



Isolating entomopathogenic nematodes from overwintering sites of Sunn pest, *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) and their pathogenicity power against the pest

Laleh Ebrahimi^{1✉}, Maryam Forouzan², Shahla Bagheri Matin³,
 Mohammad Nateq Golestan⁴, Mir Reza Jamshidi⁵, Alireza Haghshenas⁶,
 Shahram Shahrokhi Khaneghah⁷

1. Corresponding Author, Biological Control Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. E-mail: ebrahimi.laleh@gmail.com
2. Plant Protection Research Department, West Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Urmia, Iran. E-mail: maryam_fourouzan@yahoo.com
3. Plant Protection Research Department, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Kermanshah, Iran. E-mail: bagherishahla@gmail.com
4. Plant Protection Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran. E-mail: nateq1215@yahoo.com
5. Plant Protection Research Department, Lorestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Khorram Abad, Iran. E-mail: mirezajamshidi@yahoo.com
6. Plant Protection Research Department, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan, Iran. E-mail: ar_haghshenas22@yahoo.com
7. Sunn Pest Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. E-mail: Shahrokhi1349@gmail.com

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Article	Entomopathogenic nematodes are valuable agents of biological pest control and obligate parasites of insects and some other arthropods. The Sunn pest (<i>Eurygaster integriceps</i>) is one of the most important economic pests of wheat and barley. Based on the biology and overwintering behavior of the pest, natural enemies may play an important role in reducing the population level in the overwintering sites. In this study, the presence of insect pathogenic nematodes in the overwintering sites of Sunn pest in six provinces of the country was investigated for two years (2022-2023). As a result, eight isolates of the species <i>Steinernema</i> sp. were isolated. Based on morphological and morphometric data, all isolates were identified as <i>Steinernema feltiae</i> . Bioassays against overwintering adults of Sunn pest for one nematode isolate was performed in ventilated Petri dishes filled with a thin layer of moist autoclaved sandy soil at a concentration of 100 to 600 infective juveniles per insect. The control received distilled water. The experiment was repeated three times. All dead insects were dissected to ensure the presence of nematodes inside the cadavers. The LC ₅₀ value of the native <i>S. feltiae</i> isolate against <i>E. integriceps</i> was calculated as 461 infective juveniles per insect, respectively. Nematode reproduction was observed in the insect cadavers. Successful recovery of nematodes from infected insects is a valuable feature for biological control agents. However, further research is needed to understand the possible role of the entomopathogenic nematodes in <i>E. integriceps</i> control. Moreover, the isolates could be assessed to control the other pests.
Article history: Received: 7 April 2025 Revised: 18 June 2025 Accepted: 20 June 2025 Published online: Spring and Summer 2024	
Keywords: native isolate, <i>Steinernema feltiae</i> , recycling, biological control, LC ₅₀ .	

Cite this article: Ebrahimi, L., Forouzan, M., Bagheri Matin, Sh., Nateq Golestan, M., Jamshidi, M. R., Haghshenas, A. R. & Shahrokhi Khaneghah, Sh. (2024). Isolating entomopathogenic nematodes from overwintering sites of Sunn pest, *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) and their pathogenicity power against the pest. *Biological Control of Pests and Plant Diseases*, 13 (1), 33-45. DOI: <https://doi.org/10.22059/jbioc.2025.392981.348>



Extended Abstract

Introduction

Entomopathogenic nematodes (EPNs) are valuable agents of pest biological control. These nematodes are obligate parasites of insects and some other arthropods that, with the help of their symbiotic bacteria, cause the death of their hosts within 48 hours. The Sunn pest, *Eurygaster integriceps* is one of the most economically important insect pest of wheat and barley. Relying on chemical pesticides in controlling plant pests, in addition to issues related to the occurrence of resistance in pests and increasing the dosage of chemicals and their economic effects, has irreparable effects on the environment and non-target organisms. Therefore, it is necessary to find alternatives to control this pest. Based on the general biology and overwintering behavior of the pest, natural enemies may have an important role in decreasing the population's level in overwintering sites. The aim of this research was to isolate entomopathogenic nematodes from the soil of the overwintering sites of *E. integriceps* and evaluate their efficacy against the adult pest.

Method

In a survey of EPNs in the overwintering sites of sunn pests in Tehran, Lorestan, Kermanshah, Isfahan, West Azarbaijan and Razavi Khorasan provinces for two years (2021-2022), EPNs were isolated using the *Galleria*-baiting method. Male and female nematodes were collected from five days-infected *Galleria* cadavers dissected in distilled water. Infective juveniles (IJs) of the nematodes were collected after emergence from *Galleria* cadavers in White traps. Based on the results of preliminary tests, Lorestan1 isolate was used for the main assay experiments against overwintering adult *E. integriceps*. Briefly, the experiments were conducted in Petri dishes (nine diameters) which were filled with a fine layer of autoclaved moist sandy soil. Based on the preliminary bioassay results a range of 100-600 IJs per insect was used. IJs were added in certain concentrations in one ml of water to the surface of the soil, separately. Finally, 15 adult insects and 20 wheat grain were placed on the soil. Control received one ml of distilled water without nematodes. The dead and alive insects were counted after four days. The experiment was replicated three times. All dead insects were collected and dissected to ensure presence of nematodes inside the cadavers.

Results

Sampling from the regions and trapping the sampled soils with *G. mellonella* larvae led to the isolation of eight EPN isolates. The percentage of positive samples was calculated as 2.2 %. According to the morphological and morphometric measurements, all the isolates identified as *Steinernema feltiae* with some variations especially in body length. Based on the bioassay results, the values of LC_{10} , LC_{50} and LC_{90} of Lorestan1 *S. feltiae* isolate were calculated as 98.13, 461.14 and 2167 IJ insect⁻¹, respectively. Reproduction of the EPNs within the dissected cadavers was observed. In general, temperature, soil texture, soil pH, altitude above sea level, and annual rainfall are among the characteristics that affect the occurrence of the EPNs, although there are other factors as well which could be involved. The percentage of positive samples in soil sampling around the world is reported between 4 and 30% (Abd-Elgawad, 2021; Yuksel & Canhilal, 2019). According to the fact that in this study, soil sampling was carried out from the overwintering sites (altitudes above 1500 meters above sea level) and on the other hand, these samplings were done during the winter or early spring, the range of suitable conditions for capturing the nematodes was much limited. Few studies have been investigated the effect of these nematodes against *E. integriceps* in the world. Canhilal et al. (2007) reported LC_{50} values for *H. bacteriophora*, *S. carpocapsae* and *S. riobravae* as 107.1, 66.6 and 65.3 IJ insect⁻¹, respectively. While this amount for the Iranian *S. feltiae* isolate was equal to 461.4 nematode infecting larvae per insect.

Conclusions

In overall, eight entomopathogenic nematode isolates were isolated and identified from 360 soil samples of Sunn pest overwintering sites in six provinces of the country from an altitude of 1790 to 2250 m above sea level. All isolates belonged to the species *S. feltiae*. The efficacy of *S. feltiae* Lorestan1 against Sunn pest adults was evaluated and the LC_{10} , LC_{50} and LC_{90} were calculated. Successful recycling the nematode through the cadavers is a worth attribute for biocontrol agents, however, more researches are needed for understanding the probable role of EPNs in control of *E. integriceps*. Moreover, the isolates could be assessed to control the other pests.



نشریه کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی، دوره ۱۳، شماره ۱

شماره اکترونیکی: ۲۴۲۳-۸۰۹۰

انتشارات دانشگاه تهران

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

جداسازی نماتدهای بیمارگر حشرات از محل‌های زمستان‌گذرانی سن گندم *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) و ارزیابی شدت بیمارگری آن‌ها روی میزبان

لاله ابراهیمی^۱ | مریم فروزان^۲ | شهلا باقری متین^۳ | محمد ناطق گلستان^۴ | میررضا جمشیدی^۵ | علیرضا حق‌شناس^۶ |
شهرام شاه‌رخی خانقاه^۷

۱. نویسنده مسئول، بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، تهران، ایران. رایانامه: Ebrahimi.laleh@gmail.com
۲. بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات، آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، ارومیه، ایران. رایانامه: maryam_fourouzan@yahoo.com
۳. بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات، آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: bagherishahla@gmail.com
۴. بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات، آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، مشهد، ایران. رایانامه: nateq1215@yahoo.com
۵. بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات، آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، خرم‌آباد، ایران. رایانامه: mirezajamshidi@yahoo.com
۶. بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات، آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، اصفهان، ایران. رایانامه: ar_haghshenas22@yahoo.com
۷. بخش تحقیقات سن گندم، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، تهران، ایران. رایانامه: Shahrokhi1349@gmail.com

چکیده	اطلاعات مقاله
نماتدهای بیمارگر حشرات از عوامل ارزشمند کنترل زیستی آفات و انگل‌های اجباری حشرات و برخی بندپایان دیگر هستند. سن گندم (<i>Eurygaster integriceps</i>) یکی از مهم‌ترین آفات اقتصادی گندم و جو است. بر اساس زیست‌شناسی و رفتار زمستان‌گذرانی آفت، دشمنان طبیعی ممکن است نقش مهمی در کاهش سطح جمعیت در مکان‌های زمستان‌گذرانی داشته باشند. در این مطالعه، بررسی حضور نماتدهای بیمارگر حشرات در محل‌های زمستان‌گذرانی سن گندم در شش استان کشور به مدت دو سال (۱۴۰۰ تا ۱۴۰۲) انجام شد. در نتیجه، هشت جدایه از گونه <i>Steinernema</i> sp. جداسازی شد. بر اساس داده‌های ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی، تمامی جدایه‌ها به عنوان <i>Steinernema feltiae</i> شناسایی شدند. آزمون اثر روی حشرات کامل سن گندم زمستان‌گذران برای یک جدایه در ظروف پتری دارای تهویه که با یک لایه نازک خاک شنی مرطوب اتوکلاو شده، پر شده بود، با غلظتی از ۱۰۰ تا ۶۰۰ لارو آلوده‌کننده نماتد، به ازای هر حشره انجام شد. نمونه شاهد، آب مقطر بدون نماتد دریافت کرد. آزمایش سه بار تکرار شد. تمام حشرات مرده، جمع‌آوری و تشریح شدند تا از حضور نماتدها در داخل لاشه سن، اطمینان حاصل شود. بر اساس نتایج، مقدار LC ₅₀ جدایه بومی <i>S. feltiae</i> علیه سن گندم ۴۶۱ لارو آلوده‌کننده نماتد به ازای هر حشره محاسبه گردید. تولیدمثل نماتد در لاشه حشره، مشاهده شد. بازیافت موفقیت‌آمیز نماتد از لاشه حشره، یک ویژگی ارزشمند برای عوامل کنترل زیستی است. با این حال، تحقیقات بیشتری برای درک نقش احتمالی نماتدهای بیمارگر حشرات در کنترل سن گندم، مورد نیاز است. همچنین جدایه‌ها می‌توانند برای کنترل دیگر آفات، مورد بررسی قرار گیرند.	نوع مقاله: مقاله پژوهشی تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۱۸ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۳/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۳۰ تاریخ انتشار: بهار و تابستان ۱۴۰۳ کلیدواژه‌ها: جدایه بومی، <i>Steinernema feltiae</i>، بازچرخش، کنترل زیستی، غلظت‌کشنده ۵۰ درصد.

استناد: ابراهیمی، لاله؛ فروزان، مریم؛ باقری متین، شهلا؛ ناطق گلستان، محمد؛ جمشیدی، میررضا؛ حق‌شناس، علیرضا و شاه‌رخی خانقاه، شهرام (۱۴۰۳). جداسازی نماتدهای بیمارگر حشرات از محل‌های زمستان‌گذرانی سن گندم (*Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) و ارزیابی شدت بیمارگری آن‌ها روی میزبان. نشریه کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی، ۱۳ (۱)، ۳۳-۴۵. DOI: <https://doi.org/10.22059/jbioc.2025.392981.348>



© نویسندگان

DOI: <https://doi.org/10.22059/jbioc.2025.392981.348>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

نماتدهای بیمارگر حشرات از دو خانواده *Steinernematidae* و *Heterorhabditidae*، انگل اجباری حشرات بوده و با کمک باکتری همزیست خود، منجر به مرگ حشرات میزبان می‌گردند (Patil et al., 2022). یافتن میزبان‌ها و آلوده کردن آن‌ها در هر دو خانواده توسط لارو سن سوم آلوده‌کننده (IJ) که از نظر ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی برای بقاء در محیط خارج از بدن حشره میزبان سازگار شده‌است، صورت می‌پذیرد (Koppenhöfer et al., 2020). از ویژگی‌های این نماتدها به عنوان عوامل کنترل زیستی ایده‌آل، می‌توان به توانایی جستجوی فعال میزبان توسط این نماتدها، دامنه میزبانی وسیع، مرگ نسبتاً سریع میزبان پس از ورود نماتد به داخل بدن میزبان، عدم آسیب به انسان، محیط زیست و سایر موجودات غیر هدف، احتمال استقرار در محیط بعد از استفاده، امکان چرخش دوباره در محیط، امکان تولید انبوه *in vivo* و *in vitro* کاربرد آسان، سازگاری با اغلب مواد شیمیایی نهادهای کشاورزی (به ویژه آفت‌کش‌های غیرفسفره، کودها و محلول‌های مغذی گیاهی) امکان پخش و کاربرد با وسایل رایج کاربرد نهادهای کشاورزی، استفاده به صورت پیشگیرانه و درمانی اشاره نمود (Adams & Nguyen, 2018; Lacey & Georgis, 2012; Koppenhöfer et al., 2020; Wu et al., 2018). هرچند استفاده از این نماتدها نیز همانند سایر عوامل کنترل زیستی با محدودیت‌هایی همراه می‌باشد که مهمترین این محدودیت‌ها شامل حساسیت آنها به خشک شدن (نبود رطوبت در محیط)، دمای بالا و پایین، و نور فرابنفش است. گرچه جمعیت‌های طبیعی نماتدهای بیمارگر حشرات با زیستگاه بومی و میزبان‌های خود، در اثر انتخاب طبیعی، به خوبی سازگار شده‌اند، صفات مفید دیگری ممکن است در ژنوم آن‌ها ایجاد گردد که آن‌ها را حتی علیه سایر میزبان‌ها در محیط‌های مختلف کارآمدتر سازد (Stock, 2005).

سن گندم (*Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) یکی از مهمترین آفات گندم و جو در آسیای غربی و مرکزی، شمال آفریقا و همچنین اروپای شرقی است و این آفت سالانه حدود ۱۵ میلیون هکتار از مزارع غلات جهان را آلوده می‌کند (Canhilal et al., 2007). تکیه بر سموم شیمیایی در کنترل آفات گیاهی علاوه بر مسائل مربوط به بروز مقاومت در آفات و افزایش دوز مصرف مواد شیمیایی و اثرات اقتصادی آن، دارای اثرات غیر قابل جبران روی محیط زیست و موجودات غیر هدف می‌باشد. بنابراین یافتن جایگزین‌هایی برای کنترل این آفت و دیگر آفات، ضروری است.

نماتدهای بیمارگر حشرات آفات متعددی از راسته‌های مختلف حشرات را آلوده می‌کنند. بررسی‌های کمی، روی تاثیر این نماتدها علیه سن گندم، در جهان انجام شده است. در یک بررسی (Canhilal et al., ۲۰۰۷) با مطالعه پنج جدایه نماتد بیمارگر حشرات علیه سن گندم، کارایی بیشتر گونه‌های *Steinernema* Travassos, 1927 در مقایسه با گونه‌های *Heterorhabditis* Poinar, 1976 را گزارش نمودند.

یکی از جنبه‌های مهم در موفقیت نماتدهای بیمارگر حشرات در کنترل آفات، سازگاری اکولوژیکی نماتد با میزبان هدف است. بنابراین تلاش برای جداسازی نماتدها از میزبان‌ها یا زیستگاه‌های خاصی که تا کنون کمتر مورد توجه قرار گرفته است، احتمال یافتن جدایه یا گونه‌های اختصاصی علیه میزبان خاص را افزایش می‌دهد. به ویژه این که سن گندم یک آفت تقریباً محدود به شمال آفریقا، غرب آسیا، آسیای مرکزی و اروپای شرقی بوده است (El-Bouhssini et al., 1998; Critchley, 2002).

بر اساس منابع موجود تا کنون مطالعه‌ای روی نماتدهای بیمارگر حشرات، در محل‌های زمستان‌گذرانی سن گندم (ارتفاع بالای ۱۰۰۰ متر از سطح دریا) در دنیا انجام نشده است. هدف این تحقیق، جداسازی نماتدهای بیمارگر حشرات از خاک محل زمستان‌گذرانی سن گندم و ارزیابی اولیه کارایی آنها علیه سن گندم بود. همچنین جمع‌آوری و شناسایی این نماتدها به عنوان پتانسیل کنترل بیولوژیک، به منظور بررسی بعدی اثر آنها روی دیگر آفات، نیز از اهداف این تحقیق بوده است.

روش‌شناسی پژوهش

جداسازی، نگهداری و شناسایی نمادهای بیماری‌زای حشرات

به منظور جداسازی نمادهای احتمالی موجود، از خاک‌های محل‌های زمستان‌گذرانی سن گندم در مناطق مختلف کشور، نمونه‌برداری از عمق صفر تا ۱۵ سانتی‌متری خاک انجام شد. به منظور نمونه‌برداری از محل‌های زمستان‌گذرانی سن گندم در اقلیم‌های مختلف کشور، استان‌های تهران، آذربایجان غربی، خراسان رضوی، لرستان، اصفهان و کرمانشاه به عنوان مناطق مناطق نمونه‌برداری انتخاب شدند. خاک‌های نمونه‌برداری شده به آزمایشگاه انتقال یافته و به صورت جداگانه هر نمونه خاک، با ثبت مشخصات جغرافیایی محل نمونه‌برداری، با لاروهای سن آخر شب‌پره موم‌خوار بزرگ *Galleria mellonella* Lineaus, 1758 به روش Woodring & Kaya (1988) طعمه‌گذاری شدند. هر ۲۴ ساعت یک‌بار به مدت دو تا ۱۰ روز برای اطمینان از آلوده بودن خاک به نمادهای بیمارگر حشرات، لاروهای *G. mellonella* داخل خاک مورد بازبینی قرار گرفتند و با مشاهده آلودگی و مرگ لاروها، جداسازی نماد از لاروهای حشره، با کمک تله وایت (White, 1927) انجام شد. لاروهای نماد از تله وایت جمع‌آوری و تثبیت شدند. کشتن و تثبیت نمادهای جداسازی شده و تهیه اسلایدهای میکروسکوپی دائمی انجام شد. به منظور شناسایی گونه نمادهای بیمارگر حشرات جداسازی شده، قسمت‌های مختلف بدن لاروهای آلوده-کننده و افراد نر به وسیله میکروسکوپ نوری مجهز به لوله ترسیم، اندازه‌گیری و ثبت گردید. موارد اندازه‌گیری شده در لاروهای آلوده‌کننده شامل طول بدن، عرض بدن، فاصله سر تا منفذ ترشچی، فاصله سر تا حلقه عصبی، طول مری، طول دم، و عرض بدن در ناحیه مخرج بود. نسبت‌های مهم و مورد نیاز در کلید شناسایی، شامل نسبت طول بدن به عرض بدن، نسبت طول بدن به طول مری، نسبت طول بدن به طول دم، درصد نسبت فاصله سر تا منفذ ترشچی بر طول مری، درصد فاصله سر تا منفذ ترشچی بر طول دم نیز محاسبه گردید. موارد اندازه‌گیری شده در افراد نر شامل فاصله سر تا منفذ ترشچی، فاصله سر تا حلقه عصبی، طول اسپیکول، طول گوبرناکلوم، عرض بدن در ناحیه مخرج، نسبت طول اسپیکول بر عرض بدن در ناحیه مخرج و نسبت طول اسپیکول بر طول گوبرناکلوم بود. داده‌های ریخت‌سنجی و ریخت‌شناختی جدایه‌ها ثبت شد و شناسایی گونه براساس کلیدهای معتبر از جمله Hominick et al. (1997) و Nguyen & Adams (2002) انجام گرفت. تکثیر نمادها به روش Woodring & Kaya (1988) انجام شد. برای کشت نماد بیمارگر حشرات، لاروهای *G. mellonella* در داخل ظروف پتری مفروش با کاغذ صافی با لارو آلوده‌کننده نماد، تلقیح گردید. بعد از ۴۸ ساعت با مشاهده مرگ لاروهای حشره، جداسازی نماد از لاروهای حشره، با کمک تله وایت انجام شد. لاروهای نماد از تله وایت جمع‌آوری شده و در فلاسک‌های مخصوص کشت بافت تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شدند.

آزمون اثر بیمارگری جدایه منتخب علیه افراد بالغ سن گندم

افراد بالغ زمستان‌گذران قبل از ریزش از مناطق زمستان‌گذرانی جمع‌آوری شدند. جمع‌آوری حشرات از اواسط دی‌ماه (برای مناطق با میانگین دمای بالاتر، مانند استان تهران) تا اوایل فروردین ماه (برای مناطق با دمای میانگین پایین‌تر، مانند آذربایجان غربی) انجام شد. از افراد بالغ زمستان‌گذران *E. integriceps* که حداقل به مدت یک هفته در شرایط آزمایشگاهی نگهداری می‌شدند. در آزمون‌های بررسی شدت بیمارگری استفاده شد. آزمایش‌ها در ظروف پتری دارای تهویه (قطر نه سانتی‌متر) انجام شد. کف ظروف پتری با یک لایه ریز از خاک شنی مرطوب اتوکلاو شده (۸۵٪ ماسه، ۱۰٪ سیلت و ۵٪ خاک رس و ۱۰٪ رطوبت w/w) پوشانده شد. براساس نتایج پیش‌آزمایش، در نهایت چهار غلظت مختلف از نماد که دامنه تلفات ۲۰ تا ۸۰ درصد را ایجاد نمودند (در دامنه غلظت ۱۰۰ تا ۶۰۰ لارو آلوده‌کننده نماد به ازای هر حشره) و یک جدایه به صورت تصادفی انتخاب شد. غلظت‌های مورد استفاده ۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰ و ۶۰۰ لارو نماد به ازای هر سن بالغ بود. لاروهای آلوده‌کننده نماد در غلظت‌های معین در یک میلی‌لیتر آب به طور جداگانه به سطح خاک اضافه شدند. در نهایت ۱۵ حشره بالغ (ترکیبی از افراد نر و ماده) و ۲۰ دانه گندم خیس‌خورده بر روی خاک قرار گرفت. نمونه شاهد، یک میلی‌لیتر آب مقطر بدون نماد دریافت کرد.

آزمایش‌های اصلی آزمون اثر براساس دامنه غلظت تعیین شده انجام شد. در تمام آزمایش‌ها حشرات مرده و یا زنده پس از چهار روز شمارش شدند. آزمایش سه بار تکرار شد و در مجموع ۴۵ حشره در هر غلظت در آزمون اثر مورد استفاده قرار گرفت. تمام حشرات مرده جمع آوری شدند و چهار حشره مرده در هر تکرار روی تله وایت قرار گرفت. تمام حشرات مرده برای اطمینان از حضور نماتدها در داخل لاشه آن‌ها، تشریح شدند.

تجزیه آماری

داده‌های ریخت‌سنجی جدایه‌های نماتدهای بیمارگر حشرات تعیین و میانگین و خطای استاندارد محاسبه شد. برای آزمون اثر، تجزیه پروبیت انجام شد و غلظت‌های کشنده (Lethal Concentration) ۱۰ درصد (LC_{10}) و ۵۰ درصد (LC_{50}) محاسبه گردید. تجزیه پروبیت با استفاده از نرم‌افزار SAS (۲۰۰۴) و رسم نمودارها و محاسبه میانگین و SE خطای استاندارد با نرم‌افزار Excel انجام شد.

یافته‌های پژوهش

جداسازی و شناسایی نماتدهای بیمارگر حشرات

نمونه‌برداری از مکان‌های مختلف منطقه‌های ذکر شده در بالا و تله‌گذاری خاک‌های نمونه برداری شده با لارو شب‌پره موم‌خوار، منتهی به جداسازی و خالص‌سازی هشت جدایه از نماتدهای بیمارگر حشرات گردید. درصد نمونه‌های مثبت حاوی نماتد، ۲/۲ محاسبه گردید. براساس داده‌های ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی لاروهای آلوده‌کننده، و افراد نر، همچنین با استفاده از کلیدهای شناسایی نماتدهای بیمارگر حشرات (Hominick et al., 1997; Adams & Nguyen, 2002; Nguyen & Hunt, 2007)، گونه هر هشت جدایه *Steinernema feltiae* Filipjev, 1934 تشخیص داده شد. اطلاعات مربوط به نمونه‌های مثبت خاک که نماتدها از آنها جداسازی شدند در جدول ۱ خلاصه شده است. داده‌های ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی لاروهای آلوده‌کننده، و افراد نر به ترتیب در جدول (۲) و جدول (۳) و همچنین شکل (۱) خلاصه شده است.

جدول ۱. مشخصات نمونه‌های مثبت خاک از استان‌های مختلف ایران در سال‌های ۱۴۰۰-۱۴۰۲

جدایه	پوشش گیاهی غالب	استان	شهر	موقعیت جغرافیایی	ارتفاع*
<i>Steinernema feltiae</i>	گون	آذربایجان غربی	بوکان	36°25'; 59°29'	2146
<i>Steinernema feltiae</i>	گل گندم	اصفهان	کوه‌پنجه-جوزدان	59°29'; 36°25'	2146
<i>Steinernema feltiae</i>	گراس‌های چند ساله- گون	خراسان رضوی	کانون برفریز-نیشابور	47°29'; 34°21'	1800
<i>Steinernema feltiae</i>	گراس‌های چند ساله	خراسان رضوی	نی‌بید-ترت جام و باخرز	52°72'; 35°97'	2250
<i>Steinernema feltiae</i>	بلوط	کرمانشاه	درود-فرامان	44°33'; 48°15'	1793
<i>Steinernema feltiae</i>	بلوط	لرستان	دورود	44°33'; 48°15'	1790
<i>Steinernema feltiae</i>	بلوط	لرستان	دورود	44°33'; 48°15'	1793
<i>Steinernema feltiae</i>	بلوط	لرستان	دورود	50°24'; 41°46'	1833

* ارتفاع از سطح دریا بر حسب متر

جدول ۲. داده‌های ریخت‌سنجی ۲۰ لارو آلوده‌کننده از هشت جدایه نماد بیمارگر حشرات و مقایسه آن با گونه تشخیص داده شده بر حسب میکرومتر

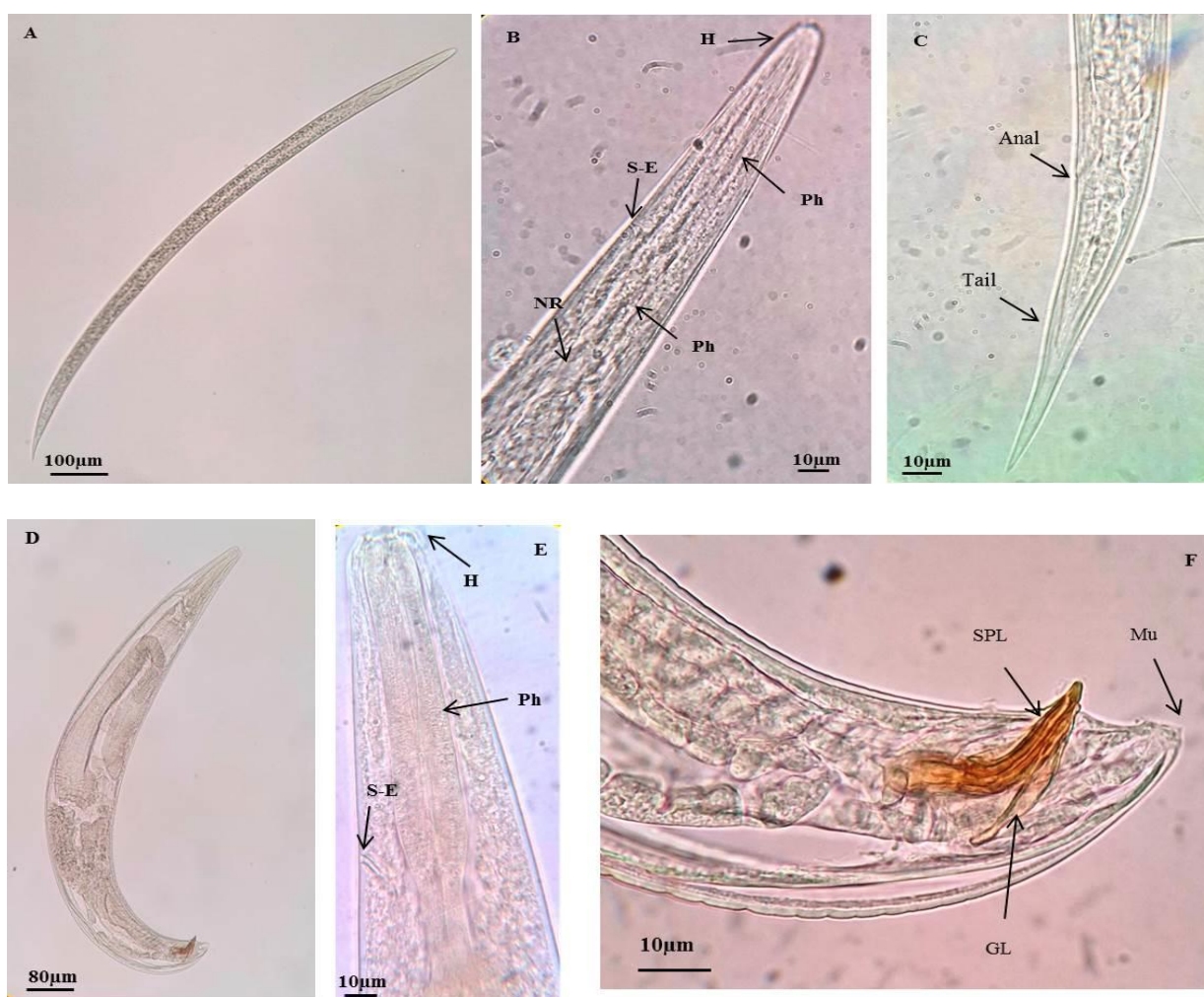
Isolate	Razavi Khorasan 1		Razavi Khorasan 2		Kermanshah		Isfahan		Lorestan1		Lorestan2		Lorestan3		West Azerbaijan		Steinernema feltiae Adams and Nguyen, 2002	
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	Range
L*	888	43	858.9	53.7	913	50	825	45	1041	35	975	67	953	40	952.5	36.9	849	736-950
W	27.5	1.5	28	3.8	27.4	1.5	27.1	1.7	31.3	2.5	31.8	1	32.7	1	29.6	1.4	26	22-29
S-E pore	64.2	2.4	65.6	6.1	65	1.3	58.2	2.3	71	3	63.8	3.6	59.1	2.6	65.5	1.7	62	53-67
NR	95.7	4.9	99.7	2.8	101.9	1.6	96.1	3.4	111.4	5	103.8	5.8	103.3	4.8	105.7	1.2	99	88-112
Ph	136.7	10.3	136.1	4.2	142.3	3.2	131.7	6.3	143.6	6.3	141.8	9.8	139	6.6	136	3	13	115-150
Tail	87.7	5.5	81.1	5.9	88.9	4.7	82.7	7.2	81.8	1.9	87.2	7.4	83.2	3.7	86	3.5	81	70-92
ABW	17.3	2.1	17.0	1.1	18.2	1.1	16.9	1.2	18.8	0.9	18.3	0.8	19	0.9	20.4	0.7	-	-
A	32.1	2.2	31.2	5.2	33.3	1.4	30.6	3.2	33.2	2.8	30.6	1.9	29.2	1.4	32.2	1	31	29-33
B	6.6	0.4	6.4	0.3	6.4	0.4	6.3	0.3	7.2	0.4	6.9	0.3	6.9	0.2	7	0.3	6	5.3-6.4
C	10.1	0.6	10.6	0.6	10.3	0.7	10	0.5	12.6	0.6	11.2	0.3	11.5	0.4	11.1	0.5	10.4	9.2-12.6
D%	47.1	2.8	48.5	3.7	45.3	1.6	44.2	0.9	49.1	1.8	45.1	2.9	42.6	2.1	48.2	1.3	45	42-51
E%	73.8	6.7	80.9	6.3	72.6	4	70.8	6.1	86.7	1.9	73.5	5.1	71.1	3.2	76.2	3.2	78	69-86

L*: طول بدن، W: عرض بدن، S-E pore: فاصله سر تا منفذ دفعی-ترشچی، NR: فاصله سر تا حلقه عصبی، Ph: طول مری، Tail L: طول دم، ABW: عرض بدن در ناحیه مخرج، a: نسبت طول بدن به عرض بدن، b: نسبت طول بدن بر طول مری، c: نسبت طول بدن بر طول دم، D%: درصد نسبت فاصله سر تا منفذ دفعی-ترشچی بر طول مری، E%: درصد فاصله سر تا منفذ دفعی-ترشچی بر طول دم؛ SE: خطای استاندارد

جدول ۳. داده‌های ریخت‌سنجی ۲۰ فرد نر نسل اول از هشت جدایه نماد بیمارگر حشرات و مقایسه آن با گونه تشخیص داده شده بر حسب میکرومتر

Isolate	Razavi Khorasan 1		Razavi Khorasan 2		Kermanshah		Isfahan		Lorestan1		Lorestan2		Lorestan3		Urmia		Steinernema feltiae Adams and Nguyen, 2002	
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	Range
S-E pore*	88.1	2.7	82.5	12.5	94.2	3.3	81.8	10.4	88.8	5.6	71.8	3.8	86.3	5.0	71.3	3.5	-	-
Ph	151.4	11.8	160	12.9	151.2	7.5	157.8	14.1	147.9	3.3	166.0	9.5	152.3	6.2	139.3	6.0	-	-
SPL	69.3	2.4	68	6.9	70.3	3.3	70.6	4.7	77.7	3.4	73.0	3.5	58.2	13	69.9	3.5	70.0	65-77
GL	53.6	6.4	47	5.4	48.2	2.1	48.0	2.7	48.5	5.8	48.2	2.5	53.7	14.8	45.2	3.7	41.0	34-47
CBW	41.9	3.9	60	5.9	42.8	2.1	41.2	2.2	41.7	8.4	41.0	2.2	40.3	5.9	33.5	3.0	75.0	60-90
SW	1.7	0.2	1.1	0.1	1.6	0.1	1.7	0.1	1.9	0.4	1.8	0.1	1.5	0.3	2.1	0.2	1.1	0.99-1.30
GS	0.8	0.1	0.7	0.1	0.7	0.0	45.2	3.0	0.6	0.1	0.7	0.0	1.0	0.5	0.6	0.0	0.6	0.52-0.61
Mucron	+		+		+		+		+		+		+		+		+	

S-E pore*: فاصله سر تا منفذ دفعی-ترشچی، Ph: طول مری، SPL: طول اسپیکول، GL: طول گوبرناکلوم، CBW: عرض بدن در ناحیه مخرج، SW: نسبت طول اسپیکول بر عرض بدن در ناحیه مخرج، GS: درصد نسبت طول اسپیکول بر طول گوبرناکلوم؛ +: وجود زائده موکرن در انتهای بدن؛ SE: خطای استاندارد



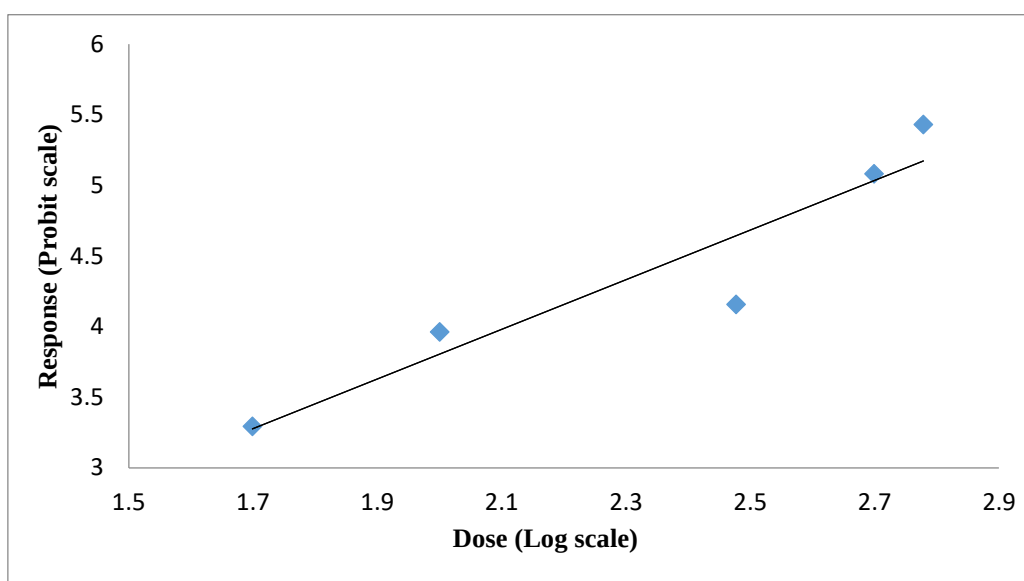
شکل ۱. تصاویر میکروسکوپ نوری لارو آلوده کننده (A-C) و نر (D-E) جدایه *Steinernema feltiae* Lorestan1: H: سر، S-E: منفذ دفعی-ترشچی، NR: حلقه عصبی، Ph: مری، Anal: شکاف مخرج، Tail: دم، SPL: اسپیکول، GL: گوبرناکلوم، Mu: موکرون

آزمون اثر روی سن‌های بالغ توسط نماتدهای بیمارگر حشرات

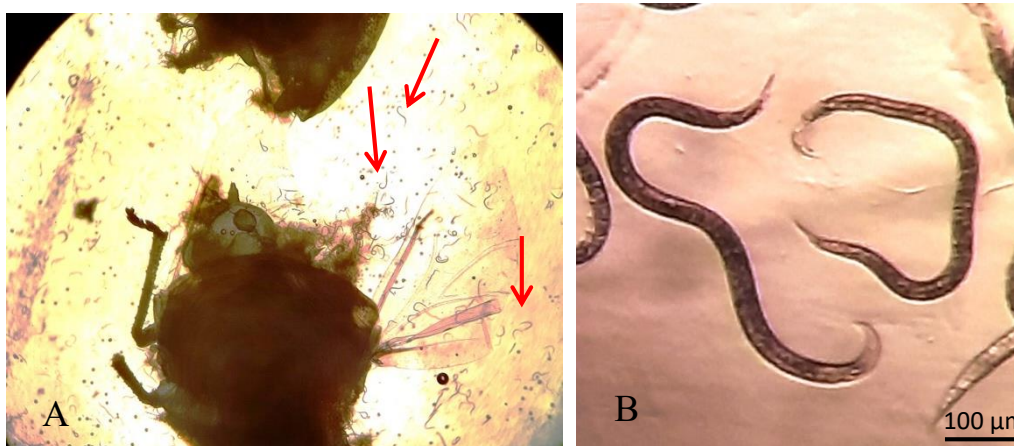
براساس نتایج پیش‌آزمایش، امکان انتخاب دامنه غلظتی که مرگ‌ومیر بین ۲۰ تا ۸۰ درصد ایجاد نماید، فراهم شد. برای تعیین LC_{50} ، آزمایش اصلی با غلظت‌هایی در محدوده ای از ۱۰۰ تا ۶۰۰ لارو آلوده‌کننده نماتد در هر حشره (یعنی ۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰ و ۶۰۰ لارو نماتد به ازای هر سن بالغ) روی جدایه منتخب انجام شد. با توجه به یکسان بودن گونه تمام جدایه‌ها و اثر مشابه روی سن گندم، جدایه Lorestan 1 در آزمون اثر اصلی، مورد استفاده قرار گرفت.

تجزیه‌ی رگرسیون اثر لگاریتم غلظت نماتد بر پروبیت مرگ و میر سن گندم، نشان‌دهنده‌ی رابطه‌ی معنی‌دار بین آنها بود (شکل ۲). براساس نتایج تجزیه پروبیت، مقادیر LC_{10} ، LC_{50} و LC_{90} جدایه *S. feltiae* Lorestan1 علیه سن گندم محاسبه گردید که در جدول (۴) ارائه شده است.

تولید نتاج در داخل لاشه سن گندم مشاهده شد (شکل ۲) و در تله وایت‌هایی که سن‌های آلوده‌ی حاصل از آزمون اثر قرار گرفته بودند، لاروهای آلوده‌کننده نماتد جمع‌آوری گردید که نشان‌دهنده بازچرخش نماتد در بدن سن گندم و بازیابی موفقیت‌آمیز این جدایه است (شکل ۴).



شکل ۲. پروبیت درصد مرگ و میر *Eurygaster integriceps* تیمار شده با غلظت‌های مختلف *Steinernema feltiae* Lorestan 1



شکل ۳. A: تولیدمثل نماتد در داخل لاشه *Eurygaster integriceps* آلوده به نماتد (سه تا از نماتدها با پیکان قرمز نشان داده شده است); B: لاروهای آلوده‌کننده نماتد خارج شده از لاشه سن گندم



شکل ۴. A: بازپریش نماتد در لاشه *Eurygaster integriceps* و خروج و تجمع لاروهای آلوده‌کننده نماتد در تله وایت; B: لاروهای آلوده‌کننده تجمع یافته در تله وایت

جدول ۴. مقادیر LC₁₀ و LC₅₀ و حدود اطمینان آن در آزمون اثر 1 *Steinernema feltiae* روی *Eurygaster integriceps*

Chi-Square (df, P value)	LC* ₁₀ (95% CL)	LC ₅₀ (95% CL**)	R ²
7.51 (3, 0.057)	98.13 (57.40-136.11)	461.41 (364.65-629.67)	0.8 9

*مقادیر غلظت کشنده بر حسب تعداد لارو آلوده کننده نماتد به ازای حشره

** حدود اطمینان

بحث

نمونه‌برداری از خاک برای جداسازی نماتدهای بیمارگر حشرات، روش اصلی و رایج در جهان می‌باشد. در حالت کلی، دما، بافت خاک، میزان pH خاک، ارتفاع از سطح دریا و میزان بارندگی سالانه از جمله ویژگی‌هایی است که وقوع گونه‌های مختلف نماتدهای بیمارگر حشرات را تحت تاثیر قرار می‌دهد؛ هر چند عوامل دیگری نیز می‌توانند دخیل باشند. درصد نمونه‌های مثبت در نمونه‌برداری از خاک در سراسر دنیا، نسبتاً کم و بین ۴ تا ۳۰ درصد گزارش شده است (Abd-Elgawad, 2021; Yuksel & Canhilal, 2019). البته این درصد مثبت بودن نمونه‌ها اغلب در مورد زیستگاه‌های رایج و عمومی نماتدهای بیمارگر حشرات و آفات میزبان آن‌ها صادق می‌باشد. با توجه به این که در این مطالعه، نمونه‌برداری از خاک از محل‌های زمستان‌گذرانی سن گندم (ارتفاعات بالای ۱۵۰۰ متری از سطح دریا) انجام شده و از طرفی، این نمونه‌برداری‌ها در زمان ریزش سن گندم (به عبارتی در زمستان یا اوایل بهار)، قبل از گرم شدن هوا انجام شده است، دامنه شرایط مناسب شکار نماتدها به مراتب محدود شده است. دمای محیط و دمای خاک به شدت نماتدهای بیمارگر حشرات را تحت تاثیر قرار می‌دهند. برخی گونه‌های نماتد مانند *Steinernema kraussei* به خوبی نسبت به دماهای پایین سازگار شده و حتی مکانیسم‌هایی برای بقا در شرایط انجماد را توسعه داده‌اند (Lillis et al., 2022). گونه *S. feltiae* نیز به عنوان یک گونه سرما دوست شناخته شده است (Hazir et al., 2014; Ebrahimi et al., 2011; Ali & Wharton, 2014). این موضوع که در یک زیستگاه خاص یا یک جغرافیای مشخص، تنها یک گونه از نماتدهای بیمارگر حشرات به روش تله‌گذاری خاک شکار شده باشد، قبلاً نیز گزارش شده است. برای مثال، در بررسی وقوع نماتدهای بیمارگر حشرات در جزایر فیجی، نمونه‌برداری‌هایی از هفت استان از ارتفاع حدود ۵۰۰ متر از سطح دریا، در نمونه‌برداری از ۴۸۷ محل، ۳۵ نمونه مثبت (۷/۳ درصد) گزارش گردید که تمام نمونه‌های مثبت متعلق به گونه *Heterorhabditis indica* بود (Kour et al., 2020). حضور گونه‌های متعلق به *Heterorhabditis* در خاک‌های شنی و سبک، یکی از ویژگی‌های این جنس است و وقوع در خاک سبک و اسیدی نیز از ویژگی‌های گونه *H. indica* به شمار می‌رود (Kour et al., 2020).

نماتدهای بیمارگر حشرات آفات متعددی از راسته‌های مختلف حشرات را آلوده می‌کنند. بررسی‌های کمی در مورد تاثیر این نماتدها علیه سن گندم در جهان انجام شده است. در یک مطالعه، شدت بیمارگری پنج جدایه مختلف نماتدهای بیمارگر حشرات از دو جنس *Steinernema* sp. و *Heterorhabditis* sp. علیه سن گندم بررسی شد (Canhilal et al., 2007) و غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ لارو آلوده کننده نماتد به ازای هر حشره، در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت که غلظت‌هایی مشابه و هم‌دامنه با مطالعه حاضر می‌باشد. نتایج آن‌ها نشان داد که جدایه‌های مختلف نماتدهای بیمارگر حشرات شدت بیمارگری متفاوتی را (در دامنه ۳۰ تا ۹۰ درصد) در این آفت ایجاد کردند و گونه‌های *Steinernema* شدت بیمارگری بالاتری نسبت به *Heterorhabditis* نشان دادند. مقادیر LC₅₀ برای گونه‌های *H. bacteriophora* و *S. carpocapsae* و *S. riobravae* به ترتیب ۱۰۷/۱، ۶۶/۶ و ۶۵/۳ نماتد به ازای هر حشره گزارش شد (Canhilal et al., 2007). در حالی که این مقدار برای جدایه ایرانی *S. feltiae* معادل ۴۶۱/۴ لارو آلوده کننده نماتد به ازای هر حشره بود. براساس نتایج (Canhilal et al., 2007)، گونه *S. riobravae* بیشترین و *H. bacteriophora* کمترین مرگ‌ومیر را ایجاد نمود. هر چند، (Kepenckci et al., 2004) نیز تاثیر نماتدهای بیمارگر حشرات را روی گونه مشابه سن معمولی گندم، *Eurygaster maura* L. بررسی نمود و نتایج حاصل از این بررسی در تضاد با نتایج (Canhilal et al., 2007) بود، به طوری که *H. bacteriophora* مرگ‌ومیر ۹۹

درصد و *S. carpocapsae* مرگومیر ۵۵ درصدی ایجاد کرد. با این حال، با توجه به اختصاصی بودن باکتری هر سویه از نماتدهای بیمارگر حشرات و نقش مهم باکتری همزیست در شدت بیمارگری، همچنین حساسیت متفاوت سامانه ایمنی گونه‌های مختلف آفات، تفاوت‌های مشاهده شده در مرگومیر حشرات مورد انتظار می‌باشد.

کارایی بالاتر گونه *S. feltiae* علیه راسته دوبالان یکی از ویژگی‌های این گونه می‌باشد، هرچند علیه بالپولکداران و سخت بالپوشان نیز موثر هست اما اطلاعات بسیار کمی روی کارایی آن علیه سن‌ها وجود دارد (Koppenhöfer et al., 2020; Platt et al., 2020) و در دو مطالعه مذکور بررسی اثر نماتدها روی سن گندم نیز گونه *S. feltiae* مورد بررسی قرار نگرفته است (Kepenekci, 2004; Canhilal et al., 2007). با این حال، اخیراً کارایی کمتر *S. feltiae* علیه سن *Aelia rostrata* در مقایسه با *S. carpocapsae* و *H. bacteriophora* گزارش شده است (Peçen & Kepenekci, 2022).

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

در نتیجه این بررسی، هشت جدایه نماتد بیمارگر حشرات از ۳۶۰ نمونه خاک محل زمستان‌گذرانی سن معمولی گندم در شش استان کشور از ارتفاع ۱۷۹۰ تا ۲۲۵۰ متر بالاتر از سطح دریا جداسازی، شناسایی و ذخیره‌سازی شد. همه جدایه‌ها متعلق به گونه *S. feltiae* بودند. کارایی نماتدهای بیمارگر حشرات روی افراد بالغ سن گندم، ارزیابی شد و مقادیر LC₅₀، LC₁₀ و LC₉₀ جدایه *S. feltiae* Lorestan1 علیه سن گندم به ترتیب ۹۸، ۴۶۱ و ۲۱۶۷ لارو آلوده‌کننده نماتد به ازای هر حشره محاسبه گردید. با توجه به این که تمام جدایه‌ها از ارتفاع بالای ۱۷۰۰ متر جداسازی شده‌اند و احتمالاً نسبت به دمای پایین سازگار باشند. ارزیابی و مقایسه اکولوژیکی جدایه‌ها و به ویژه بررسی تحمل دمایی آنها برای استفاده در برنامه‌های کنترل آفات مختلف در شرایط دمایی سازگار، پیشنهاد می‌گردد. در مورد امکان گنجاندن نماتدهای بیمارگر حشرات در برنامه‌های کنترل تلفیقی سن گندم، انجام تحقیقات بیشتری به‌ویژه در شرایط مزرع‌ای ضروری می‌باشد.

سپاس‌گزاری

این پژوهش بخشی از نتایج پروژه انجام یافته در موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور است. نویسندگان کمال تشکر را از حمایت‌های موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، ایستگاه تحقیقات کرج موسسه تحقیقات گیاهپزشکی و مراکز تحقیقات، آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان‌های آذربایجان غربی، کرمانشاه، لرستان، خراسان رضوی و اصفهان را دارند.

REFERENCES

- Abd-Elgawad, M. M. (2021). Optimizing sampling and extraction methods for plant-parasitic and entomopathogenic nematodes. *Plants*, 10, 629. <https://doi.org/10.3390/plants10040629>
- Adams, B. J., & Nguyen, K. B. (2002). Taxonomy and systematics. In: Gaugler, R. (Ed.), *Entomopathogenic nematology* (pp.1-34). CAB International Publishing.
- Adams, B. J., Fodor, A., Koppenhöfer, H. S., Stackenbrandt, E., Stock, S. P., & Klein, M. G. (2006). Biodiversity and systematic of nematode-bacterium entomopathogens. *Biological Control*, 38, 4-21. [https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(06\)00126-5](https://doi.org/10.1016/S1049-9644(06)00126-5)
- Ali, F., & Wharton, D. A. (2014). Intracellular freezing in the infective juveniles of *Steinernema feltiae*: an entomopathogenic nematode. *Plos One*, 9, e94179. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094179>
- Campos-Herrera, R., & Gutiérrez, C. (2009). A laboratory study on the activity of *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae) Rioja strain against horticultural insect pests. *Journal of Pest Science*, 82, 305-9. <https://doi.org/10.1007/s10340-009-0247-z>
- Canhilal, R., Reid, W., Kutuk, H., & El-Bouhssini, M. (2007). Susceptibility of Sunn pest, *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae), to various entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae). *Journal of Agricultural and*

- Urban Entomology, 24, 19–26. <https://doi.org/10.3954/1523-5475-24.1.19>
- Critchley, B. R. (1998). Literature review of sunn pest *Eurygaster integriceps* Put. (Hemiptera, Scutelleridae). *Crop Protection*, 4, 271–287. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(98\)00022-2](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(98)00022-2)
- Ebrahimi, L., Niknam, G. R., & Lewis, E. E. (2011). Lethal and sublethal effects of Iranian isolates of *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora* on the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *BioControl*, 56, 781–788. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9343-0>
- El-Bouhssini, M., Canhilal, R., & Aw-Hassan A. (2002). Integrated management of Sunn pest: a safe alternative to chemical control. ICARDA Caravan No. 16.
- Hazir, S., Stock, S. P., Kaya, H. K., Koppenhöfer, A. M., & Keskin, N. (2001). Developmental temperature effects on five geographic isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 77, 243–250. <https://doi.org/10.1006/jipa.2001.5029>
- Hominick, W. M., Briscoe, B. R., del Pino, F. G., Heng, J., Hunt, D. J., Kozodoy, E., Mracek, Z., Nguyen, K. B., Reid, A. P., Spiridonov, S., & Stock, P. (1997). Biosystematics of entomopathogenic nematodes: Current status, protocols, and definitions. *Journal of Helminthology*, 71, 271–298.
- Kepenckci, I. (2004). Pathogenicity of entomopathogenic nematodes to *Eurygaster maura* L. (Hemiptera: Pentatomidae). *Russian Journal of Nematology*, 12, 157–160.
- Koppenhöfer, A. M., Shapiro-Ilan, D. I., & Hiltbold, I. (2020). Entomopathogenic nematodes in sustainable food production. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 4:125. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00125>
- Kour, S., Khurma, U., Brodie, G., & Hazir, S. (2020). Natural occurrence and distribution of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae, Heterorhabditidae) in Viti Levu, Fiji Islands. *Journal of Nematology*, 52, 1–17. <https://doi.org/10.21307/jofnem-2020-017>
- Lacey, L. A., & Georgis, R. (2012). Entomopathogenic nematodes for control of insect pests above and below ground with comments on commercial production. *Journal of Nematology*, 44, 218.
- Lillis, P. E., Griffin, C. T., & Carolan, J. C. (2022). The effect of temperature conditioning (9 C and 20 C) on the proteome of entomopathogenic nematode infective juveniles. *Plos One*, 17, e0266164. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0266164>
- Nguyen, K., & Hunt, D. (2007). *Entomopathogenic nematodes: systematics, phylogeny and bacterial symbionts* (Vol. 5). Brill.
- Patil, J., Linga, V., Vijayakumar, R., Subaharan, K., Navik, O., Bakthavatsalam, N., Priyank Hanuman Mhatre, P. H., & Sekhar, J. (2022). Biocontrol potential of entomopathogenic nematodes for the sustainable management of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize. *Pest Management Science*, 78, 2883–2895. <https://doi.org/10.1002/ps.6912>
- Peçen, A., & Kepenckci, İ. (2022). Efficacy of entomopathogenic nematode isolates from Turkey against wheat stink bug, *Aelia rostrata* Boheman (Hemiptera: Pentatomidae) adults under laboratory conditions. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 32, 91. <https://doi.org/10.1186/s41938-022-00590-y>
- Platt, T., Stokwe, N. F., & Malan, A. P. (2020). A review of the potential use of entomopathogenic nematodes to control above-ground insect pests in South Africa. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 41, 1–16. <http://dx.doi.org/10.21548/41-1-2424>
- Stock, S. P. (2005). Insect-parasitic nematodes: from lab curiosities to model organisms. *Journal of Invertebrate Pathology*, 89, 57–66. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2005.02.011>
- Yuksel, E., & Canhilal, R. (2019). Isolation, identification, and pathogenicity of entomopathogenic nematodes occurring in Cappadocia region, central Turkey. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29, 1–7. <https://doi.org/10.1186/s41938-019-0141-9>
- White, G.F. (1927). A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science*, 66, 302–303.
- Woodring, J. L., & Kaya, H. K. (1988). Steinernematid and heterorhabditid nematodes: *A handbook*

- of biology and techniques*. Southern Cooperative Series Bulletin 331, 30 pp, Arkansas Agricultural Experiment Station, Fayetteville, AR
- Wu, S., Kaplan, F., Lewis, E., Alborn, H. T., & Shapiro-Ilan, D. I. (2018). Infected host macerate enhances entomopathogenic nematode movement towards hosts and infectivity in a soil profile. *Journal of Invertebrate Pathology*, 159, 141-144. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2018.10.007>