتدهای مورد استفاده در تحقیقات کنترل بیولوژیک در آزمایشگاه‌های مهم جهان است. مرگ نسبتاً سریع میزبان (۴۸ تا ۲۴ ساعت پس از آلودگی) و دامنه وسیع میزبانی این نماتدها از علل استفاده از این موجودات زنده به عنوان عوامل کنترل بیولوژیک و همچنین تولید تجاری آنها در سطح کوچک، به شمار می‌آید (Abdollahi, 2009). 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 (Baur & Kaya, 2001).

بررسی اثر آفت‌کش‌های بیولوژیک روی آفات باید همه جانبه بوده و علاوه بر خاصیت حشره‌کشی، تأثیر زیرکشنندگی آنها روی ویژگی‌های زیستی و فیزیولوژیک آفات نیز در نظر گرفته شود. برای بررسی اثرات مختلف آنها روی فراسنجه‌های رشد جمعیت آفات از سم‌شناسی دموگرافیک استفاده می‌شود (Stark & Banks, 2003). روش سم‌شناسی دموگرافیک علاوه بر بررسی اثر کشنندگی، فراسنجه‌های جدول زندگی مربوط به جمعیت‌هایی که در معرض غلظت‌های مختلف یک حشره‌کش قرار گرفته‌اند را با جمعیت شاهد مقایسه می‌کند و اطلاعات کاملی از بقا و رشد جمعیت حشره تیمار شده فراهم می‌کند (Chi & Yang, 2003; Desneux et al., 2006).

به محض عبور یک مهاجم از موانع دفاعی حشرات، با واکنش سریع و موثری از سوی حشرات مواجه می‌شود که توانایی جاگیری و تولید مثلی عامل بیماری‌زا را خنثی می‌سازد. آنزیم فنل اکسیداز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌هایی است که در سیستم ایمنی ذاتی حشرات نقش اساسی دارد (Cerenius & Soderhall, 2004). چندین مطالعه اثرات مثبت نماتدهای بیمارگر روی کنترل حشرات آفت و همچنین تأثیر آنها روی سیستم ایمنی حشرات را بررسی و اثبات کرده‌اند (Brivio et al., 2002; Souza et al., 2012; Caccia et al., 2014). بررسی فعالیت آنزیم فنل اکسیداز شته‌های واقع در معرض نماتد،

نماتد مورد مطالعه

لارو سن سوم نماتد *Steinernema carpocapsae* که قادر به نفوذ به داخل بدن حشره است (Poinar, 1990)، از موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور تهیه شد.

بررسی کشندگی نماتد *S. carpocapsae* روی شته معمولی گندم

به منظور بررسی تاثیر نماتد *S. carpocapsae* روی فرم بالغ شته معمولی گندم، آزمایش های زیست سنجی مقدماتی انجام و دامنه غلظت هایی (تعداد لارو سن سوم نماتد در یک میلی لیتر) که موجب مرگ و میر جمعیت حدود ۲۵ تا ۷۵ درصد می شوند انتخاب و بقیه غلظت ها طبق فاصله لگاریتمی تعیین شد. بدین منظور تعداد ۱۰ شته بالغ بصورت جداگانه به ظرف پتری با قطر شش سانتی متر حاوی دو لایه کاغذ صافی منتقل شد (Ebrahimi et al., 2011). غلظت های مختلف مرحله لارو سن سوم آلوده کننده (10^1) از نماتد با حجم یک میلی لیتر با پیپت به روی کاغذ صافی ریخته شد (برای افزایش دقت آزمایش، تعداد نماتدها در یک میلی لیتر در زیر استریوسکوپ به صورت چشمی شمارش شد). همان مقدار از آب مقطر بر روی کاغذ صافی به عنوان شاهد اضافه شد. عدم تحرک و تغییر رنگ لاشه شته، ملاک ثبت مرگ و میر بود. هر تیمار دارای سه تکرار بود (Yan et al., 2020).

بررسی اثرات زیر کشندگی نماتد *S. carpocapsae* روی ویژگی های زیستی شته معمولی گندم

جهت انجام آزمایش های جدول زندگی شته، ۱۰۰ عدد شته بالغ یک روزه و با عمر کمتر از ۲۴ ساعت در معرض غلظت زیر کشنده نماتد قرار گرفت (تعداد لارو سن سوم نماتد در یک میلی لیتر). پس از ۲۴ ساعت، حشرات به ظروف جدید منتقل شدند و تا مرگ حشرات کامل، مرگ و میر، طول دوره پوره زایی و پوره زایی روزانه آنها مورد بررسی قرار گرفت. ظروف پتری به اتاق پرورش با شرایط دمایی 25 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد و دوره ی نوری

تحت شرایط آزمایشگاهی جهت مشخص کردن میزان بیمارگری نماتدها روی این حشرات ضروری است. بر اساس منابع موجود، تاکنون در مورد تاثیر کشندگی و زیر کشندگی نماتد *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) روی شته معمولی گندم (*S. graminum*) مطالعه ای انجام نشده است. بنابراین، اهداف اصلی تحقیق حاضر، بررسی خاصیت بیمارگری این نماتد و تاثیر آن روی ویژگی های زیستی و فعالیت آنزیم فنل اکسیداز شته معمولی گندم می باشد. نتایج حاصل از این تحقیق می تواند در برنامه های مدیریت تلفیقی این آفت مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش ها

کشت گیاه میزبان

در این مطالعه از رقم گاسکوژن گندم تهیه شده از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل (مغان) استفاده شد. ابتدا بذره های گندم در گلدان های پلاستیکی حاوی خاک زراعی مناسب، ماسه و کود دامی به نسبت ۱:۱:۲ و در شرایط دمایی 25 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد و دوره ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در گلخانه دانشگاه محقق اردبیلی کشت شد. آبیاری گلدان ها هفته ای دو بار انجام شد.

پرورش جمعیت شته معمولی گندم

برای پرورش شته معمولی گندم از جمعیت های موجود در آزمایشگاه تحصیلات تکمیلی گروه گیاه پزشکی استفاده شد و روی بوته های گندم در اتاق رشد منتقل شد. پس از رشد مناسب گیاهان، روی گلدان ها طلق هایی به ارتفاع ۳۰ سانتی متر که برای تهویه روی آن یک دریچه ی 18×18 سانتی متری تعبیه و با توری ریز پوشانده شده، قرار داده و بوته ها به شته آلوده شدند. گلدان ها هفته ای دو بار آبیاری شدند و جمعیت شته داخل اتاق پرورش با دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد و دوره ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شد.

انکوبه شده و سپس ۲۰ میکرولیتر سوبسترای (L-DOPA (dihydroxyphenylalanin با غلظت ۱۰ میلی مولار و ۵۰ میکرولیتر بافر فسفات به هر کدام اضافه شد و بعد از آنکوباسیون به مدت پنج دقیقه در دماهای ۲۵ و ۳۰ درجه سلسیوس، جذب نور آن‌ها به طور جداگانه در طول موج ۴۹۲ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (Anthos 2020, Austria) اندازه‌گیری شد. جذب نور شاهد در دمای ۳۰ درجه سلسیوس خوانده شد (Leonard et al., 1985).

تجزیه داده‌ها

درصد مرگ و میر اصلاح شده با استفاده از فرمول Abbott (1925) محاسبه شد. تجزیه واریانس داده‌ها توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد (SPSS, 2007). اختلاف آماری میانگین‌های فعالیت آنزیم فنل اکسیداز با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد مورد بررسی قرار گرفت. پارامترهای زیستی شته با استفاده از جدول زندگی دوجنسی (Chi & Liu, 1985) طبق روش توضیح داده شده توسط Chi (1988) تجزیه شد. تجزیه داده‌ها توسط نرم‌افزار TWOSEX-MSChart صورت گرفت (Chi, 2020). جهت تکراردار کردن داده‌های پارامترهای رشد جمعیت از روش بوت استرپ^۱ (۱۰۰۰۰۰ تکرار) استفاده شد.

نتایج

کشدگی نماتد *Steinernema carpocapsae* روی شته‌های ماده بالغ

نتایج حساسیت شته‌های ماده بالغ *S. graminum* به نماتد *S. carpocapsae* در جدول ۱ نشان داده شده است. مقدار غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC₅₀) این نماتد، ۱۳۶ لاروسن سوم بر حشره در زمان ۴۸ ساعت به دست آمد. همچنین، نتایج زیست‌سنجی و شیب خط دوز-پاسخ نماتد نشان می‌دهد که با کوچک‌ترین افزایش غلظت در مقدار این ترکیب، تلفات بیشتری در شته حاصل می‌شود (جدول ۱).

۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی انتقال داده شد. این کار تا زمان مرگ تمام حشرات ادامه داشت و با استفاده از داده‌های جمع‌آوری شده، ویژگی‌های زیستی و جمعیتی شته بررسی شد. نماتدها در صورتی اثرات کشندگی از خود نشان می‌دهند که تعداد کافی از آن‌ها بتوانند شته را انگلی کنند و اگر تعداد کمتری در بدن حشره میزبان وجود داشته باشد اثرات زیر کشندگی از خود نشان می‌دهند (Filgueiras & Willett, 2021).

بررسی تاثیر نماتد *S. carpocapsae* روی فعالیت آنزیم فنل اکسیداز سلول‌های خونی و همولف شته معمولی گندم در دمای ۲۵ و ۳۰ درجه سلسیوس

برای سنجش فعالیت آنزیم فنل اکسیداز افراد بالغ تیمار شده با غلظت‌های زیر کشنده عامل بیولوژیک، ابتدا آن‌ها را در فریزر گذاشته تا کاملاً بی‌حس شوند و سپس طبق روش (Azambuja et al. 1991) و با اندکی تغییرات، شته‌ها در داخل میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری حاوی ۲۰۰ میکرولیتر محلول ضد انعقاد (۰/۰۱ مولار اتیلن دی‌امین تتراستیک اسید، ۰/۰۱ مولار گلوکز، ۰/۰۶۲ مولار نمک طعام، ۰/۰۲۶ مولار سیتریک اسید، pH=4.6) با استفاده از دستگاه هموژنایزر همگن شد و سپس در ۱۲۰۰×g و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شده و محلول رویی دور ریخته شد و ته نشست محلول، دوباره به آرامی با بافر فسفات سرد (pH=6.5) در سانتریفیوژ شسته شده و ۳۵ میکرولیتر بافر فسفات سرد (pH=6.5) اضافه شده و هموژنایز گردید. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس با دور ۱۲۰۰×g سانتریفیوژ شد. بعد از اتمام این مراحل، محلول رویی برداشته شده و در میکروتیوب‌های دیگری با همان مشخصات ریخته شده و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس برای انجام آزمایش‌ها نگهداری شد.

مقدار ۱۰ میکرولیتر محلول آنزیمی یا محلول رویی به مدت ۳۰ دقیقه در دماهای ۲۵ و ۳۰ درجه سلسیوس بطور جداگانه

1- Bootstrap technique

جدول ۱- کشندگی نماتد مورد آزمایش روی شته معمولی گندم

Table 1. Lethality of tested nematode (Ijs/insect) on *Schizaphis graminum*

Nematode	χ^2	Slope \pm SE	LC ₃₀ (95% CL)	LC ₅₀ (95% CL)	LC ₉₀ (95% CL)
<i>S. carpocapsae</i>	13.64	2.74 \pm 0.16	87 (81-93)	136 (129-143)	399 (353-464)

Lethal concentrations and 95% confidence limits (CL) were estimated using logistic regression (SPSS, ver. 16).

غلظت‌های کشنده و محدوده اطمینان ۹۵ درصد (CL) با رگرسیون لجستیک محاسبه شدند (SPSS, ver. 16).

تیمار نماتد با مقدار ۱۳/۰۶ نتاج بود. نتایج نشان داد که مقدار نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r) از ۰/۳۰۰ تا ۰/۴۲۱ بر روز متغیر بود که مقدار آن در تیمار نماتد کمتر از میزان آن در تیمار شاهد بود. مقادیر نرخ متناهی افزایش جمعیت (λ) نیز در تیمار شاهد و نماتد مورد مطالعه به ترتیب ۱/۵۲۳ و ۱/۳۵۱ بر روز به دست آمد. متوسط زمان یک نسل (T) شته در بین تیمار شاهد (۸/۴۳۶ روز) و نماتد مورد مطالعه (۸/۵۳۷ روز) اختلاف معنی داری نداشت (جدول ۳).

اثر نماتد *Steinernema carpocapsae* روی فعالیتآنزیم فنل اکسیداز شته *Schizaphis graminum*

تاثیر نماتد *S. carpocapsae* روی فعالیت آنزیم فنل اکسیداز شته *S. graminum* در دو دمای ۲۵ و ۳۰ درجه سلسیوس بررسی شد. بر اساس نتایج به دست آمده، نماتد باعث افزایش فعالیت آنزیم در هر دو دما در مقایسه با شاهد شد (جدول ۴) ($F=28.665$, $df=2, 6$, $P<0.05$).

بحث

شته معمولی گندم با تغذیه از شیر گیاهی گندم و انتقال ویروس‌های بیماری‌زا، باعث کاهش تولید این محصول استراتژیک می‌شود. برای کاهش خسارت، لازم است از یک روش کنترل ایمن برای این شته استفاده شود. با توجه به اینکه استفاده از حشره کش‌های شیمیایی مشکلاتی مانند مقاومت و باقی‌مانده سموم در محصولات کشاورزی را به دنبال دارد، بهتر است از بیمارگرهای حشرات که ایمنی بالایی برای محیط زیست و دشمنان طبیعی دارند، استفاده گردد (Kavallieratos et al., 2006).

اثرات زیر کشندگی نماتد *Steinernema carpocapsae*

روی فراسنجه‌های زیستی و رشد جمعیت شته

نتایج طول دوره نشو و نمای پورگی، باروری و طول عمر شته *S. graminum* در شاهد و تیمار با غلظت زیر کشنده‌ی LC₃₀ نماتد *S. carpocapsae* در جدول ۲ آورده شده است. با توجه به نتایج به دست آمده، از نظر میانگین طول دوره نشو و نمای پورگی و طول دوره قبل از تخم‌ریزی شته‌های بالغ ماده ($APOP^1$)، بین شاهد و تیمار نماتد اختلاف معنی داری وجود نداشت.

نماتد *S. carpocapsae* اثر معنی داری روی مجموع دوره قبل از تخم‌ریزی شته‌های بالغ ماده ($TPOP^2$) داشت، به طوری که طولانی‌ترین این دوره در تیمار نماتد مشاهده شد. هم‌چنین، دوره پوره‌زایی طولانی‌تری برای شته‌های بالغ ماده در تیمار شاهد ثبت گردید. میزان باروری (پوره‌زایی) در تیمار نماتد، به طور معنی داری کمتر از تیمار شاهد بود. طول عمر شته‌های بالغ ماده روی تیمار نماتد به طور معنی داری کمتر از شاهد مشاهده شد (جدول ۲).

اوج منحنی‌های بقای ویژه سنی (l_x) و باروری ویژه سنی جمعیت (m_x) شته به ترتیب ۷/۱۷ پوره در روز هشتم در شاهد و ۳/۰۴ پوره در روز دوازدهم در تیمار نماتد به دست آمد (شکل ۱).

نتایج فراسنجه‌های رشد جمعیت پایدار شته *S. graminum* در شاهد و تیمار نماتد در جدول ۳ ارائه شده است. از نظر فراسنجه‌های جدول زندگی شته، بین تیمار نماتد مورد آزمایش با شاهد اختلاف معنی داری مشاهده شد. نرخ خالص تولیدمثل (R_0) در شاهد با مقدار ۳۴/۷۶ نتاج بیشتر از

1- Adult pre-oviposition period

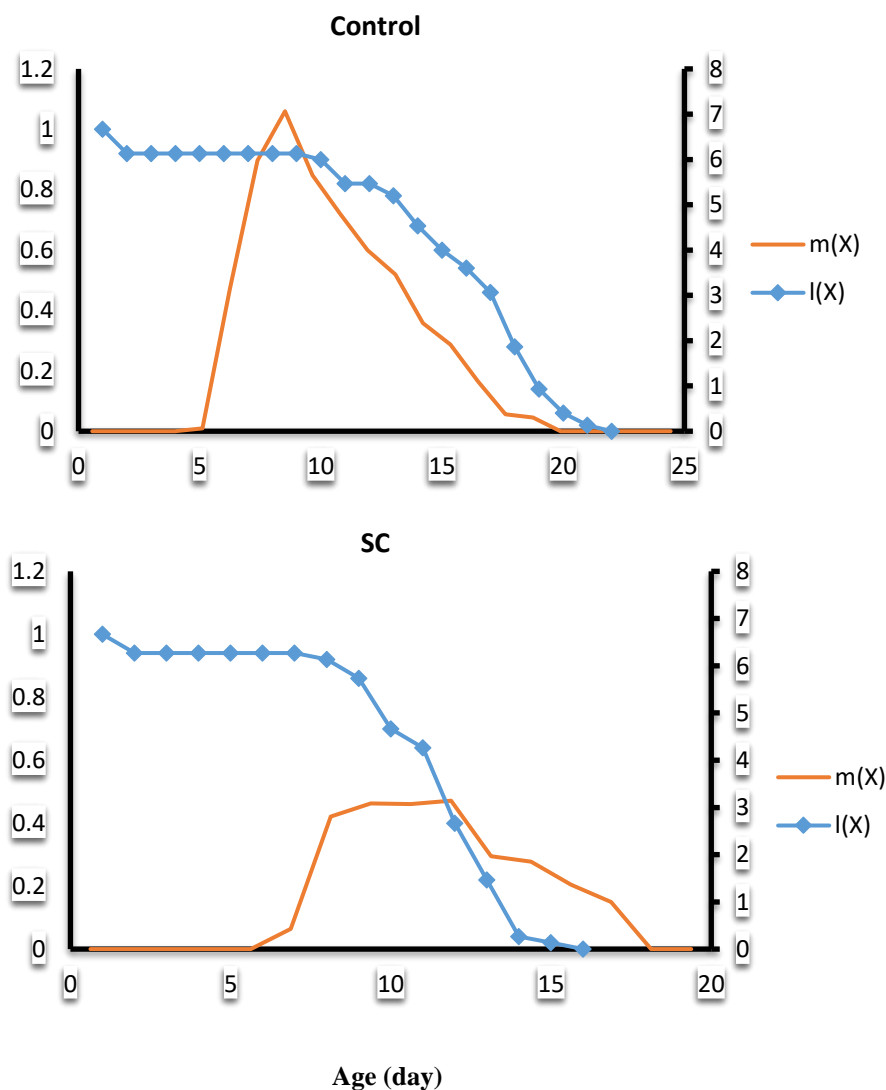
2- Total pre-oviposition period

جدول ۲- طول دوره نشو و نمای پورگی، باروری و طول عمر (میانگین ± خطای استاندارد) شته *Schizaphis graminum* در شاهد و تیمار نماتد

Table 2. Duration of nymphal immature stages, fecundity and adult longevity (mean±SE) of *Schizaphis graminum* in control and nematode treatment

Treatment	Nymphal developmental time (day)	APOP (day)	TPOP (day)	Reproduction period (day)	Fecundity (total number of nymphs)	Adult longevity (day)
<i>S. carpocapsae</i>	0.94 ± 0.03 a	0.32 ± 0.08 a	5.89 ± 0.06 a	4.93 ± 0.24 b	19.07 ± 0.80 b	5.17 ± 0.23 b
Control	0.92 ± 0.03 a	0.31 ± 0.08 a	5.19 ± 0.06 b	7.54 ± 0.29 a	39.16 ± 1.72 a	10.69 ± 0.47 a

Means followed by different letters in each column are significantly different (Paired bootstrap test, $P < 0.05$).



شکل ۱- بقای ویژه سنی (l_x) و باروری ویژه سنی کل جمعیت (m_x) نماتد *Steinernema carpocapsae* و شاهد
Figure 1. Age-specific survival rate (l_x) and age specific fecundity (m_x) of control and *Steinernema carpocapsae* (SC: *Steinernema carpocapsae*)

فرنگی در سطح برگ دارند و باید بیشتر مورد مطالعه قرار گیرند. طبق مطالعه Lalitha et al. (2022)، نماتدهای *S. carpocapsae* Stock, 1997 و *S. monticolum* در مراحل لاروی *Rhabditis blumi* Sudhaus لاروی *Spodoptera litura* (Fabricius) در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری اثرات بیماری‌گری بالایی دارند. تفاوت مقدار عددی LC₅₀ نماتد مورد مطالعه روی شته معمولی گندم در بررسی حاضر با مقادیر عددی LC₅₀ در بررسی‌های اخیر ممکن است به تفاوت گونه حشرات مورد بررسی و شرایط آزمایش مربوط باشد. تمام گونه‌های *Steinernema* با باکتری *Xenorhabdus* رابطه همزیستی دارند. لاروهای سن سوم آلوده کننده نماتد به هموسل حشره نفوذ کرده و باکتری همزیست روده خود را آزاد می‌کنند. این باکتری‌ها به سرعت تکثیر و عفونت زایی کرده و میزبان را در کمتر از ۴۸ ساعت از بین می‌برند (Poinar, 1990; Ferreira & Malan, 2014).

نتایج حاصل از مطالعه غلظت کشنده (LC₅₀) نماتد مورد بررسی نشان داد که نماتد *S. carpocapsae* قدرت بیماری‌گری مناسبی روی شته‌های ماده بالغ *S. graminum* داشت. تاکنون مطالعه‌ای در مورد میزان بیماری‌گری این نماتد روی شته معمولی گندم صورت نگرفته است، اما روی گونه‌های مختلف حشرات بررسی شده است. در تحقیقی، اثر نماتد *S. carpocapsae* روی مرحله لاروی شب پره‌ی مینوز گوجه فرنگی *Tuta absoluta* (Meyrick) مورد مطالعه قرار گرفت. محلول پاشی غلظت ۱۰۰۰ IJS/ml روی برگ‌های گیاه گوجه فرنگی موجب تلفات لاروها به میزان ۸۷ درصد شد (Batalla-Carrera et al., 2010). در مطالعه Sevgi and Galip (2016)، نماتدهای *S. carpocapsae* و *S. feltiae* (Filipjev, 1934) روی لاروهای سن سوم مینوز گوجه فرنگی *T. absoluta* (Meyrick)، مرگ و میر بالای ۹۰ درصد نشان دادند و گزارش کردند که نماتدهای بیمارگر حشرات پتانسیل بالایی برای کنترل لاروهای مینوز گوجه

جدول ۳- فرآیندهای جدول زندگی (میانگین ± خطای معیار) شته *Schizaphis graminum* در شاهد و تیمار نماتد

Table 3. Life table parameters (mean±SE) of *Schizaphis graminum* in control and nematode treatment

Treatment	R_0 (offspring/individual)	r (day ⁻¹)	λ (day ⁻¹)	T (day)
<i>S. carpocapsae</i>	13.06 ± 1.04 b	0.300 ± 0.08 b	1.351 ± 0.01 b	8.537 ± 0.104 a
Control	34.76 ± 2.09 a	0.421 ± 0.007 a	1.523 ± 0.01 a	8.436 ± 0.102 a

Means followed by different letters in each column are significantly different (Paired bootstrap test).

جدول ۴- فعالیت آنزیم فنل اکسیداز (میانگین ± خطای معیار) شته *Schizaphis graminum* در تیمار نماتد در دمای ۲۵ و ۳۰ درجه سلسیوس و شاهد

Table 4. Phenol oxidase (PO) enzyme activity (mean±SE) of *Schizaphis graminum* in nematode treatment in 25 °C and 30 °C and control

Treatment	PO activity (µmol/min/mg protein)
<i>S. carpocapsae</i> in 25 °C	0.525 ± 0.016 a
<i>S. carpocapsae</i> in 30 °C	0.592 ± 0.029 a
Control	0.390 ± 0.016 b
F	28.66
P	0.001

Means followed by different letters in each column are significantly different ($P < 0.05$).

و نمایی مراحل نابالغ باشد. کاهش این پارامترها باعث کاهش سرعت رشد جمعیت شته‌ها می‌گردد. بررسی این فراسنج‌ها نشان می‌دهد که غلظت‌های زیرکشنده نماتد مورد مطالعه می‌تواند رشد جمعیتی شته معمولی گندم را کندتر و یا حتی متوقف کنند. نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت زیرکشنده‌ی LC_{30} نماتد *S. carpocapsae* اثر قابل توجهی روی باروری، بقاء و امید به زندگی شته معمولی گندم دارد.

در این پژوهش، علاوه بر بررسی اثر نماتد *S. carpocapsae* روی ویژگی‌های زیستی شته معمولی گندم، تأثیر زیرکشنده‌ی آن بر فعالیت آنزیم فنل اکسیداز این شته نیز مورد مقایسه قرار گرفت. با توجه به اینکه سیستم ایمنی حشرات در مقابل نماتدها فعال می‌شود، در این مطالعه اثر نماتد *S. carpocapsae* روی فعالیت آنزیم فنل اکسیداز شته معمولی گندم بررسی شد. بیمارگرها از عوامل تحریک کننده سیستم دفاعی حشرات هستند و باعث افزایش فعالیت آنزیم فنل اکسیداز به عنوان اجزای مهم سیستم ایمنی حشرات می‌شوند (Cerenius & Soderhall, 2004). فعالیت این آنزیم در اثر تنش‌ها و زخم‌های ایجاد شده در بدن حشرات نیز افزایش می‌یابد (Taleh et al., 2014). در این راستا فعالیت آنزیم فنل اکسیداز، اندازه‌گیری و میزان تغییرات به‌وجود آمده در افراد تیمار شده بررسی شد. براساس نتایج، میزان فعالیت آنزیم فنل اکسیداز شته‌های تیمار شده در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت. به نظر می‌رسد که حشره به منظور مقابله با اثر نماتد، از آنزیم‌های فنل اکسیداز استفاده می‌کند و این آنزیم در بدن شته معمولی گندم در فرآیند مقابله با نماتد *S. carpocapsae* نقش ایفا می‌کند. همچنین فعالیت آنزیم در دو دمای ۲۵ و ۳۰ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد و میزان فعالیت آنزیم در دو دما تفاوت معنی‌داری نشان نداد، ولی در هر دو دما میزان فعالیت در مقایسه با شاهد افزایش یافت که نشان دهنده بهینه بودن هر دو جهت اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم می‌باشد. مطالعه (Zibae et al., 2011) نشان داد فعالیت آنزیم

فنل اکسیداز سلول‌های خونی سن گندم *Eurygaster*

مطالعه اثرات زیرکشنده‌ی آفتکش‌ها به منظور استفاده منطقی از آنها از اهمیت بالایی برخوردار است (Chen et al., 2016). چرا که برای مطالعه دقیق اثرات نماتدها روی حشرات لازم است علاوه بر اثرات مستقیم کشنده‌ی، اثرات غیرمستقیم آن‌ها نیز مورد بررسی قرار گیرد. بنابراین در تحقیق حاضر علاوه بر بررسی اثرات کشنده‌ی، اثرات زیرکشنده‌ی نماتد *S. carpocapsae* روی شته معمولی گندم مورد ارزیابی قرار گرفت. در این تحقیق طول عمر شته‌های بالغ ماده در برابر غلظت زیرکشنده نماتد به طور معنی‌داری کاهش یافت. باروری و پوره‌زایی شته معمولی گندم پس از قرار گرفتن در معرض غلظت LC_{30} تیمار نماتد به طور معنی‌داری کاهش یافت. از آنجا که زادآوری در جمعیت نسل بعدی نقش عمده‌ای دارد، کاهش آن می‌تواند از افزایش جمعیت حشرات جلوگیری کند. این نتایج، مطابق نتایج گزارش شده توسط سایر محققین می‌باشد. در مطالعه مشابهی، (Ebrahimi et al., 2011) تأثیر زیرکشنده‌ی *Steinernema feltiae* و *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar, 1976) را روی سوسک کلرادو بررسی کرده و نشان دادند که تیمار این نماتدها باعث افزایش معنی‌دار طول دوره نشو و نما و همچنین بدشکلی بال حشرات کامل شد.

نتایج حاصل از بررسی تأثیر غلظت زیرکشنده نماتد آزمایشی روی فراسنج‌های رشد جمعیت شته معمولی گندم نشان داد که در نماتد *S. carpocapsae*، ویژگی‌های جمعیت شته به‌ویژه مقدار فراسنج نرخ ذاتی افزایش جمعیت به طور معنی‌داری کم‌تر از شاهد بود. غلظت‌های زیرکشنده نماتدهای بیمارگر حشرات روی پارامترهای جدول زندگی حشرات تأثیر منفی می‌گذارند، همچنین طولانی شدن دوره نشو و نما و حتی بدشکلی میزبان را به دنبال دارند (Filgueiras & Willett, 2021). کمتر بودن مقدار عددی نرخ ذاتی افزایش جمعیت شته‌های در معرض قرار گرفته با نماتد مورد مطالعه (۰/۳۰۰ بر روز) در مقایسه با شاهد (۰/۴۲۱ بر روز) می‌تواند مربوط به زادآوری پایین، بقای کمتر شته‌ها و طولانی بودن طول دوره نشو

شناخت فنولوژی گیاهان، استفاده از فرمولاسیون‌های مدرن و در نظر گرفتن شرایط آب و هوایی می‌باشد (Devi, 2020). با توجه به نتایج این تحقیق، استفاده از نماتد *S. carpocapsae* در برنامه‌های کنترل بیولوژیک و مدیریت تلفیقی شته معمولی گندم قابل توصیه می‌باشد. هم‌چنین توصیه می‌شود قبل از به کار گرفتن این نماتد در برنامه‌های کنترل شته مذکور، مطالعات سازگاری با دشمنان طبیعی این حشره نیز انجام پذیرد. دلیل ضروری بودن این مطالعات این است که ممکن است بعضی از نماتدها، انگل‌ها و شکارگرها را تحت تأثیر قرار دهند و موجب کاهش توانایی آنها برای انگلی و شکار کردن شته معمولی گندم شوند.

نتیجه‌گیری نهایی

در کل نتایج این تحقیق نشان داد که نماتد مورد مطالعه، اثرات کشندگی و زیرکشندگی بالایی روی شته معمولی گندم به عنوان مهم‌ترین آفت غلات دارد. بنابراین، نماتد *S. carpocapsae* پتانسیل بالایی برای کنترل جمعیت شته‌ها دارد و می‌تواند بعد از مطالعات تکمیلی در مورد تأثیر این نماتد در شرایط مزرعه‌ای، در برنامه‌های کنترل بیولوژیک این آفت مهم استفاده شود.

سپاس‌گزاری

این تحقیق در گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه محقق اردبیلی انجام شده است که بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه قدردانی می‌شود.

Beauveria integriceps Put. تیمار شده با قارچ بیمارگر *bassiana* (B.) v. در ماه‌های ۳۰ و ۳۵ درجه سلسیوس به طور معنی‌داری افزایش یافت و (Taleh et al. (2014). ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سلسیوس را به‌عنوان دماهای بهینه فعالیت آنزیم فنل‌اکسیداز سلول‌های خونی کرم قوزه پنبه *Helicoverpa armigera* گزارش کردند. طبق گزارش Cuthbertson et al. (2007) نماتد *S. feltiae* بصورت اختلاط با حشره‌کش‌های دایمتوات و ایمیداکلوپرید پتانسیل بالایی برای کنترل شته‌ها در گلخانه دارد. مطالعه Berkvens et al. (2013) نشان داد که چندین گونه از نماتدهای *Steinernema* روی شته مومی سیب بعلت وجود موم بی‌تاثیر هستند. در واقع موم این حشره مانع فعالیت انگلی نماتدها می‌شود. نتایج مطالعه Ebrahimi et al. (2018) نشان دادند که نماتد *S. feltiae* اثر بیماری‌زایی بالایی روی مرحله پیش شفیره کرم قوزه پنبه دارد. همچنین در این پژوهش مشخص شد که تزریق نماتد به پیش شفیره این حشره باعث افزایش فعالیت آنزیم فنل‌اکسیداز در فاصله هشت ساعت بعد از تزریق می‌شود. طبق بررسی Andalo et al. (2020) نماتدهای *Steinernema* و *Heterorhabditis amazonensis* *carpocapsae* ۸ تا ۱۰ روز بعد از تیمار تا ۸۰ درصد باعث مرگ و میر شفیره کرم قوزه پنبه در آزمایشگاه و گلخانه شدند. نماتدهای بیمارگر حشرات علاوه بر توانایی کنترل حشرات خاکزی، پتانسیل بالایی در کاربرد بصورت محلول پاشی و کنترل آفات اندام‌های هوایی گیاهان دارند و لازمه این کار

REFERENCES

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265-267.
- Abdollahi, M. (2009). A survey on entomopathogenic nematodes in Kohgiluyeh and Boyerahmad province. Final report of research project, Yasouj University, Yasouj, Iran. 116pp.
- Andalo, V., Faria, L. S., Carvalho, F. J., Assis, G. A., Santos, V., Mendes, S. M. & Gonring, A. H. R. (2020). Entomopathogenic nematodes for the control of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) pupae. *Arquivos do Instituto Biológico*, 88, 1-8. e007.

Azambuja, P., Garcia, E. S. & Ratcliffe, N. A. (1991). Aspects of classification of Hemiptera hemocytes from six triatomine species. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 86, 1-10.

Batalla-Carrera, L., Morton, A. & Garcia, D. P. (2010). Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tomato leafminer *Tuta absoluta* in laboratory and greenhouse conditions. *BioControl*, 55, 523-530.

Baur, M. E. & Kaya, H. K. (2001). Persistence of entomopathogenic nematodes. LSUAg Center. (Acquired December, 2008). Available: [http:// www.Lsuagcenter.com/s265/baur.htm](http://www.Lsuagcenter.com/s265/baur.htm).

Berkvens N., Van Vaerenbergh, J., Maes, M., Belien, T. & Viaene, N. (2013). Entomopathogenic nematodes fail to parasitize the woolly apple aphid *Eriosoma lanigerum* as their symbiotic bacteria are suppressed. *Journal of Applied Entomology*, 138, 644-655.

Blackman, R.L., & Eastop, V.F. (2006). *Aphids on the world's herbaceous plants and shrubs*. John Wiley.

Brivio, M. F., Pagani, M. & Restelli, S. (2002). Immune suppression of *Galleria mellonella* (Insecta, Lepidoptera) humoral defenses induced by *Steinernema feltiae* (Nematoda, Rhabditida): involvement of the parasite cuticle. *Experimental Parasitology*, 101, 149-156.

Caccia, M. G., Del Valle, E., Doucet, M. E. & Lax, P. (2014). Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa gelotopoeon* (Lepidoptera: Noctuidae) to the entomopathogenic nematode *Steinernema diaprepesi* (Rhabditida: Steinernematidae) under laboratory conditions. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 74(1), 123-126.

Cerenius, L. & Soderhall, K. (2004). The prophenoloxidase-activating system in invertebrates. *Immunological Reviews*, 198, 116-126.

Chi, H. (2020). TWOSEX-MSChart: a computer program for the age-stage, two-sex life table analysis. <https://140.120.197.173/ecology/prod02.htm>.

Chi, H. (1988). Life-table analysis incorporating both sexes and variable development rates among individuals. *Environmental Entomology*, 17, 26-34.

Chi, H. & Liu, H. (1985). Two new methods for the study of insect population ecology. *Bulletin of the Institute of Zoology, Academia Sinica*, 24, 225-240.

Chi, H. & Yang, T. (2003). Two-sex life table and predation rate of *Propylaea japonica* Thunberg (Coleoptera: Coccinellidae) fed on *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). *Environmental Entomology*, 32, 327-333.

Cuthbertson, A. G. S., Mathers, J. J., Northing, P. H., Luo, W. & Walters, K. F. A. (2007). Establishing effect of commonly used insecticides for aphid control on the infectivity of the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae* using a streamlined screening method. *Estudos de Biologia*, 29(66), 17-21.

Desneux, N., Denoyelle, R. & Kaiser, L. (2006). A multi- step bioassay to assess the effect of the deltamethrin on the parasitic wasps, *Aphidiuservi*. *Chemosphere*. 62: 1697-1706.

- Devi G. 2020. Entomopathogenic nematode against foliar pests. *International Journal of Agriculture, Environment and BioResearch*, 5(03), 252-275.
- Ebrahimi, L., Niknam, G. & Lewis, E. E. (2011). Lethal and sublethal effects of Iranian isolates of *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora* on the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *BioControl*, 56, 781-788.
- Ebrahimi L., Shiri, Sh. & Dunphy, G. B. (2018). Effect of entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*, on survival and plasma phenoloxidase activity of *Helicoverpa armigera* (Hb) (Lepidoptera: Noctuidae) in laboratory conditions. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28, 12.
- Fattah-Alhoseini, S., Allahyari, H., Azemayesh-Fard, P., & Heydari, S. (2011). Effects of host plant on development and reproduction of green wheat Aphid *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hem.: Aphididae). *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 4(2), 233-242.
- Ferreira, T. & Malan, A. P. (2014). *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*, bacterial symbionts of the entomopathogenic nematodes *Steinernema* and *Heterorhabditis* and their in vitro liquid mass culture: a review. *African Entomology*, 22,1-14.
- Filgueiras, C. C. & Willett, D. S. (2021). Non-lethal effects of entomopathogenic nematode infection. *scientific reports*, 11, 17090.
- Hein, G. L., Kalisch, J. & Thomas, A. J. (1996). Identification and general discussion of the cereal aphid species most commonly found in Nebraska small grain, corn, sorghum and millet. University of Nebraska, Lincoln/NE.
- Kavallieratos, N. G., Arthanassiou, C. G., Michalaki, M. P., Batta, Y. A., Rigatos H. A., & et al. (2006). Effect of combined use of *Metarhizium anisopliae* (Metschinkoff) Sorokin and diatomaceous earth for the control of three stored product beetle species. *Crop Protection*, 25, 1087-1094.
- Khodabandeh, N. (2000). *The Cultivation of Crops*. Tehran University Press.
- Lalitha, K., Venkatesan, S., Balamuralikrishnan, B. & Subramanian, M. (2022). Isolation and biocontrol efficacy of entomopathogenic nematodes *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema monticolum* and *Rhabditis blumi* on lepidopteran pest *Spodoptera litura*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 39, 102291.
- Leonard, C., Kenneth, S. & Ratcliffe, N. A. (1985). Studies on prophenoloxidase and protease activity of *Blaberus craniifer* haemocytes. *Insect Biochemistry*, 15, 803-810.
- Michels, G. J. & Behle, R. W. (1989). Influence of temperature on reproduction, development and intrinsic rate of increase of Russian wheat aphid, greenbug, and bird cherry-oat aphid (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, 82, 439-444.
- Papanikolaou, N. E., Kalaitzaki, A., Karamaouna, F., Michaelakis, A., Papadimitriou, V., Dourtoglou, V. & Papachristos, D. P. (2017). Nano-formulation enhances insecticidal activity of natural pyrethrins against *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) and retains their harmless effect to non-target predators. *Environmental Science and Pollution Research*. 1-7. 5(11), 10243-10249.

Papp, M., & Mesterhazy, A. (1993). Resistance to bird cherry oat-aphid *Rhopalosiphum padi* (L.) in winter wheat varieties. *Euphytica*, 67(1), 49-57.

Poinar, G. O. J. (1990). Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae, p. 23–61. In: Gaugler, R. & Kaya, H. K. (eds) Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press, Boca Raton, p 365.

Sevgi, T. & Galip, K. (2016). Determination of the efficacy of some entomopathogenic nematodes against *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) under laboratory conditions. *Turkish Journal of Entomology*, 40(2), 175-183.

Souza, L. M., Moino Junior, A., Mertz, N. R., Silva, M.A.T., Soarez, F. M. & Bonete, F. R. Z. (2012). Nematoides entomopatogênicos e compatibilidade com imidaclopride visando ao controle de *Spodoptera frugiperda* em viveiro florestal. *Nematologia Brasileira, Piracicaba*, 36(1-2), 32-41.

SPSS Inc. 2007. SPSS base 16.0 user's guide. SPSS Incorporation, Chicago.

Stark, J. D. & Banks, J. E. (2003). Population-level effects of pesticides and other toxicant on arthropods. *Annals of Review Entomology*, 48,505-519.

Stark, J. D., Sugayama, R. I., & Kovaleski, A. (2007). Why demographic and modeling approaches should be adopted for estimating the effects of pesticides on biocontrol agents. *Biocontrol*, 52, 365-374.

Taleh, M., Saadati, M., Farshbaf, R. & Khakvar, R. (2014). Partial characterization of phenoloxidas enzyme in the hemocytes of *Helicoverpa armigera* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of King Saud University Science*, 26, 285-289.

Vakhide, N. & Safavi, S. A. (2014). Lethal and sublethal effects of direct exposure to acetamiprid on reproduction and survival of the greenbug, *Schizaphis graminum* (Hemiptera: Aphididae). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 47(3), 339-348.

Wilde, G. E., Shufran, R. A., Kindler, S. D., Brooks, H. L., & Sloderbeck, P. E. (2001). Distribution and abundance of insecticide resistant greenbugs (Homoptera: Aphididae) and validation of a bioassay to assess resistance. *Journal of Economic Entomology*, 94(2), 547-551.

Yan, X., Shahid Arain, M., Lin, Y., Gu, X., Zhang, L., Li, J. & Han, R. (2020). Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 113, 64-72.

Zibae, A., Bandani, A. R. & Malagoli, D. (2011). Purification and characterization of phenoloxidase from the hemocytes of *Eurygaster integriceps*. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B*, 158, 117-123.





Effects of Entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* against *Schizaphis graminum* (Hemiptera: Aphididae)

H. Rafiee-Dastjerdi ^{1*}, M. Taleh ², R. Ahmadpoor ³, L. Ebrahimi ⁴

1. ***Corresponding Author:** Professor of Agricultural Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran (Hooshangrafiee@gmail.com)
2. Ph.D. Graduate of Agricultural Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
3. Ph.D. student of Agricultural Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
4. Assistant Professor of Agricultural Entomology, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran

Received: 18 February 2023

Accepted: 27 June 2023

Abstract

Background and Objectives

The wheat aphid, *Schizaphis graminum*, is deemed one of the most significant grain pests, causing substantial damage to the country's wheat farms. Consequently, various biological, agronomic, and chemical methods are used to control wheat aphids, where chemical spraying is the most common method. The increasing use of chemical insecticides has resulted in several issues, including the emergence of insect resistance to pesticides, adverse effects on the environment, beneficial organisms, and humans, and the development of insecticide-resistant pests. In this regard, insect pathogens like nematodes may be preferable to chemical insecticides. This study aimed to evaluate the lethal and sublethal effects of entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* on the life history parameters and phenoloxidase enzyme activity of *S. graminum* by L-DOPA (L-dihydroxyphenylalanine) substrate. This enzyme activity is essential to the insect's innate immune response.

Materials and Methods

S. graminum was cultivated on a wheat host in a growth chamber maintained at 25 ± 2 °C, $60 \pm 5\%$ relative humidity (RH), and 16:8 light/day (L:D) hour photoperiods. Daily observations and recordings were used to track the development period and survival rate. In addition, for breeding the wheat aphid *S. graminum*, populations from the plant protection department's laboratory were utilized and transferred to wheat plants in a growth chamber.

Aphids infested the plants once they had reached their optimal size. Age-stage and two-sex life table analyses were used to analyze the raw data. TWOSEX-MSChart was used to evaluate the raw data based on the age stage and two-sex life table. In addition, blood cell phenol oxidase and hemolymph testing were performed. Samples of the enzyme were preincubated with phosphate

buffer at 30 °C for 30 min, then 50 µl of 10 mM L dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) substrate was added and incubated at 25 and 30 °C for 5 min. The phenol oxidase activity was measured using a 492 nm enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) reader device.

Results

The bioassays indicated that the lethal concentration (LC₅₀) of nematode treatment against the adults of *S. graminum* was 136 larvae/insect. The current study revealed that *S. carpocapsae* had a higher adult mortality rate than *S. graminum*. Results of the sublethal effects experiment showed that the pest's fecundity in *S. carpocapsae* treatment (19.07 offspring/female) was lower than the control (39.16 offspring/female). Furthermore, the studied nematode significantly reduced the population growth parameters of *S. graminum*. The intrinsic rate of increase for treated and control nematodes was 0.300 and 0.421, respectively, per day. Based on the results, the nematode increased the phenol oxidase enzyme's activity at 25 and 30 °C relative to the control.

Discussion

Considering that chemical insecticides are accompanied by problems such as resistance and residual toxins in agricultural products, it is preferable to use entomopathogenic nematodes, which have a higher immunity to environment and natural enemies. The lethal concentration (LC₅₀) study of the examined nematode showed that the nematode *S. carpocapsae* exhibited good disease-causing power on the adult female aphids of *S. graminum*.

The investigation into the effect of experimental nematode sublethal concentration on the growth parameters of the wheat aphid population revealed that in the nematode *S. carpocapsae*, the characteristics of the aphid population, particularly the intrinsic rate of population increase parameter value, decreased significantly. Sublethal concentrations of the studied nematode can slow or even stop the population growth of wheat aphids and significantly impact aphid fertility, survival, and life expectancy.

In this study, the phenol oxidase enzyme's activity significantly differed between treated and untreated aphids. It appears that the insect uses phenol oxidase enzymes to counteract the nematode's effect, and this enzyme plays a role in the wheat aphid's body when dealing with *S. carpocapsae*. The overall results revealed that *S. carpocapsae* exhibited high lethal and sublethal effects on *S. graminum*. After additional field studies, it can be recommended for use in biological control and an integrated pest management (IPM) program for this pest.

Keywords: bioassay, life history, nematode, phenol oxidase, Wheat aphid

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

Citation: Rafiee-Dastjerdi, H., Taleh, M., Ahmadpoor, R. & Ebrahimi, L. (2023). Effects of Entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* against *Schizaphis graminum* (Hemiptera: Aphididae). *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 46(2), 19-30. <https://doi.org/10.22055/ppr.2023.43068.1684>.