پژوهش‌های کاربردی در گیاه‌پزشکی ۱۰ (۳): ۱۴-۱ (۱۴۰۰)- مقاله پژوهشی
Journal of Applied Research in Plant Protection 10(3):1-14 (2021)-Research Article

DOI: https://dx.doi.org/10.22034/arpp.2021.13315

سازگاری دو گونه نماتد بیمارگر حشرات، *Steinernema carpocapsae* و *Steinernema feltiae* با حشره‌کش سایپرمترین علیه کرم برگخوار چغندرقند *Spodoptera exigua*

هاجر شرقی، ناصر عیوضیان کاری، داود محمدی✉

گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران. ✉mohamadi@azaruniv.ac.ir

دریافت: ۹۹/۱۰/۲۱ بازنگری: ۹۹/۱۱/۲۸ پذیرش: ۹۹/۱۲/۱۱

چکیده

کرم برگخوار چغندرقند *Spodoptera exigua* یکی از مهم‌ترین آفات پلی‌فاژ چغندرقند با پراکنش جهانی می‌باشد. با توجه به صدمات جبران‌ناپذیر اغلب آفت‌کش‌های شیمیایی، استفاده از روش‌های کنترل امن‌تر در مدیریت این آفت توصیه می‌شود. این مطالعه با هدف بررسی سازگاری دوگونه نماتد بیمارگر حشرات، *Steinernema carpocapsae* و *S. feltiae* با حشره‌کش سایپرمترین علیه لاروهای کرم برگخوار چغندرقند انجام گرفت. تاثیر نماتدهای بیمارگر حشرات و سایپرمترین بر لاروهای شش روزه کرم برگخوار چغندرقند با دو روش تماسی و گوارشی مورد ارزیابی قرار گرفت. مقادیر برآورد شده LC_{50} برای نماتد *S. carpocapsae* و *S. feltiae* به‌ترتیب ۶/۶۳ و ۴/۴۱ لارو آلوده کننده به ازای هر لارو (IJ/Larvae) و برای حشره‌کش سایپرمترین ۴۶۵/۴ پی‌پی‌ام بدست آمد. برای بررسی تاثیر تلفیق دو عامل، دو غلظت ۱۶۰، ۳۲۰ پی‌پی‌ام از حشره‌کش سایپرمترین و غلظت‌های دو، چهار و هشت IJ/Larvae از نماتدهای بیمارگر حشرات به‌صورت تلفیق با یکدیگر علیه لاروهای شش روزه کرم برگخوار چغندرقند مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد علیرغم تاثیر منفی سایپرمترین بر نماتدهای بیمارگر مورد بررسی، تلفیق غلظت ۱۶۰ پی‌پی‌ام سایپرمترین با دو IJ/Larvae نماتد *S. carpocapsae* و تلفیق دو غلظت ۱۶۰ و ۳۲۰ پی‌پی‌ام سایپرمترین با دو IJ/Larvae گونه *S. feltiae* اثر سینرژیستی در مرگ و میر آفت نشان دادند. همچنین مشخص شد، با افزایش زمان در معرض قرارگیری با سایپرمترین به تنهایی و یا در تلفیق با نماتدهای بیمارگر، میزان مرگ و میر لاروهای کرم برگخوار چغندرقند افزایش یافت در حالی که این اثر افزایشی درخصوص نماتدهای بیمارگر به تنهایی پس از ۴۸ ساعت ثابت مانده و تغییری نشان نداد.

کلمات کلیدی: آنتاگونیستی، دزهای غیرکشنده، سینرژیستی، *Steinernema*، کرم برگخوار چغندرقند

Compatibility of *Steinernema carpocapsae* and *Steinernema feltiae* with cypermethrin against the beet armyworm *Spodoptera exigua*

Hajar Shargi, Naser Eivazian Kary, Davoud Mohammadi✉

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran.
✉mohamadi@azaruniv.ac.ir

Received: 10 Jan 2021 Revised: 16 Feb 2021 Accepted: 1 Mar 2021

Abstract

The beet armyworm, *Spodoptera exigua*, is one of the most important polyphagous ubiquitous pests of the sugar beet. Because of adverse effects of conventional pesticides, introduction of new safe control methods in beet army worm management is essential. The aim of this study was evaluating compatibility of two EPN species, *Steinernema carpocapsae* and *S. feltiae* with cypermethrin against beet army worm larvae. Contact and oral toxicity of EPNs and cypermethrin was evaluated against six days old beet armyworm larvae. The recorded LC_{50} values of *S. carpocapsae* and *S. feltiae* were 6.63 and 4.41 IJ/Larvae, respectively. This value for cypermethrin was 465.4 ppm. Combination effects were tested at three concentrations of EPNs including 2, 4, and 6 IJs/Larvae and 160 and 320 ppm of cypermethrin. Nevertheless, the negative effect of cypermethrin on EPNs, synergistic effects on larvae mortality were recorded at combination treatments 160 ppm Cyp+2 IJs/Larvae EPNs, similar effect was also recorded at treatment contained 320 ppm cypermethrin and same level of IJs of *S. feltiae*. Larvae mortality was enhanced by increasing the exposure time to cypermethrin and also in combination with EPNs. This increasing trend was also recorded for 48 hours of post-exposure to EPNs and then the curve became plateau.

Keywords: Antagonistic, Beet army worm, *Steinernema*, Sub-lethal doses, Synergistic

How to cite:
Shargi H, Eivazian Kary N, Mohammadi D, 2021. Compatibility of *Steinernema carpocapsae* and *Steinernema feltiae* with cypermethrin against the beet armyworm *Spodoptera exigua*. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 10 (3): 1–14.

مقدمه

کرم برگخوار چغندرقند *Spodoptera exigua* (Hübner) یکی از آفات مهم گیاه‌خوار و به شدت پلی‌فاژ می‌باشد که باعث ایجاد خسارت اقتصادی قابل توجهی در بسیاری از محصولات کشاورزی می‌شود. این حشره، آفتی همه‌جازی، با دامنه فعالیت گسترده می‌باشد و به‌غیر از آمریکای جنوبی در بقیه کشورهای مختلف قاره‌های آسیا، آفریقا، اروپا، استرلیا، اقیانوسیه و آمریکای شمالی گزارش شده است (Capinera 2001; Zhong *et al*. 2011). با توجه به‌اینکه کنترل این آفت بر روی میزبان‌های گیاهی مختلف به‌طور عمده با استفاده از سموم شیمیایی انجام می‌گیرد، توسعه مقاومت نسبت به اغلب حشره‌کش‌هایی که علیه آنها استفاده می‌شود گزارش شده است (Ahmad & Arif 2010; Zhang *et al*. 2014; Su & Sun 2014). همچنین استفاده بی‌رویه از سموم شیمیایی باعث ایجاد مشکلات متنوع و جدی مانند باقیمانده سموم روی مواد غذایی، از بین بردن دشمنان طبیعی، اثرات مضر بر انسان و محیط زیست، شیوع آفات ثانویه و دیگر اثرات منفی مستقیم و غیرمستقیم شده است (Blümel *et al*. 1999; El-Wakeil *et al*. 2013). بنابراین به‌منظور به حداقل رساندن فشار توسعه مقاومت آفات در برابر حشره‌کش‌ها و اثرات منفی آنها بر دشمنان طبیعی آفات و سایر ارگانیسم‌های غیر هدف از جمله انسان، باید از جایگزین‌های موثری برای حشره‌کش‌های مصنوعی استفاده نمود (Dhawan *et al*. 2009). نماتدهای بیمارگر حشرات از عوامل بسیار ارزشمند کنترل زیستی بسیاری از حشرات آفت به‌شمار می‌روند. این عوامل بر اساس ویژگی‌های مثبتی که دارند به‌عنوان عوامل کنترل زیستی در سطح تجاری توسعه یافته و به‌طور گسترده در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این نماتدها برای انسان و سایر موجودات غیر هدف و محیط‌زیست بی‌خطر هستند. در صورت استفاده منطقی و درست، این عوامل می‌توانند در مدیریت طیف وسیعی از حشرات آفت موثر باشند (Kopenhöfer & Kaya 2001; Shapiro-Ilan *et al*. 2006; Vashisth *et al*. 2013). مطالعات متعدد نشان می‌دهد که نماتدهای بیمارگر حشرات پتانسیل بالایی جهت بیماریزایی در برخی از گونه‌های جنس *Spodoptera* در شرایط آزمایشگاهی و شرایط مزرعه‌ای دارند که از جمله می‌توان به گونه‌های *S. frugiperda* (J. E. Smith 1797)، *S. exigua* و *S. litura* (Fabricius, 1775) اشاره نمود (Sobhy *et al*. 2020; Yan *et al*. 2020; Viteri *et al*. 2021).

تلفیق ابزارهای مختلف مدیریت آفات مانند حشره‌کش‌های شیمیایی و عوامل کنترل زیستی به‌منظور بهبود عملکرد و رسیدن به مدیریت پایدار با استفاده از روش‌های سازگار با محیط‌زیست یکی از راه‌کارهای موثر در مدیریت تلفیقی آفات به‌شمار می‌رود (Dhawan *et al*. 2009). تلفیق عوامل مختلف کنترل با نحوه اثر متفاوت و بخصوص استفاده از دزهای غیرکشنده آفت‌کش‌ها، ضمن کاهش غلظت مورد استفاده، می‌تواند احتمال بروز مقاومت در آفات را نیز کاهش دهد (Musser *et al*. 2006; Viteri *et al*. 2021). گزارش محققین مختلف نشان داده است که نماتدهای بیمارگر حشرات با اغلب آفت‌کش‌های شیمیایی سازگار بوده و می‌توانند به‌مدت کوتاه (دو تا شش ساعت) آثار نامطلوب علف‌کش‌ها، قارچ‌کش‌ها و حشره‌کش‌ها را تحمل نمایند، بنابراین، می‌توانند قبل از اسپری‌پاشی با هم مخلوط شوند (Head *et al*. 2000; Negrisoli *et al*. 2010a; Chavan *et al*. 2018; Laznik & Trdan 2014; Pelizza *et al*. 2018). تاثیر چندین آفت‌کش را بر دو گونه نماتد بیمارگر حشرات بررسی کردند و مشخص گردید که در شرایط آزمایشگاهی بجز کارتاب هیدروکلراید بقیه حشره‌کش‌ها، قارچ‌کش‌ها و علف‌کش‌های مطالعه شده نماتدهای بیمارگر حشرات را خیلی کم تحت تاثیر قرار دادند. برخی از آفت‌کش‌ها می‌توانند کارایی نماتدهای بیمارگر حشرات را کاهش دهند و این کاهش اثر از دو جنبه، تاثیر بر آفت و تاثیر مستقیم بر خود نماتد قابل توجه است. مشخص شده است که برخی از آفت‌کش‌ها اثر سینرژیستی با نماتدهای بیمارگر حشرات دارند و کارایی نماتدها را بهبود می‌دهند (Glazer *et al*. 2001; Pelizza *et al*. 2018). در خصوص اثرات سینرژیستی نماتدهای بیمارگر حشرات و سموم شیمیایی در مدیریت آفات گزارش‌های متعددی وجود دارد (Koppenhöfer *et al*. 2000; Sabino *et al*. 2014). برای مثال بررسی آزمایشگاهی برهم‌کنش بین نماتد گونه *Steinernema carpocapsae* (Weiser 1955) و حشره‌کش آبامکتین در مدیریت بید سیب‌زمینی، *Phthorimaea operculella* (Zeller 1873)، نشان داد که ترکیبی از حشره‌کش آبامکتین و *S. carpocapsae* پتانسیل مناسبی برای کنترل بید سیب‌زمینی داشته و می‌تواند به کاهش استفاده از حشره‌کش‌های مصنوعی در مدیریت تلفیقی آفات منجر شود (Eivazian kary *et al*. 2018). Sabino *et al*. (2014) تاثیر چندین حشره‌کش را بر دو گونه نماتد بیمارگر حشرات *S. carpocapsae* و *Heterorhabditis amazonens*is (Andalo, Negugen & Moino 2007) مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که تاثیرپذیری نماتدها از آفت‌کش‌های شیمیایی یکسان نبود و هر گونه نماتد واکنش متفاوتی نسبت به هر آفت‌کش نشان دادند. همچنین کارایی نماتدهای بیمارگر تیمار شده با غلظت‌های

یکسان از آفت‌کش‌ها در مرگ و میر پروانه موم‌خوار، *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) نیز مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که بیماریزایی نماتدها با یکدیگر متفاوت بوده و گونه *S. carpocapsae* کنترل بهتری حتی بعد از تیمار با حشره‌کش‌ها نشان داد. در بررسی مشابهی، Koppenhöfer *et al.* (2002) تاثیر تلفیق سه گونه نماتد بیمارگر حشرات را با چند حشره‌کش نئونیکوتینوئیدی بررسی نمودند و مشخص شد که اثرات سینرژیستی خوبی در تلفیق دو عامل در کنترل آزمایشگاهی و حتی مزرعه‌ای چند سخت‌بالپوش بدست آمد. همچنین نتایج نشان داد که آفت‌کش‌های شیمیایی علاوه بر تاثیر مستقیم بر مرگ و میر نماتدهای بیمارگر حشرات، حتی می‌توانند بر نشو و نما و تولید مثل باکتری‌های همزیست آنها هم تاثیر بگذارند. مطالعه محققین مختلف مشخص کرده است که، نماتدهای بیمارگر حشراتی که تحت تاثیر غلظت‌های مختلف برخی آفت‌کش‌ها قرار گرفتند، توانستند کارایی خود را در کنترل آفات حفظ کنند. نتایج تحقیق Negrisoli *et al.* (2010ab)، مشخص کرد، گونه نماتد *S. glaseri* (Steiner) در مقایسه با سایر گونه‌های بررسی شده به‌طور میانگین تاثیر خیلی کمتری از حشره‌کش‌ها گرفتند ولی گونه *H. indica* (Poinar, Karanakar & David 1992) به‌طور میانگین حساسیت بیشتری نشان داد. کارایی نماتدهای تیمار شده با حشره‌کش‌ها در کنترل *S. frugiperda* نیز مبین کارایی خوب این گونه نماتدها حتی پس از تیمار با حشره‌کش‌های مورد بررسی می‌باشد. در بررسی این محققین سایپرمترین کمترین تاثیر را بر گونه *S. glaseri* (۶/۴ درصد) و بیشترین تاثیر را بر گونه *H. indica* (۱۹/۲ درصد مرگ و میر) نشان داد و این درحالی بود که کارایی نماتدهای تیمار شده با این حشره‌کش نیز به‌ترتیب ۹۲ و ۸۰ درصد بود که در گونه اول از نظر کارایی حتی با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد. همچنین در بررسی دیگری Sanjta *et al.* (2020) تاثیر تلفیق دو گونه نماتد بیمارگر حشرات *H. indica* و *S. caprocapsae* با حشره‌کش‌های کلوتیانیدین، ایمیداکلوپرید و کلرپایریفوس علیه لاروهای سخت‌بالپوشان *Holotrichia longipennis* (Blanchard, 1851) و *Brahmina coriacea* (Hope, 1831) بررسی کردند و اثرات سینرژیستی بسیار بالایی از تلفیق دو عامل در کنترل این سخت‌بال‌پوشان بدست آمد.

از آنجا که سازگاری نماتدهای بیمارگر حشرات با آفت‌کش‌های مختلف بر روی یک حشره خاص به چندین عامل از جمله حشره هدف، ویژگی‌های زیستی و جدایه نماتدهای بیمارگر حشرات و بیماریزایی باکتری‌های همزیست آنها بستگی دارد، بنابراین مطالعات تکمیلی در مورد اثرات متقابل آفت‌کش‌ها بر عملکرد بیمارگرها قبل از انتخاب نوع آفت‌کش و گونه و جدایه نماتد بیمارگر باید انجام گیرد. در این بررسی حساسیت لاروهای کرم برگخوار چغندر قند نسبت به دو گونه نماتد بیمارگر حشرات *S. carpocapsae* و *S. feltiae* و حشره‌کش سایپرمترین به تنهایی و در تلفیق با یکدیگر، در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پرورش کرم برگخوار چغندرقند

جمعیت اولیه کرم برگخوار چغندرقند از کلنی موجود در دانشگاه شهید مدنی آذربایجان تهیه شد. لاروها در اتاق پرورش روی غذای مصنوعی در شرایط کنترل شده، دمای ۵ ± ۲۵ درجه سلسیوس، روشنایی ۸:۱۶ (روشنایی: تاریکی) ساعت، رطوبت نسبی ۵ ± ۶۰٪ نگهداری شدند. برای تخم‌گیری از حشرات کامل، از ظروف تخم‌گیری استوانه‌ای به ارتفاع ۲۸ و قطر دهانه ۱۸ سانتی‌متر که درب آنها با پارچه توری مناسب پوشانده شده بود، استفاده گردید. به‌منظور جمع‌آوری دسته‌های تخم از نوارهای کاغذی که به‌صورت بادبزنی تا خورده بودند در درون ظروف تخم‌گیری استفاده شد. برای تغذیه حشرات کامل از آب و عسل ۱۰٪ استفاده شد. تخم‌ها هر ۴۸ ساعت برداشت شده و به‌منظور حفظ جمعیت کلنی و یا انجام آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفتند (Singh 1977). لاروهای شش روزه کرم برگخوار چغندرقند در آزمایش‌های زیست‌سنجی مورد استفاده قرار گرفت.

پرورش نماتدهای بیمارگر حشرات

کشت اولیه دو گونه نماتد بیمارگر حشرات *S. carpocapsae* و *S. feltiae* از آزمایشگاه پاتولوژی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان تهیه گردید. نماتدها بر روی لاروهای سن آخر بید موم‌خوار بزرگ، *G. mellonella* به‌عنوان میزبان آزمایشگاهی پرورش یافتند. در کف ظروف پتری به‌قطر ۹ سانتی‌متر که با کاغذ صافی مفروش شده بود، یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون نماتد اضافه شده، تعداد ۱۰ عدد لارو سن آخر بید موم‌خوار روی آنها منتقل شده در شرایط آزمایشگاهی و محیط تاریک نگهداری شدند. با گذشت سه الی پنج روز در صورت تغییر رنگ لاروها که نشان دهنده مرگ و میر لاروها در اثر آلودگی با نماتد است لاروهای بید موم‌خوار به تله وایت منتقل شده و لاروهای آلوده کننده نماتدها Infective Juveniles (IJ) جمع‌آوری شدند.

نماتدها در محلول رینگر برای تکثیر و مطالعات بعدی نگهداری شدند (White 1927; McMullen & Stock 2014).

زیست سنجی

زیست‌سنجی لاروهای کرم برگخوار چغندرقند با نماتدهای بیمارگر حشرات به روش تماسی

برای بررسی بیماریزایی گونه‌های نماتد بیمارگر حشرات روی لاروهای شش روزه کرم برگخوار چغندرقند، کف ظروف پتری به قطر پنج سانتی‌متر با کاغذ صافی پوشانده شد و لاروها به‌صورت آغشته کردن کاغذ صافی با سوسپانسیون نماتدها در معرض قرار گرفتند. غلظت‌های نهایی برای زیست‌سنجی که از آزمایشات مقدماتی بدست آمدند شامل صفر، ۲، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ لارو آلوده کننده به ازای هر لارو حشره (IJ/Larvae) بودند. برای زیست-سنجی، کاغذ صافی کف ظروف پتری با ۳۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون غلظت‌های مختلف نماتدها مایه‌زنی گردید. سپس سه عدد لارو شش روزه کرم برگخوار چغندرقند در هر ظرف پتری قرار داده شد. در ظروف پتری شاهد بجای سوسپانسیون نماتد، از ۳۵۰ میکرولیتر آب مقطر استفاده گردید (Caccia *et al.* 2014). مرگ و میر لاروها در فواصل زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت ثبت شد. برای تغذیه لاروها در طی زیست‌سنجی از یک قالب غذای مصنوعی به‌قطر یک سانتی‌متر و ضخامت تقریبی دو میلی-متر استفاده شد. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی انجام گرفتند.

زیست‌سنجی لاروهای کرم برگخوار چغندرقند با حشره‌کش سایپرمترین به روش گوارشی

در این بررسی از فرمولاسیون EC40 حشره‌کش پایریتروئیدی سایپرمترین (Cypermethrin, Ripcord®, 40% EC) استفاده شد. آزمایش‌های زیست‌سنجی به روش گوارشی انجام شد. در این روش برای هر تیمار، پس از تهیه غلظت مربوطه، داخل ظرف شیشه‌ای مقدار یک میلی‌لیتر از غلظت مورد نظر،۱۰ گرم ماده غذایی و ۰/۰۱ میلی‌لیتر ماده رنگی خوراکی مایع سبز (با نام تجاری خط زرد) (به‌منظور اطمینان از مخلوط شدن محلول سمی با ماده غذایی) ریخته و به‌هم زده شد تا مخلوط یکنواختی به‌دست آید. سپس این مخلوط به اندازه یکسان قالب زده شد و قالب‌های ماده غذایی آغشته به حشره‌کش داخل لوله‌های آزمایشی قرار داده شدند. سپس لاروهای شش روزه کرم برگخوار چغندرقند به‌صورت انفرادی به لوله‌های آزمایش منتقل شدند. غلظت‌های نهایی مورد استفاده برای زیست‌سنجی شامل ۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰، ۱۶۰۰، ۳۲۰۰ پی‌پی‌ام بود. در تیمار شاهد از ماده غذایی به همراه یک میلی‌لیتر آب مقطر و ماده رنگی استفاده شد. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی انجام گرفت. مرگ و میر لاروها که معیار آن عدم واکنش لاروها به تحریک با سوزن بود در فواصل زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت ثبت گردید. برای تغذیه لاروها در طی زیست‌سنجی از یک قالب غذای مصنوعی به‌قطر یک سانتی‌متر و ضخامت تقریبی دو میلی-متر استفاده گردید.

بررسی تاثیر حشره‌کش سایپرمترین بر دو گونه نماتد بیمارگر حشرات

به‌منظور بررسی تاثیر حشره‌کش سایپرمترین بر دو گونه نماتد بیمارگر حشرات *S. carpocapsae* و *S. feltiae* غلظت‌های مشابه مورد استفاده در زیست‌سنجی لاروهای کرم برگخوار چغندرقند شامل صفر، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰، ۱۶۰۰ پی‌پی‌ام انتخاب شدند. سوسپانسیون نماتدهای بیمارگر حشرات با غلظت ۲۰۰۰ IJ/Larvae تهیه و تاثیر غلظت‌های مختلف سایپرمترین بر آنها مورد بررسی قرارگرفت. برای بررسی‌ها، در میکروتیوب‌های دو میلی‌لیتری، یک میلی‌لیتر حشره‌کش با غلظت مشخص و یک میلی‌لیتر سوسپانسیون نماتد مخلوط شد. به‌منظور بررسی میزان مرگ و میر نماتدها در فواصل زمانی ۲۴ الی ۱۴۴ ساعت، روزانه از هر تکرار سه بار نمونه‌برداری شده (مقدار ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون مربوطه) و درصد مرگ و میر نماتدها محاسبه گردید. در تیمار شاهد بجای محلول سمی از آب مقطر استفاده شد. هر تیمار چهار بار تکرار شد (Ulu *et al.* 2016; Peters 2003). آزمایش‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی انجام گفت.

بررسی تاثیر تلفیق حشره‌کش سایپرمترین و دو گونه نماتد بیمارگر حشرات S. feltiae و S. carpocapsae بر لاروهای کرم برگخوار چغندرقند

غلظت‌های غیرکشنده دو عامل برای بررسی اثرات کشندگی تلفیق آنها مورد استفاده قرار گرفت. دو غلظت ۱۶۰ و ۳۲۰ پی-پی‌ام از حشره‌کش سایپرمترین (تقریبا معادل LC_{30} و LC_{50}) و غلظت‌های ۲، ۴، ۸ IJ/Larvae از دو گونه نماتد بیمارگر حشرات (تقریبا معادل LC_{10}، LC_{30} و LC_{50} و به‌منظور مقایسه نسبی برای دو گونه نماتد غلظت‌های یکسان در نظر گرفته شد)، به‌صورت تلفیق با یکدیگر مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این بررسی، کف ظروف پتری با قطر پنج سانتی‌متر با کاغذ صافی پوشانده شده و با ۳۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف سوسپانسیون نماتد بیمارگر مایه‌زنی گردید و سپس مواد غذایی مخلوط شده با

غلظت‌های مشخص شده حشره‌کش سایپرمترین و مواد رنگی به‌صورت قالب (یک سانتی‌متر مکعبی) در وسط هر ظرف پتری روی کاغذ صافی قرار داده شدند و پنج لارو شش روزه کرم برگخوار چغندرقند به هر ظرف پتری انتقال یافت. در پتری‌های شاهد، به‌جای سوسپانسیون نماتد، از ۳۵۰ میکرولیتر آب مقطر و ماده غذایی تیمار نشده استفاده شد. هر کدام از غلظت‌های حشره‌کش سایپرمترین و نماتدهای بیمارگر حشرات به‌صورت جداگانه برای بررسی اثرات کشندگی آنها به‌صورت انفرادی نیز با روش‌های اشاره شده مورد ارزیابی قرار گرفتند. تمامی تیمارها سه بار تکرار شد و کل آزمایش‌ها نیز سه بار تکرار گردید. مرگ و میر لاروها از ۲۴ تا ۱۴۴ ساعت به‌صورت روزانه ثبت گردید (Koppenhöfer *et al.* 2000). تمامی آزمایش‌های زیست‌سنجی در شرایط کنترل شده، دمای ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ۶۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی انجام گرفت.

تجزیه وتحلیل داده‌ها

تمامی آزمایشات در قالب طرح کاملا تصادفی انجام گرفت. برای مقایسه سمیت و اثرات کشندگی از رگرسیون پروبیت درصد تلفات، نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. در صورت مشاهده مرگ و میر در شاهد با استفاده از فرمول ابوت (Abbott 1925) تصحیح داده‌ها صورت گرفت. برای محاسبه اثرات مختلف تلفیق غلظت‌های غیرکشنده سایپرمترین با نماتدهای بیمارگر حشرات (سینرژیستی، آنتاگونیستی و تجمعی)، مقادیر مرگ و میر مشاهده شده به‌صورت انفرادی و تلفیق با عامل دیگر با مقادیر برآورد شده با محاسبه χ^2 با درجه آزادی "یک" محاسبه و مقایسه گردید. در صورت معنی‌دار بودن آزمون کیدو، اثر غیر تجمعی بوده و اگر مقدار عددی D (تفاضل مرگ و میر مشاهده شده و برآورد شده) مثبت باشد، نوع اثر سینرژیستی و در صورت منفی بودن، نوع اثر آنتاگونیستی برآورد گردید (Koppenhöfer *et al.* 2000).

نتایج

تاثیر سایپرمترین و گونه‌های نماتد بیمارگر حشرات S. carpocapsae و S. feltiae بر لاروهای شش روزه کرم برگخوار چغندر قند ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از در معرض قرارگیری

اثرات کشندگی نماتدهای بیمارگر حشرات و حشره‌کش سایپرمترین بر لاروهای شش روزه کرم برگخوار چغندرقند در جدول ۱ خلاصه شده است. مقدار LC_{50}، ۴۸ و۷۲ ساعت بعد از تیمار در نماتد گونه *S. feltiae* به‌ترتیب ۴/۴۱ و۴/۰۱ IJ/Larvae و شیب خط دز-اثر نیز به‌ترتیب ۱/۶۲ و ۱/۷۱ بدست آمد. مقدار χ^2 نیز به‌ترتیب ۲/۳۹ و۱/۳۱ محاسبه شد که از نظر آماری غیر معنی‌دار بودند. در مورد نماتد گونه *S. carpocapsae*، مقدار LC_{50}، ۴۸ و۷۲ ساعت بعد از تیمار به‌ترتیب ۶/۶۳ و۳/۶۱ IJ/Larvae و شیب خط دز-اثر نیز به‌ترتیب ۱/۶۸ و ۱/۵۴ بدست آمد و مقادیر χ^2 نیز غیرمعنی‌دار بود. با مقایسه مقادیر کشنده ۵۰ درصد با توجه به نزدیک بودن شیب خطوط دز-اثر مشخص می‌شود که نماتد گونه *S. feltiae* در ۴۸ ساعت بیماریزایی بیشتری در مقایسه با گونه *S. carpocapsae* دارد و در ۷۲ ساعت گونه *S. carpocapsae* بیماریزایی بیشتری نشان داد.

در مورد سایپرمترین، مقدار عددی LC_{50}، ۴۸ و۷۲ ساعت بعد از در معرض قرارگیری به‌ترتیب ۴۶۵/۴۵ و ۳۰۶/۰۵ پی‌پی‌ام محاسبه شده و شیب خطوط دز- اثر نیز به‌ترتیب ۱/۶۹ و۲/۰۳ بدست آمد که در زمان‌های مشابه بیشتر از هر دو گونه نماتد بود. با توجه به نتایج بدست آمده، در هر سه تیمار با گذشت زمان مقدار LC_{50} کاهش یافته است. به عبارتی درصد مرگ و میر با گذشت زمان افزایش یافته و همبستگی مثبتی با زمان را نشان می‌دهد (جدول ۱).

تاثیر تلفیق نماتد بیمارگر حشرات S. carpocapsae و سایپرمترین بر مرگ و میر لاروهای شش روزه کرم برگخوار چغندرقند

تاثیر غلظت‌های غیرکشنده نماتد *S. carpocapsae* و حشره-کش سایپرمترین به تنهایی و در تلفیق با یکدیگر در زمان‌های مختلف در جدول ۲ خلاصه شده است. در تمام تیمارها با گذشت زمان، مرگ و میر افزایش یافته است. در ۲۴ ساعت اول در معرض قرارگیری، تلفیق غلظت دو IJ/Larvae با غلظت ۱۶۰ پی‌پی‌ام سایپرمترین اثر سینرژیستی نشان داده است. در بقیه موارد اثرات اغلب آنتاگونیستی و یا تجمعی بود. دلیل این امر به تاثیر خوب غلظت‌های چهار و هشت IJ/Larvae برمی‌گردد که در ۲۴ ساعت اول ۳۳ درصد و در ساعات بعدی به‌ترتیب بیش از ۶۶ و ۸۸ درصد تلفات در لاروهای کرم برگخوار چغندر قند ایجاد کرده است و چون در محاسبات مربوط به نوع اثر، اثرات کشندگی تیمارها به تنهایی در نتیجه‌گیری نهایی تاثیر دارد بنابراین اثرات سینرژیستی مشاهده نشد.

از نتایج این بررسی تثبیت مرگ و میر در لاروهای کرم برگخوار چغندرقند تحت تاثیر غلظت‌های هشت و چهار IJ/Larvae بعد از ۴۸ ساعت در معرض قرارگیری بود در حالی

که در غلظت کمتر (IJ/Larvae ۲) با گذشت زمان مرگ و میر افزایش یافته و بیشترین مرگ و میر ۹۶ ساعت بعد از شروع زیست‌سنجی مشاهده شد. به عبارتی در این بررسی مشخص شد که در تیمار لاروها با غلظت‌های پایین نماتد زمان بیشتری برای حصول نتیجه مطلوب و مشابه با غلظت‌های بالا مورد نیاز است.

در تلفیق دو عامل، با گذشت زمان، مرگ و میر افزایش نشان داده است و این نتیجه در دو غلظت ۳۲۰ و ۱۶۰ پی‌پی‌ام سایپرمترین به تنهایی نیز مشاهده می‌شود. و این به تاثیر غالب سایپرمترین بر نتیجه تلفیق مربوط است.

تاثیر تلفیق نماتد S. feltiae و حشره‌کش سایپرمترین بر مرگ و میر لاروهای شش روزه کرم برگخوار چغندرقند

تاثیر غلظت‌های غیرکشنده نماتد *S. feltiae* و حشره‌کش سایپرمترین به تنهایی و در تلفیق با یکدیگر در زمان‌های مختلف در جدول ۳ آمده است. نتایج نشان داد که همانند تلفیق *S. carpocapsae* با سایپرمترین بعد از ۴۸ ساعت، مرگ و میر در غلظت‌های مختلف نماتد بیمارگر تثبیت شده ولی در مورد حشره‌کش سایپرمترین روند افزایشی با افزایش زمان، ادامه یافته است و این روند در تلفیق دو عامل نیز مشاهده شد.

تلفیق غلظت دو IJ/Larvae با غلظت‌های ۳۲۰ و ۱۶۰ پی‌پی‌ام سایپرمترین در ۲۴ ساعت اول سینرژیستی بوده و فقط تلفیق غلظت ۳۲۰ پی‌پی‌ام سایپرمترین با غلظت دو IJ/Larvae نماتد در زمان ۴۸ ساعت اثر سینرژیستی نشان داد. در بقیه ترکیبات تیماری اثرات آنتاگونیستی و تجمعی مشاهده شد. همانگونه که با مقایسه جدول‌های ۲ و ۳ مشاهده می‌شود اثر سینرژیستی نماتد گونه *S. carpocapsae* در مجموع کمتر از گونه *S. feltiae* بود (فقط یک مورد در تمام ترکیبات تیماری و زمان‌های مختلف). تاثیر بالای حشره‌کش سایپرمترین با گذشت زمان و بخصوص اثرات کشندگی بالای غلظت‌های هشت و چهار IJ/Larvae گونه *S. feltiae* از دلایل عدم مشاهده اثرات سینرژیستی می‌تواند باشد.

در زمان‌های مختلف بررسی مشخص است که، مرگ و میر در غلظت بالای نماتدهای بیمارگر (هشت IJ/Larvae) به‌صورت انفرادی بیشتر از تلفیق همان غلظت با غلظت بالای سایپرمترین است (۳۲۰ پی‌پی‌ام). در تلفیق این غلظت هیچ اثر سینرژیستی مشاهده نشد و اثر تلفیق همیشه کمتر از تاثیر نماتدهای بیمارگر به تنهایی بود. که دلیل آنرا می‌توان به تاثیر سوء سایپرمترین بر بیولوژی نماتد نسبت داد.

تاثیر حشره‌کش سایپرمترین بر نماتدهای بیمارگر حشرات

همانگونه که در جدول ۴ مشخص است، اثر کشندگی سایپرمترین در غلظت‌های مختلف بر هر دو گونه نماتد بیمارگر حشرات بالا است. در غلظت‌های بالاتر از ۴۰۰ پی‌پی‌ام تمامی نماتدها از بین رفتند. همانگونه که مشخص است حساسیت گونه *S. carpocapsae* بیشتر از گونه *S. feltiae* بوده و در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام در روز اول و دوم در معرض قرارگیری مرگ و میر بیشتری داشته است. پس از گذشت ۷۲ ساعت تمامی نماتدها در تمامی غلظت‌های مورد بررسی از بین رفتند. این موضوع نشان دهنده تاثیر زیاد فرمولاسیون سایپرمترین مورد استفاده در این بررسی بر دو گونه نماتد بیمارگر است.

بحث

در مدیریت تلفیقی آفات استفاده توام از دو یا چند عامل کنترل در راستای کاهش مصرف سموم شیمیایی و جلوگیری از بروز مقاومت علیه آفت‌کش‌های سنتزی، روشی قابل توصیه است (Sabino *et al.* 2014; Bajc *et al.* 2017). در این بین تاثیر متقابل عوامل بر یکدیگر در حصول نتیجه نهایی موثر خواهد بود. در موارد متعددی اثرات سینرژیستی خوب تلفیق نماتدهای بیمارگر حشرات با دزهای غیر کشنده آفت‌کش‌های مصنوعی گزارش شده است. موارد متعددی از تاثیرپذیری نماتدها از آفت-کش‌های شیمیایی و کاهش کارایی آنها در بحث تلفیق با یکدیگر در کنترل آفات نیز گزارش شده است (Head *et al.* 2000; Negrisoli *et al.* 2010b; Özdemir *et al.* 2020). نماتدهای بیمارگر حشرات در مقایسه با سایر بیمارگرها از سرعت تاثیر نسبتا بالایی برخوردار هستند و در صورتی که غلظت کافی از نماتد وارد بدن حشره شود، ۷۲-۲۴ ساعت بعد علایم مسمومیت و مرگ آفت اتفاق خواهد افتاد (Shapiro-Ilan *et al.* 2006; Jagodič *et al.* 2019). تفاوت حساسیت گونه‌های مختلف نماتدهای بیمارگر حشرات نسبت به انواع آفت‌کش‌ها نیز در تحقیقات مختلفی گزارش شده است (Laznik *et al.* 2012; Bajc *et al.* 2017). در یک بررسی مشخص شد که نماتد گونه *S. feltiae* نسبت به اغلب آفت‌کش‌ها مرگ و میر کمتری در مقایسه با گونه *S. carpocapsae* نشان داد (Laznik *et al.* 2012). در بررسی حاضر نیز تا حدودی حساسیت نسبی کمتر این گونه مشخص شده است (جدول ۴).

جدول ۱. تاثیر نماتدهای بیمارگر حشرات *S. carpocapsae*، *S. feltiae* و حشره‌کش سایپرمترین بر لاروهای شش روزه کرم برگخوار چغندرقند.

Table 1. Effect of entomopathogenic nematodes, *S. carpocapsae*, *S. feltiae* and cypermethrin on *S. exigua* larvae (6 days old).

Treatments	Time (Hours)	χ2 Parameters			Slope ± SE	LC_{10} (CL*)	LC_{30} (CL)	LC_{50} (CL)	LC_{90} (CL)
		χ^2	df	*P*					
S. feltiae (IJ/Larvae)	48	2.39	3	0.49	1.62 ± 0.22	0.71 (0.28-1.25)	2.10 (1.19-3.01)	4.41 (3.08-5.80)	27.10 (18.74-48.51)
	72	1.31	3	0.72	1.71 ± 0.24	0.71 (0.28-1.24)	1.98 (1.11-2.85)	4.01 (2.76-5.28)	22.46 (15.88-38.64)
S. carpocapsae (IJ/Larvae)	48	2.68	3	0.44	1.68 ± 0.22	1.14 (0.53-1.83)	3.23 (2.07-4.38)	6.63 (4.98-8.51)	38.27 (25.97-70.56)
	72	2.23	3	0.52	1.54 ± 0.23	0.53 (0.16-1.02)	1.65 (0.80-2.53)	3.61 (2.31-4.92)	24.42 (16.63-45.85)
Cypermethrin (ppm)	48	1.68	4	0.79	1.69 ± 0.23	81.99 (39.12-129.91)	228.72 (148.37-312.08)	465.45 (344.55-620.74)	2642.16 (1715.91-5244.80)
	72	5.56	4	0.23	2.03 ± 0.27	71.87 (37.08-108.78)	169.17 (112.56-225.47)	306.05 (230.22-394.07)	1303.20 (923.58-2209.15)

*Confidence Limits.

جدول ۲. اثرات کشندگی غلظت‌های غیرکشنده نماتد *S. carpocapsae* با سایپرمترین به تنهایی و در تلفیق با یکدیگر علیه لاروهای کرم برگخوار چغندر قند، در زمان‌های مختلف.

Table 2. Mortality of *S. exigua* larvae exposed to single and combined sublethal concentrations of *S. carpocapsae* and cypermethrin, at different exposure times.

S. carpocapsae (IJ/Larvae)	Cypermethrin (ppm)	Times after exposure (Hrs.)															
		24				48				72				96			
		Mortality	χ^{2***}	D**	Response *	Mortality	χ^2	D	Response	Mortality	χ^2	D	Response	Mortality	χ^2	D	Response
-	320	6.7 ± 1.6	-	-	-	13.3 ± 3.3	-	-	-	20.0 ± 2.8	-	-	-	53.3 ± 3.3	-	-	-
-	160	0.0 ± 0	-	-	-	0.0 ± 0	-	-	-	0.0 ± 0	-	-	-	13.3 ± 4.4	-	-	-
8	-	33.3 ± 7.6	-	-	-	80.0 ± 7.6	-	-	-	80.0 ± 2.8	-	-	-	80.0 ± 2.8	-	-	-
4	-	33.3 ± 4.4	-	-	-	66.7 ± 1.6	-	-	-	66.7 ± 6.6	-	-	-	66.6 ± 6.6	-	-	-
2	-	0.0 ± 0	-	-	-	26.7 ± 4.4	-	-	-	33.3 ± 6	-	-	-	46.6 ± 6	-	-	-
8	320	6.7 ± 1.6	25.6	-31	An	46.7 ± 6.6	15	-36	An	66.7 ± 4.4	3.6	-17	An	80.0 ± 2.8	1.3	-10	Ad
8	160	20.0 ± 2.8	5.3	-13	An	86.7 ± 6.6	0.56	6.6	Ad	86.7 ± 6.6	0.56	6.6	Ad	93.3 ± 6.6	1.4	10	Ad
4	320	6.7 ± 1.6	25.6	-31	An	33.3 ± 6	20	-37	An	40.0 ± 5.7	15.2	-33	An	46.6 ± 1.6	17	-37	An
4	160	13.3 ± 3.3	12	-20	An	46.7 ± 7.6	6	-20	An	46.7 ± 5	6	-20	An	60.0 ± 5.7	1.74	-11	Ad
2	320	6.7 ± 1.6	0.11	-0.9	Ad	13.3 ± 1.6	14	-23	An	20.0 ± 2.8	15.2	-26	An	40.0 ± 2.8	16	-35	An
2	160	6.7 ± 1.6	32	5.6	Sy	13.3 ± 1.6	6.7	-13	An	20.0 ± 2.8	5.3	-13	An	33.3 ± 4.4	7.7	-20	An

*Sy: Synergistic, An: Antagonistic, Ad: Additive

**Difference between observed and expected mortality, If χ^2 value (df = 1) was statistically significant (df = 1), the negative amounts of D shows antagonistic and positive amounts shows synergistic effects.

***If χ^2 values (df = 1) were statistically significant (P value = 0.05) or non-significant, the effects will consider as non-additive (synergistic or antagonistic) or additive respectively.

جدول ۳. اثرات کشندگی غلظت‌های غیرکشنده نماتد *S. feltiae* با سایپرمترین به تنهایی و در تلفیق با یکدیگر علیه لاروهای کرم برگخوار چغندر قند، در زمان‌های مختلف.

Table 2. Mortality of *S. exigua* larvae exposed to single and combined sublethal concentrations of *S. feltiae* and cypermethrin, at different exposure times.

S. feltiae (IJ/Larvae)	Cypermethrin (ppm)	Times after exposure (Hrs.)															
		24				48				72				96			
		Mortality	χ^{2***}	D**	Response*	Mortality	χ^2	D	Response	Mortality	χ^2	D	Response	Mortality	χ^2	D	Response
-	320	0.0 ± 0	-	-	-	6.7 ± 3.3	-	-	-	60.0 ± 2.8	-	-	-	80.0 ± 5.7	-	-	-
-	160	0.0 ± 0	-	-	-	0.0 ± 0	-	-	-	26.7 ± 6.6	-	-	-	73.3 ± 3.3	-	-	-
8	-	26.7 ± 3.3	-	-	-	73.3 ± 6.6	-	-	-	80.0 ± 6	-	-	-	80.0 ± 5.7	-	-	-
4	-	26.7 ± 3.3	-	-	-	73.3 ± 3.3	-	-	-	73.3 ± 3.3	-	-	-	73.3 ± 3.3	-	-	-
2	-	1.0 ± 0	-	-	-	20.0 ± 5.7	-	-	-	26.7 ± 4.4	-	-	-	26.7 ± 3.3	-	-	-
8	320	20.0 ± 0	1.7	-6.6	Ad	53.3 ± 5.7	6.3	-22	An	73.3 ± 5.7	3.8	-18	Ad	80.0 ± 5.7	2.7	-16	Ad
8	160	13.3 ± 3.3	6.7	-13	An	40.0 ± 6.6	15	-33	An	60.0 ± 6.6	7.5	-25	An	66.7 ± 6.6	8.3	-28	An
4	320	20.0 ± 5.7	1.7	-6.6	Ad	46.7 ± 6.6	11	-28	An	53.3 ± 3.3	14.5	-36	An	60.0 ± 5.7	12.7	-34	An
4	160	13.3 ± 3.3	6.7	-13	An	26.7 ± 5.7	29	-46	An	33.3 ± 5.7	27.6	-47	An	46.7 ± 3.3	23	-46	An
2	320	13.3 ± 6.6	152	12	Sy	40.0 ± 3.3	8.5	15	Sy	60.0 ± 6.6	1.6	-10	Ad	86.7 ± 6.6	0.02	1.3	Ad
2	160	6.7 ± 3.3	32	5.6	Sy	13.3 ± 3.3	2.2	-6.6	Ad	20.0 ± 3.3	14.8	-26	An	33.3 ± 3.3	27.6	-47	An

*Sy: Synergistic, An: Antagonistic, Ad: Additive

**Difference between observed and expected mortality, If χ^2 value (df = 1) was statistically significant (df = 1) the negative amounts of D shows antagonistic and positive amounts shows synergistic effects.

***If χ^2 values (df = 1) were statistically significant (P value = 0.05) or non-significant, the effects will consider as non-additive (synergistic or antagonistic) or additive respectively.

جدول ۴. تاثیر غلظت‌های مختلف سایپرمترین بر نماتدهای بیمارگر حشرات.

Table 4. Effect of different concentrations of cypermethrin on entomopathogenic nematodes.

EPN	Cypermethrin (ppm)	%Mortality		
		24	48	72
S. carpocapsae	400	100	100	100
	200	65.75 ± 1.01	99.30 ± 0.29	100
	100	51.67 ± 2.41	99.29 ± 0.32	100
	Control	0	4.23 ± 0.86	2.15 ± 0.38
S. feltiae	400	99 ± 1.5	100	100
	200	51.32 ± 2.3	99.89 ± 0.08	100
	100	10.21 ± 1.2	63.95 ± 4.81	100
	Control	0	4.77 ± 1.24	3.42 ± 0.67

علاوه بر زمان، گونه آفت و جدایه نماتد نیز در نتیجه نهایی موثر هستند. به‌عنوان نمونه، در یک بررسی تاثیر جدایه‌ها و گونه-های مختلف نماتدهای بیمارگر حشرات علیه *Capnodis tenebrionis* (L. 1758) مورد بررسی و مشخص شد که پس از گذشت ۲۰ روز جدایه‌های مختلف گونه *S. feltiae* تاثیر بیشتری در مقایسه با *S. carpocapsae* علیه آفت نشان دادند (Morton & del Pino 2008). با این حال در بررسی دیگری که تاثیر نماتدهای بیمارگر مختلف بر مراحل مختلف رشدی بید سیب-زمینی بررسی شده بود مشخص شد که گونه *S. carpocapsae* موثرتر از گونه *S. feltiae* بوده و بخصوص تاثیر بر لاروهای سنین پایین بید سیب‌زمینی در گونه اول خیلی بیشتر از گونه دوم بود (Hassani-Kakhki *et al*. 2013). همچنین Özdemir *et al*. (2020)، تاثیر چند آفت‌کش و تلفیق آنها را بر میزان بقا و کارایی دو گونه نماتد بیمارگر حشرات *S. feltiae* و *H. bacteriophora* مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که کارایی گونه‌ها متفاوت بوده و *S. feltiae* کمتر تحت تاثیر آفت‌کش قرار گرفت.

در این بررسی مشخص شد که نماتدهای بیمارگر مورد بررسی نسبت به سایپرمترین حساسیت بالایی دارند و فقط در غلظت-های ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام آن هم در ۲۴ ساعت اول درصدی از جمعیت (٪۶۵-۱۰) زنده ماندند. و مشخص شد که حساسیت *S. carpocapsae* حتی از گونه *S. feltiae* بیشتر بود و همین موضوع در نتیجه تلفیق دو عامل هم مشخص شد (مقایسه جدول ۲ و ۳) و در تلفیق گونه *S. feltiae* با سایپرمترین اثرات سینرژیستی در مقایسه با *S. carpocapsae* بیشتر بود.

تفاوت حساسیت نماتدهای بیمارگر حشرات نسبت به آفت-کش‌های مختلف در تحقیقات متعددی بررسی شده است. در یک تحقیق کارایی نماتد بیمارگر *S. feltiae* علیه مینوز *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard, 1926) در حضور آفت‌کش‌های مصنوعی مختلف بررسی شده و نتایج نشان داد که برخی آفت-کش‌ها مانند تریکلرفن و دیمتوات تاثیر معنی‌داری بر مرگ و میر نماتدها نداشتند ولی آبامکتین، دلتامترین و هپتنفوس باعث مرگ و میر معنی‌داری در نماتدها شدند. کاربرد توام همگی آفت-کش‌ها در غلظت غیرکشنده، ضمن کنترل موثر مینوز تاثیر سوئی بر نماتدهای بیمارگر نداشت (Head *et al*. 2000). این نتیجه در تحقیق حاضر بدست نیامد و حتی نتیجه تلفیق دزهای غیرکشنده سایپرمترین با هر دو گونه نماتد اغلب آنتاگونیستی و یا تجمعی بود که مهم‌ترین دلیل آن تاثیر سوء سایپرمترین بر هر دو گونه نماتد بیمارگر می‌تواند باشد. در مطالعه دیگری Yan *et al*. (2012)، تاثیر حشره‌کش‌های مختلف را بر مرگ و میر و کارایی نماتد بیمارگر *S. carpocapsae* بررسی کردند، در بین آفت‌کش‌های مطالعه شده، سایپرمترین فقط ۱ درصد مرگ و میر و هیچ تاثیر سوئی در کارایی نماتد نشان نداد ولی در مطالعه مشابهی (Negrisoli *et al*. 2010a)، سایپرمترین تا ۱۰ برابر کشندگی علیه این لارو نشان داد که دلیل این تفاوت مربوط به جدایه‌های مختلف نماتد گزارش شده است. همچنین گزارش شد که آفت مورد بررسی و وضعیت فیزیولوژیک آن در کارایی تلفیق عوامل کنترل شیمیایی با نماتدهای بیمارگر حشرات موثر است (Laznik & Trdan 2014). تفاوت‌های مشاهده شده در تحقیقات مختلف به فرمولاسیون آفت‌کش و تفاوت در گونه و بخصوص جدایه‌های مختلف نماتدهای بیمارگر ربط داده شده است و تفاوت در حصول نتیجه موثرتر در تلفیق آفت‌کش‌ها با نماتدهای بیمارگر حشرات به زمان استفاده از دو عامل، وضعیت فیزیولوژیک حشره، سن لاروی و مرحله زیستی، تاثیر آفت‌کش بر زیست‌شناسی خود نماتد و یا باکتری‌های همزیست آن نسبت داده شده است (Koppenhofer *et al*. 2002; Laznik *et al*. 2012; Khan *et al*. 2018; Chavan *et al*. 2018; El-Ashry *et al*. 2020).

در مقایسه تاثیر دو گونه نماتد بر لاروهای کرم برگخوار چغندر قند مشخص شد که، پس از ۴۸ ساعت گونه *S. feltiae* با LC_{50} معادل ۴/۴۱ IJ/Larvae کشنده‌تر از نماتد گونه *S. carpocapsae* بود. ولی پس از ۷۲ ساعت نتیجه برعکس بوده و نماتد گونه *S. carpocapsae* با LC_{50} معادل ۳/۶۱ IJ/Larvae موثرتر از گونه دیگر بود. به‌عبارتی دو گونه نماتد با گذشت زمان، تاثیر مشابهی ندارند و زمان پایان زیست‌سنجی، در تعیین گونه موثرتر نقش اساسی دارد. به‌عبارتی در مورد نماتدهای بیمارگر حشرات نیز، زمان لازم برای حصول مرگ و میر مورد نظر می‌تواند متفاوت باشد و هر گونه نماتد برای از بین بردن لاروهای حشرات میزبان خود به زمان‌های متفاوتی نیاز دارند. که می‌تواند به سرعت نفوذ نماتد به بدن حشره، سرعت تکثیر باکتری‌های همزیست، نوع و میزان متابولیت‌های تولیدی توسط آنها و نوع تعاملی که با سامانه ایمنی بدن حشره دارند مربوط باشد (Glazer *et al.* 2001; Alonso *et al.* 2018; Salgado-Morales *et al.* 2019). این موضوع در مطالعات دیگری نیز اثبات شده است و تفاوت تاثیرپذیری گونه‌ها و ایزوله‌های مختلف از آفت‌کش‌ها نیز مشخص شده است. زمان لازم برای مرگ و میر لاروها و حشرات کامل سوسک برگخوار نارون *Xanthogaleruca luteola* (Muller, 1766) با نماتد گونه *S. feltiae* کمتر از گونه *S. carpocapsae* ثبت گردید (Zeinolabedin Fard *et al.* 2020). در یک بررسی تاثیر جدایه‌های مختلف نماتد بیمارگر *S. carpocapsae* بر *S. litura* بررسی و مشخص شد که پس از ۴۸ ساعت در غلظت ۱۰ IJ/Larvae در هر پتری، مرگ و میر کمتر از ۱۰ درصد بود ولی در زمان ۷۲ ساعت به ۳۰ درصد رسید (Yadav *et al.* 2017).

با وجود سازگاری نماتدهای بیمارگر حشرات با اغلب آفت-کش‌ها، زمان در معرض قرارگیری آنها با آفت‌کش‌های مختلف در مرگ و میر نماتدها تاثیر دارد (Bajc *et al.* 2017). در یک تحقیق تاثیر تلفیق سه گونه نماتد بیمارگر حشرات با چندین آفت‌کش بررسی شده و نتایج نشان داد که تلفیق سایپرمترین با نماتد *S. carpocapsae* به‌صورت تجمعی موثر بوده و اثرات کشندگی آفت‌کش‌های مختلف در زمانهای مختلف متفاوت بوده و با افزایش زمان، مرگ و میر نیز افزایش یافت. همچنین مشخص شد نتیجه تلفیق به گونه نماتد و نوع آفت‌کش بستگی دارد (Negrisoli *et al.* 2010b). در تحقیق حاضر نیز با گذشت زمان اثرات کشندگی هم نماتدهای بیمارگر حشراتی که در معرض سایپرمترین بودند (جدول ۴) و هم لاروهای کرم برگخوار چغندر قند افزایش یافت. در بررسی تاثیر نماتدهای بیمارگر حشرات و سایپرمترین بر لاروهای کرم برگخوار چغندر قند (جدول ۱) بیشترین مرگ و میر ۹۶ ساعت بعد از شروع زیست‌سنجی ثبت گردید.

استفاده از عوامل کنترل میکروبی در تلفیق با حشره‌کش‌های سازگار، در افزایش تاثیر و کاهش زمان تاثیر در بحث کنترل آفات مختلف نقش دارد. حشرات آفت تحت تاثیر آفت‌کش‌های مصنوعی قرار گرفته و نشو و نما، زیست‌شناسی، رفتار، فیزیولوژی و حتی سیستم ایمنی آنها تحت تاثیر قرار گرفته و اگر این عوامل راه ورود و عوامل دخیل در نشو و نما و بیماریزایی عوامل کنترل میکروبی را تسهیل یا بهبود ببخشد، کارایی کنترل افزایش پیدا خواهد کرد (Pelizza *et al.* 2018). ولی این در صورتی است که عامل کنترل شیمیایی، خود بیمارگرهای حشرات را تحت تاثیر قرار ندهد. این تاثیر می‌تواند به‌صورت غیرمستقیم باشد و لاروهای مسموم شده با آفت‌کش، بیولوژی و بیماریزایی نماتدهای بیمارگر را در داخل بدن میزبان تحت تاثیر قرار دهد. در بررسی حاضر تاثیر نامطلوب سایپرمترین در تلفیق با دو گونه نماتد به دلایل متعددی که در سطرهای قبل اشاره شد می‌تواند نسبت داده شود. Dhiman & Seth (2012) سازگاری نماتد بیمارگر *S. glaseri* را با لاروهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف سایپرمترین مورد مطالعه قرار دادند. نتایج تحقیقات ایشان نشان داد که در غلظت‌های غیرکشنده تا ۸۰ درصد بیماریزایی نماتد حفظ شده است ولی در غلظت‌های بالاتر تاثیر سوء سایپرمترین بر مرگ و میر و بیماریزایی نماتد معنی‌دار بود. در بررسی حاضر هر چند غلظت‌های غیرکشنده سایپرمترین مورد بررسی قرار گرفت ولی بخصوص در غلظت‌های بالای نماتد اثرات سینرژیستی مشاهده نشد که دلیل آن شاید به اثرات نامطلوب آن بر نماتدها مربوط باشد که کارایی آنها را کاهش داده است (مستقیم یا غیر مستقیم).

اثرات مثبت تلفیق حشره‌کش‌های مصنوعی با نماتدهای بیمارگر حشرات در مطالعات متعددی گزارش شده است؛ Khan *et al.* (2018)، تاثیر اسپاینوسد را بر دو گونه نماتد بیمارگر حشرات *H. indica* و *S. carpocapsae* بررسی کردند. نتایج این محققین نشان داد که نماتدها خیلی کم آن هم با گذشت زمان بیشتر (۷۲ ساعت) تحت تاثیر قرار گرفتند و جالب این بود که تلفیق نماتدهای بیمارگر با دزهای غیرکشنده اسپاینوسد موجب اثرات سینرژیستی خوبی شد. del Pino & Jove (2005)، تاثیر تیمار سه گونه نماتد بیمارگر حشرات *H. Bacteriophora* و *S. arenarium* (Artyukho vsky) با فیپرونیل را بررسی کردند و نتایج نشان داد که تاثیر فیپرونیل بر گونه‌های مختلف نماتد یکسان نبود و بیشترین تاثیر را گونه *S. arenarium* و کمترین

تاثیر را گونه *H. bacteriophora* (Poinar 1976) از این حشره-کش گرفت و همچنین مشخص شد که زمان در معرض قرارگیری در افزایش اثرات کشندگی در تمام نماتدها یکسان نبوده و در گونه *S. arenarium* با گذشت زمان، مرگ و میر به میزان بسیار زیادی افزایش یافت به‌طوری که پس از ۷۲ ساعت نزدیک ۹۰ درصد نماتدها از بین رفتند. یکی از دلایل اثرات آنتاگونیستی در تحقیق حاضر می‌تواند مدت زمان طولانی ارتباط نماتدها با سایپرمترین باشد چون به‌طور همزمان مورد استفاده قرار گرفتند. ناسازگاری بین نماتدهای بیمارگر حشرات و حشره‌کش‌های شیمیایی ممکن است به‌دلیل تأثیر سوء ماده فعال یا سایر مواد تشکیل دهنده حشره‌کش بر نماتد باشد. سمیت یک ماده فعال بر روی نماتدهای بیمارگر حشرات ممکن است توانایی نماتدها را در آلودگی میزبان هدف کاهش دهند (Amizadeh *et al.* 2019). همچنین Hara & Kaya (1983) گزارش دادند که سایر ترکیبات مورد استفاده در فرمولاسیون‌های تجاری حشره‌کش‌ها ممکن است اثر منفی بر باکتری‌های همزیست نماتدهای بیمارگر حشرات داشته باشد. به همین ترتیب Cuthbertson *et al.* (2003) به این نتیجه رسیدند که حساسیت نماتدهای بیمارگر حشرات نسبت به حشره‌کش‌ها ممکن است تحت تأثیر فرمولاسیون حشره‌کش مورد نظر نیز باشد.

هر چند مطالعات متعددی سازگاری بالای نماتدهای بیمارگر حشرات با آفت‌کش‌های مختلف از گروه‌های مختلف را نشان داده است و چه در مطالعات آزمایشگاهی و چه گلخانه‌ای و مزرعه‌ای تاثیر مطلوب تلفیق دو عامل و اثرات اغلب سینرژیستی گزارش شده است ولی نتایج تحقیق حاضر نشان داد که، موضوع باید با احتیاط و به‌صورت موردی و با توجه به جدایه نماتد بیمارگر و مرحله زیستی آفت و زمان استفاده از دو عامل بررسی گردد و موثرترین زمان و جدایه و آفت‌کش در بحث مدیریت تلفیقی انتخاب گردد. در این مطالعه از بین غلظت‌های مختلف سایپرمترین، غلظت‌های بالای آن باعث ۱۰۰ درصد مرگ ومیر در نماتدهای *S. carpocapsae* و *S. feltiae* شدند (جدول ۴). بنابراین نه تنها این حشره‌کش باید به‌عنوان ترکیب سمی برای نماتدهای گونه *S. carpocapsae* و *S. feltiae* در دزهای بالا در نظر گرفته شود بلکه تاثیرات غیرکشنده آنها در بیماریزایی و کارایی نماتدها باید قبل از ادغام آنها در برنامه‌های مدیریت آفات مورد توجه قرار گیرد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از نتایج پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول است که با حمایت معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه شهید مدنی آذربایجان انجام شده است، بدین وسیله از حمایت‌های ایشان تقدیر و تشکر می‌گردد.

References

Abbott WS, 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265–267.

Ahmad M, Arif MI, 2010. Resistance of beet armyworm *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) to endosulfan, organophosphorus and pyrethroid insecticides in Pakistan. *Crop Protection* 29: 1428–1433.

Alonso V, Nasrolahi S, Dillman AR, 2018. Host-specific activation of entomopathogenic nematode infective juveniles. *Insects* 9(59): 1–10.

Amizadeh M, Hejazi MJ, Niknam G, Askari-Saryazdi G, 2019. Interaction between the entomopathogenic nematode, Steinernema feltiae and selected chemical insecticides for management of the tomato leafminer, Tuta absoluta. Biocontrol 64: 709–721.

Bajc N, Drzaj U, Trdan S, Laznik Z, 2017. Compatibility of acaricides with entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis*). *Nematology* 19: 891–898.

Blümel S, Matthews GA, Grinstein A, Elad Y, 1999. Pesticides in IPM: selectivity, side-effects, application and resistance problems. In: Albajes R, Gullino ML, van Lenteren JC, Elad Y, (eds.), Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops, pp:150–167.

Caccia MG, Valle ED, Doucet ME, 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.

Capinera JL, 2001. Handbook of Vegetable Pests. Academic Press, San Diego. 729 pp.

Chavan SN, Somasekhar N, Katti G, 2018. Compatibility of entomopathogenic nematode *Heterorhabditis indica* (Nematoda: Heterorhabditidae) with agrochemicals used in the rice ecosystem. *Journal of Entomology & Zoology Studies* 6: 527–532.

Cuthbertson AGS, Head J, Walters KFA, Murray AWA, 2003. The integrated use of chemical insecticides and the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*, for the control of sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci*. *Nematology* 5: 713–720.

Del Pino FG, Jove M, 2005. Compatibility of entomopathogenic nematodes with Fipronil, *Journal of Helminthology* 79: 333–337.

Dhawan AK, Singh S, Kumar S, 2009. Integrated pest management (IPM) helps reduce pesticide load in cotton. *Journal of Agricultural Sciences and Technology* 11: 599–611.

Dhiman A, Seth RK, 2012. Compatibility of entomopathogenic nematode, *Steinernema glaseri* with cypermethrin. *Indian Journal of Entomology* 74:16–3.

Eivazian Kary N, Sanatipour Z, Mohammadi D, Koppenhöfer AM, 2018. Developmental stage affects the interaction of *Steinernema carpocapsae* and abamectin for the control of *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera, Gelechidae). *Biological Control* 122: 18–23.

El-Ashry RM, Ali MA, Ali AA, 2020. The joint action of entomopathogenic nematodes mixtures and chemical pesticides on controlling *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, F. Toxicology & Pest Control* 12(1): 101–116.

El-Wakeil N, Gaafar N, Sallam A, Volkmar C, 2013. Side effects of insecticides on natural enemies and possibility of their integration in plant protection strategies. In Insecticides, Development of Safer and More Effective Technologies; InTechOpen: London, UK, Pp. 1–56.

Glazer I, Alekseev E, Samish M, 2001. Factors affecting the virulence of entomopathogenic nematodes to engorged female *Boophilus annulatus* Ticks. *The Journal of Parasitology* 87 (4): 808–812.

Hara AH, Kaya HK, 1983. Toxicity of selected organophosphate and carbamate pesticides to infective juveniles of the entomogenous nematode *Neoplectana carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). *Environmental Entomology* 12: 496–501.

Hassani-Kakhki M, Karimi J, Hosseini M, 2013. Efficacy of entomopathogenic nematodes against potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) under laboratory conditions, *Biocontrol Science and Technology* 23: 146–159.

Head J, Walters KFA, Langton S, 2000. The compatibility of the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*, and chemical insecticides for the control of the South American leaf miner, *Liriomyza huidobrensis*, *BioControl* 45: 345–353.

Jagodič A, Trdan S, Laznik Z, 2019. Entomopathogenic nematodes: can we use the current knowledge on belowground multitrophic interactions in future plant protection programmes? – Review. *Plant Protection Sciences* 55: 243–254.

Khan RR, Rameesha A, Abid Ali A, Arshad M, Majeed S, *et al.* 2018. Compatibility of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) and the biocide, spinosad for mitigation of the armyworm, *Spodoptera litura* (F)(Lepidoptera: Noctuidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 28:1–8.

Koppenhöfer AM, Brown IM, Gaugler R, Grewal PS, Kaya HK, *et al.* 2000. Synergism of entomopathogenic nematodes and imidacloprid against white grubs: greenhouse and field evaluation. *Biological Control* 19:245–251.

Koppenhöfer AM, Cowles RS, Cowles EA, Fuzy EM, Baumgartener L, 2002. Comparison of neonicotinoid insecticides as synergists for entomopathogenic nematodes. *Biological Control* 24: 90–97.

Koppenhöfer AM, Kaya HK, 2001. Entomopathogenic nematodes and insect pest management. In: Advances in Biopesticide Research, Vol. 2 (O. Koul, (Ed.), Harwood Academic Publishers, Amsterdam, The Netherlands. Pp: 277–305.

Laznik Z, Trdan S, 2014. The influence of insecticides on the viability of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) under laboratory conditions. *Pest Management Sciences* 70: 784–789.

Laznik Z, Vidrih M, Trdan S, 2012. The effects of different fungicides on the viability of entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* (Filipjev), *S. carpocapsae* Weiser, and *Heterorhabditis downesi* Stock, Griffin & Burnell (Nematoda: Rhabditida) under laboratory conditions. *Journal of Agricultural Research* 72: 62–67.

McMullen JG, Stock SP, 2014. In vivo and in vitro rearing of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae). *Journal of Visualized Experiments* 91: 1–7.

Morton A, del Pino FG, 2008. Effectiveness of different species of entomopathogenic nematodes for biocontrol of the Mediterranean flatheaded rootborer, *Capnodis tenebrionis* (Linne) (Coleoptera: Buprestidae) in potted peach tree. *Journal of Invertebrate Pathology* 97: 128–133.

Musser FR, Nyrop JP, Shelton AM, 2006. Integrating biological and chemical controls in decision making: European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) control in sweet corn as an example. *Journal of Economic Entomology* 99: 1538–1549.

Negrisoli AS, Garcia MS, Negrisoli B, Bernardi, D. da Silva A, 2010a. Efficacy of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) and insecticide mixtures to control *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) in corn crops. *Crop Protection* 29: 677–683.

Negrisoli AS, Garcia MS, Negrisoli CRCB, 2010b. Compatibility of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) with registered insecticides for *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions. *Crop Protection* 29: 545–549.

Özdemir E, İnak E, Evlice E, Laznik Z, 2020. Compatibility of entomopathogenic nematodes with pesticides registered in vegetable crops under laboratory conditions. *Journal of Plant Diseases & Protection* 127: 529–535.

Pelizza SA, Schalamuk S, Simón MR. Stenglein SA, Pacheco-Marino SG, *et al.* 2018. Compatibility of chemical insecticides and entomopathogenic fungi for control of soybean defoliating pest, *Rachiplusia nu*. *Revista Argentina de Microbiología* 50: 189–201.

Peters A, 2003. Pesticides and entomopathogenic nematodes - current status and future work. *IOBC/wprs Bulletin* 26:107–110.

Sabino PHS, Sales FS, Guevara EJ, Moino A, Filgueiras CC, 2014. Compatibility of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) with insecticides used in the tomato crop. *Nematoda* 1: e03014. http://dx.doi.org/10.4322/nematoda.03014.

Salgado-Morales R, Martínez-Ocampo F, Obregón-Barboza V, Vilchis-Martínez K, Jiménez-Pérez A, *et al.*, 2019. Assessing the pathogenicity of two bacteria isolated from the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis indica* against *Galleria mellonella* and some pest insects. *Insects* 10(83): 1–14.

Sanjta S, Mehta PK, Chandel RS, 2020. Interaction effects of entomopathogenic nematodes and insecticides for the management of grubs of *Holotrichia longipennis* and *Brahmina coriacea*. *Journal of Environmental Biology* 41: 637–643.

Shapiro-Ilan DI, Gouge DH, Piggott SJ, Fife JP, 2006. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. *Biological Control* 38: 124–133.

Singh P, 1977. Artificial diets for insects, mites, and spiders. IFI/Plenum. 594 PP.

Sobhy HM, Abdel-Bary NA, Harras FA, Faragalla FH, Husseinen HI, 2020. Efficacy of entomopathogenic nematodes against *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and *Agrotis ipsilon* (H.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 30: 1–8.

Su J, Sun XX, 2014. High level of metaflumizone resistance and multiple insecticide resistance in field populations of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) in Guangdong Province, China. *Crop Protection* 61: 58–63.

Ulu TC, Sadic B, Susurluk IA, 2016. Effects of different pesticides on virulence and mortality of some entomopathogenic nematodes. *Invertebrate Survival Journal* 13:111–115.

Vashisth S, Chandel YS, Sharma PK, 2013. Entomopathogenic nematodes-A review. *Agricultural Reviews* 34 (3): 163–175.

Viteri DM, Linares AM, Flores L, 2021. Use of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* in combination with low-toxicity insecticides to control fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Florida Entomologist* 101(2): 327–329.

White GF, 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science* 66: 302–303.

Yadav S, Patil J, Sharma HK, 2017. Bio-efficacy of *Steinernema carpocapsae* against *Spodoptera litura* under laboratory condition. *International Journal of Pure & Applied Biosciences* 5 (2): 165–172.

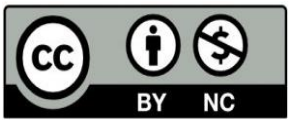
Yan X, Moens M, Han R, Chen S, Clercq PD, 2012. Effects of selected insecticides on osmotically treated entomopathogenic nematodes. *Journal of Plant Diseases and Protection* 119 (4): 152–158.

Yan X, Shahid Arain M, Lin Y, Gu X, Zhang L, *et al*, 2020. Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* 113(1): 64–72.

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 (12): 524−531.

Zhang P, Gao M, Mu W, Zhou C, Li XH, 2014. Resistant levels of *Spodoptera exigua* to eight various insecticides in Shandong, China. *Journal of Pesticide Science* 39(1): 7–13.

Zhong XL, Cong XP, Wang XP, Lei CL, 2011. A review of geographic distribution, overwintering and migration in *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Entomological Research Society* 13(3): 39–48.



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