

بررسی حساسیت مراحل لاروی، شفیرگی و پیش شفیرگی پروانه برگخوار چغندر قند (*Spodoptera exigua* H.) به نماتدهای *Steinernema carpocapsae* در شرایط آزمایشگاهی و بر روی گیاه چغندر قند

شهرام آرمیده^۱، محمد حسن صفرعلیزاده^۲، علی اصغر پور میرزا^۳ و رحیم پرویزی^۳

^۱دانشجوی دوره دکتری حشره شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه،

^۲عضو هیأت علمی، مرکز تحقیقات کشاورزی ارومیه

تاریخ دریافت: ۸۱/۱۱/۶؛ تاریخ پذیرش: ۸۴/۳/۱۷

چکیده

این تحقیق به منظور تعیین LC_{۵۰} نماتد *Steinernema carpocapsae* روی سنین مختلف لاروی و همچنین ارزیابی تأثیر این نماتد روی مراحل پیش شفیرگی و شفیرگی برگخوار چغندر قند (*Spodoptera exigua* H.) انجام گردید، بدین منظور برگخوار چغندر قند در شرایط آزمایشگاهی و روی غذای مصنوعی پرورش داده شد همچنین نماتدهای *Steinernema carpocapsae* به روش تله گالریا با استفاده از لاروهای سن آخر پروانه موم خوار بزرگ (*Galleria mellonella* L.) از خاک باغات سیب استخراج گردید. مرحله آلوده ساز نماتد (لاروهای سن سوم نماتد) بعد از خروج از لاشه لاروهای سن آخر پروانه موم خوار جدا گردید و بعد از تهیه غلظت‌های مختلف در محیط برگ، زیست‌سنجی روی سنین لاروی انجام گرفت. LC_{۵۰} پنج سن لاروی به ترتیب ۱۶۴، ۳۴۲، ۳۹۶، ۴۵۰ و ۴۸۱ عدد نماتد در یک دهم میلی‌لیتر برآورد گردید. در ارزیابی تأثیر غلظت‌های نماتد در مقادیر ۴×۱۰^۳، ۲×۱۰^۴ و ۴×۱۰^۴ عدد نماتد در لیتر به ترتیب ۲۶/۶، ۵۰ و ۸۰ درصد تلفات روی مرحله پیش شفیرگی و ۱۶/۶، ۲۳/۳ و ۳۳/۳ درصد تلفات روی مرحله شفیرگی مشاهده گردید. با توجه به حساسیت بالای پیش شفیره‌های برگخوار چغندر قند، کاربرد نماتد روی این مرحله علاوه بر مرحله لاروی قابل توصیه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پروانه برگخوار چغندر قند، *Steinernema carpocapsae*، LC_{۵۰}

مقدمه

با توجه به اثرات سوء کاربرد بی‌رویه سموم شیمیایی در محیط‌زیست و همچنین اثرات مخرب آن در سلامتی انسان (هرمن، ۱۹۹۳؛ ریچاردسون، ۱۹۹۶)، محققین را بیش از پیش به فکر استفاده از عوامل غیر شیمیایی در کنترل آفات کشاورزی انداخته و در این راستا استفاده از عوامل بیولوژیک در سرلوحه و دستور کار کنترل آفات قرار گرفته است. تحقیقات و بررسی‌های فراوانی در این

زمینه در حال انجام است و بکارگیری این عوامل در قالب کنترل تلفیقی توصیه شده است. این آفت با تغذیه از برگ‌های گیاه چغندر قند خسارت شدیدی به محصول وارد کرده و در مواردی با تغذیه از مزارع کرپه حتی موجب تخریب کامل آن گردیده است (خیری، ۱۳۶۴). نماتدهای *Steinernema carpocapsae* پارازیت اجباری حشرات بوده و با باکتری *Xenorhabdus nematophilus* به صورت همزیست زندگی می‌کنند

(کایا و گوگلر، ۱۹۸۵). این باکتری‌ها در روده لاروهای سن سوم نماتد که به مرحله آلوده‌ساز نماتد معروف هستند فعالیت می‌کنند، حشرات میزبان حساسیت بالایی به لاروهای سن سوم دارند و این لاروها از طریق منافذ طبیعی بدن (دهان، مخرج و سوراخ‌های تنفسی) وارد حفره عمومی میزبان می‌شوند و باکتری‌ها را در آن رها می‌سازند و باکتری‌ها ظرف ساعت تولید عفونت باکتریایی می‌کنند و میزبان را از پا در می‌آورند، در این مرحله نماتدها شروع به تغذیه از باکتری‌ها و بافت‌های میزبان می‌نمایند و ۲-۳ نسل در داخل بدن میزبان سپری می‌کنند تا اینکه نسل جدید لاروهای سن سوم لاشه را ترک و بدنبال میزبان دیگری می‌گردند (کایا و گوگلر، ۱۹۸۵). این نماتدها پاتوژن تعداد زیادی از راسته‌های مختلف حشرات بوده و از خصوصیات مهم آنها می‌توان به تکثیر سریع، کاربرد آسان، قدرت جستجوی میزبان، بی‌خطر بودن به ارگانسیم‌های غیرهدف و محیط‌زیست را نام برد (گوگلر و کایا، ۱۹۹۹)، همچنین آنها را می‌توان به‌عنوان یک سینترزیست قابل اختلاط با سایر عوامل بیولوژیک نظیر ویروس‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها در برنامه مدیریت آفات به‌کار برد (باری و کایا، ۱۹۸۴؛ گوتمن و همکاران، ۱۹۹۵). این تحقیق نیز با هدف بررسی کارایی نماتد *carpocapsae Steinernema* در کنترل یکی از آفات مهم یعنی پروانه برگ‌خوار چغندر قند انجام یافت.

مواد و روش‌ها

پرورش میزبان: برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی نیاز به لاروهای سن سوم می‌باشد، لاروهای پروانه برگ‌خوار چغندر قند روی غذای مصنوعی متشکل از لوبیا چیتی، آگار، مخمر آبجوی خشک، متیل پراپیل‌پروکسی بنزوات، اسیدسوربیک، اسید اسکوربیک، فرمالدئید و آب مقطر در دمای 26 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 57 ± 3 با ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی پرورش یافت (سینگ و مور، ۱۹۸۵)، و سپس سنین لاروی برحسب اندازه‌گیری

عرض کپسول سر از هم تفکیک و در آزمایش‌ها بکار برده شد.

پاتوژن: نماتدهای مورد استفاده در این تحقیق به روش تله گالریا^۱ از خاک باغ‌های سیب استان آذربایجان غربی استحصال و در مؤسسه تحقیقات و بررسی آفات استان آذربایجان غربی توسط مهندس پرویزی جنس *Steinernema carpocapsae* تشخیص داده شد. در این روش از لاروهای سن آخر پروانه موم خوار (*Galleria mellonella* L.) که حساس به نماتدها می‌باشند، به‌عنوان تله استفاده شد (ماراچک، ۱۹۸۰). در همین راستا نمونه خاک از باغ‌های مختلف استان جمع‌آوری و در جعبه‌های پلاستیکی به ابعاد $6 \times 5 \times 8$ سانتی‌متر با مقداری رطوبت ریخته شد، سپس تعدادی لارو سن آخر موم خوار که روی موم‌های کهنه پرورش یافته بودند داخل جعبه‌ها رهاسازی و درب آنها مسدود گردید. بعد از ۷۲ ساعت لاروهای مشکوک به آلودگی که ظاهری متورم داشتند، جمع‌آوری و بعد از شستشو در آب مقطر به ظروف پتری شیشه‌ای با قطعه‌ای کاغذ واتمن خیس انتقال داده شد، بعد از گذشت ۴۸ ساعت از انتقال لاروهای آلوده به ظروف، لاروها در زیر بینوکولار بررسی و با مشاهده نماتد روی آنها و یا داخل پتری اقدام به تکثیر روی لاروهای سن آخر موم خوار به روش درون ارگانیسمی گردید (دوتکی و همکاران، ۱۹۶۴)، برای اینکار لاروهای موم خوار به‌صورت انبوه در محیط حاوی نماتد ریخته شد. بعد از گذشت ۶-۵ روز لاشه لاروهای موم خوار متلاشی شده و لاروهای سن سوم نماتد از لاشه خارج می‌شوند، سپس لاروهای سن سوم را به‌وسیله الک ۳۰۰ مش جدا کرده و به‌عنوان محلول مادر و با غلظت بالا جهت تهیه غلظت‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفتند.

تهیه غلظت‌های مختلف نماتد: جهت تعیین LC_{۵۰} نماتدها روی سنین لاروی برگ‌خوار چغندر قند به غلظت‌های مختلف از نماتد نیاز بود، برای اینکار از

استفاده از فرمول آبوت اصلاح گردید و نتایج توسط نرم افزار Mstac برنامه Probit آنالیز و LC₅₀ هر سن لاروی به دست آمد.

تأثیر غلظت‌های نماتد روی مراحل پیش شفیره و شفیرگی برگخوار چغندر قند: در ادامه آزمایش‌ها اقدام به بررسی تأثیر غلظت‌هایی از نماتد روی مراحل پیش شفیرگی و شفیرگی برگخوار چغندر قند جهت مقایسه حساسیت آنها به نماتدها در شرایط آزمایشگاهی و در محیط خاک گردید. در این آزمایش‌ها چهار تیمار شامل غلظت‌های $10^3 \times 10^4$ ، 2×10^4 و 4×10^4 نماتد در لیتر و تیمار شاهد (آب مقطر) هر تیمار در سه تکرار و هر تکرار روی ۱۰ عدد شفیره و سپس همین غلظت‌ها روی پیش شفیره‌ها تأثیر داده شد. جهت ارزیابی تأثیر روی مرحله پیش شفیره لاروهای سن آخر برگخوار چغندر قند به محیط حاوی خاک استریل شده انتقال داده شدند تا تبدیل به پیش شفیره گردند، سپس این پیش شفیره‌ها به تعداد ۱۰ عدد به داخل جعبه‌هایی به ابعاد $16 \times 11 \times 5$ سانتی‌متر که تا ارتفاع ۳ سانتی‌متر از خاک ضد عفونی پر شده بودند، قرار داده شد. نماتدها در غلظت‌های ذکر شده بوسیله میکرواپلیکاتور در هر جعبه به مقدار ۱۵ سانتی‌متر مکعب روی تیمارها ریخته شد و روی تیمار شاهد نیز آب مقطر بکار رفت. تیمارها تا ۶ روز مورد بررسی و بازدید قرار گرفته و درصد تلفات پیش شفیره‌ها یادداشت گردید، در ضمن معیار مرگ پیش شفیره‌ها عدم تبدیل شدن به شفیره و وجود نماتد در لاشه آنها بود. همچنین جهت ارزیابی تأثیر غلظت‌های 10^4 ، 2×10^4 و 4×10^4 نماتد در لیتر روی مرحله شفیرگی برگخوار چغندر قند، شفیره‌هایی که یک روز از تشکیل آنها گذشته بود، جمع‌آوری و با همان روش و شرایطی که در مرحله پیش شفیرگی ذکر شد، غلظت‌های نماتد و شاهد روی آنها تأثیر داده شد. درصد تلفات شفیره‌ها بعد از ۶ روز شمارش و یادداشت گردید، در ضمن معیار مرگ شفیره‌ها عدم تبدیل شدن به حشره کامل و وجود نماتد در لاشه آنها بود. داده‌های حاصل از مرگ و میر شفیره‌ها و پیش شفیره‌ها بعد از اعمال دستورات تبدیل $\text{Arcsin} \sqrt{X}$ در قالب

محلول مادری که از نماتدهای سن سوم تهیه شده بود، استفاده شد. یک لیتر محلول غلیظ از لاروهای سن سوم نماتد را تهیه و با استفاده از روش رقیق‌سازی محلول یعنی برداشتن نیمی از محلول مادر و افزودن آب مقطر به همان اندازه غلظت را به نصف رسانده و این کار تا چندین مرتبه انجام شد تا غلظت‌های مختلف از نماتدها تهیه گردید، سپس با استفاده از میکرواپلیکاتور و لام گلبول شمار و از روی تعداد نماتد در محلول رقیق غلظت‌های سایر محلول‌ها تعیین گردید. در شمارش محلول رقیق میکرواپلیکاتور به نحوی تنظیم شد، که ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول که قبلاً خوب بهم‌زده شده و محلول یکنواختی به دست آمده را برداشته و روی لام گلبول شمار تعداد نماتدها در زیر میکروسکوپ شمارش و تخمین زده شد، برای افزایش ضریب دقت شمارش در ۱۰ تکرار و میانگین آن به عنوان مقدار دقیق غلظت انتخاب گردید. از محلول‌های به دست آمده غلظت‌های مورد نظر را تهیه و در آزمایش‌ها به کار برده شد.

تعیین LC₅₀ نماتد روی سنین لاروی برگخوار چغندر قند: بعد از تعیین حداقل و حداکثر غلظت که کمترین و بیشترین تأثیر را روی سنین لاروی داشته باشد، اقدام به تعیین ۴ غلظت در فاصله ما بین غلظت‌های حداقل و حداکثر شد و بررسی‌ها با ۷ تیمار شامل (۶ غلظت نماتد به همراه یک تیمار شاهد) و هر تیمار در سه تکرار انجام شد، بدین ترتیب ابتدا برگ‌های چغندر قند در درون ظروف پلاستیکی به ابعاد $10 \times 8 \times 5$ به خوبی محصور گردید، سپس برگ‌ها را با ۵ سی‌سی از هر کدام از محلول‌های نماتد که به آنها ۰/۰۱ درصد پخش‌کننده Nufilm-۱۷ اضافه شده بود، آغشته کرده و داخل هر تکرار ۱۰ عدد لارو هم سن که براساس اندازه‌گیری عرض کپسول سر تفکیک شده بودند رهاسازی گردید، سپس دهانه آنها با پارچه توری پوشانده شد. بررسی‌ها در شرایط آزمایشگاهی انجام گردید، و ارزیابی مرگ و میر با عکس‌العمل لاروها به ضربات سوزن به ابتدا و انتهای بدن لارو سنجیده شد، و تلفات حاصل هر سن لاروی با

طرح کورت‌های کاملاً تصادفی و با برنامه ANOVA-1 تجزیه واریانس شد و میانگین تیمارها بوسیله آزمون جدید چند دامنه‌ای دانکن مقایسه گردید.

نتایج و بحث

محاسبه LC₅₀ حاصل از تأثیر نماتدها روی سنین لاروی برگخوار چغندر قند: نتایج مرگ و میر لاروها برای سن اول و دوم تا ۹۶ ساعت و برای لاروهای سن سوم، چهارم و پنجم تا ۱۴۴ ساعت مطابق جدول ۱ حاصل گردید.

بعد از تشخیص و شمارش مرگ و میر لاروها داده‌های حاصل تجزیه پروبیت و مقدار LC₅₀ و معادله خط رگرسیون مطابق جدول ۲ تعیین گردید.

با توجه به LC₅₀ محاسبه شده برای سنین اول تا پنجم لاروی برگخوار چغندر قند غلظت‌های به دست آمده روند افزایش LC₅₀ از سن اول به سن دوم تند بوده ولی بعد از سن دوم این افزایش خیلی کند و جزئی شده است که نشانگر حساسیت سنین بالا به غلظت‌های نماتد می‌باشد، و با نتایج حاصل از کاربرد نماتدها روی برگخوار چغندر قند توسط کایا (۱۹۸۵) مطابقت دارد. در رابطه با ارتباط LC₅₀ حاصله و سنین لاروی چنین به نظر می‌رسد، که میزان تحرک، تغذیه، افزایش حجم بدن در نتیجه افزایش اندازه و ابعاد منافذ طبیعی (دهان، مخرج و سوراخ‌های تنفسی) در سنین بالا و همچنین به احتمال قوی حساسیت سنین بالای لاروی به باکتری همزیست نماتد (*Xenorhabdus nematophilus*) از دلایل عمده کاهش LC₅₀ محاسبه شده در سنین بالا است. در نتیجه رابطه مستقیمی بین اندازه مجاری ورودی نماتدها و قدرت آلوده شدن میزبان وجود دارد و هرچه مجراهای ورودی لاروها بزرگ باشد میزان آلوده شده میزبان در مدت زمان معین بیشتر خواهد بود. در همین رابطه در بررسی صورت گرفته توسط گلازر و ناون (۱۹۹۰) و روی قدرت آلوده‌سازی نماتدهای *Steinernematidae* و *Heterorhabditidae* روی

سنین لاروی پروانه هلیوتیس نتایج نشان داده که لاروهای سنین بالا نسبت به لاروهای سن پایین به غلظت‌های نماتد حساس‌تر می‌باشند. همچنین در بررسی گوگلر و مولی (۱۹۸۱) روی قدرت تأثیر نماتدهای *Steinernematidae* روی چهار سن لاروی مگس *Simulium vittatum* که لاروهای سن آخر نسبت به غلظت‌های نماتد در مقایسه با لاروهای سن پایین حساس‌تر می‌باشند، بنابراین نتایج هر دو بررسی فوق با این تحقیق مطابقت داشته و در هر دو آزمایش لاروهای سنین بالا حساس‌تر از لاروهای سنین پایین نشان می‌دهند. در مقایسه نتایج این آزمایش با بررسی سایر محققین همچنین در تحقیقی که روی تأثیر غلظت‌های نماتد *Steinernematidae* روی لاروهای سنین مختلف پروانه هلو *Artichoke plume* انجام شده به این نتیجه رسیدند که لاروهای سنین بالا (سن سوم و چهارم) نسبت به لاروهای سنین پایین به غلظت‌های نماتد حساس‌تر می‌باشند، نتیجه‌ای مشابه این تحقیق حاصل گردید که موید حساسیت سنین بالای لاروی و نقش اندازه و شکل سوراخ‌های طبیعی بدن در میزان آلودگی به نماتد می‌باشد (باری و کایا، ۱۹۸۴). در بررسی تأثیر نماتدهای *Steinernematidae* روی شفیره پروانه‌های *S. exigua*، *Trichoplusia ni* و *Pectinophora gossypiella* توسط هنبری و همکاران (۱۹۹۵) نتایج نشان داد که میزان تلفات شفیره‌های هر سه نوع پروانه با شکل و اندازه منافذ تنفسی آنها رابطه مستقیم دارد و با توجه به اندازه سوراخ تنفسی سه نوع شفیره، سوراخ تنفسی در شفیره کرم قوزه پنبه کوچک‌تر از شفیره برگخوار چغندر قند و آن هم کوچک‌تر از پروانه کلم است و حساسیت آنها نیز به همین ترتیب با بزرگی سوراخ تنفسی بیشتر می‌شود و این رابطه در مورد سنین لاروی نیز صادق می‌باشد. از نکات دیگر این تحقیق تعیین LC₅₀ نماتدهای *Steinernematidae* در محیط برگ می‌باشد که از لحاظ شرایط رطوبتی و دما با سایر محیط‌ها نظیر خاک متفاوت بوده و رطوبت بالایی را جهت تحرک و

میزبان‌یابی لازم دارد و در همین رابطه در ارزیابی صورت گرفته توسط باربرچک و کایا (۱۹۹۱) در بررسی تأثیر توام نماتدهای *Steinernematidae* و قارچ *Beauveria bassiana* روی سنین لاروی برگخوار چغندر قند غلظت نماتد بکار رفته در دامنه ۱ تا ۲۵۰ عدد نماتد در ۰/۱ میلی‌لیتر بوده که با توجه به شرایط رطوبتی مناسب خاک دامنه نماتد کاربردی در مقایسه با این تحقیق پایین‌تر بوده است. زیرا همانطوریکه در قبل نیز اشاره شد شرایط محیط برگ و کاهش رطوبت از دلایل بالا بودن دامنه نماتد بکار رفته در تحقیق حاضر می‌باشد. با توجه

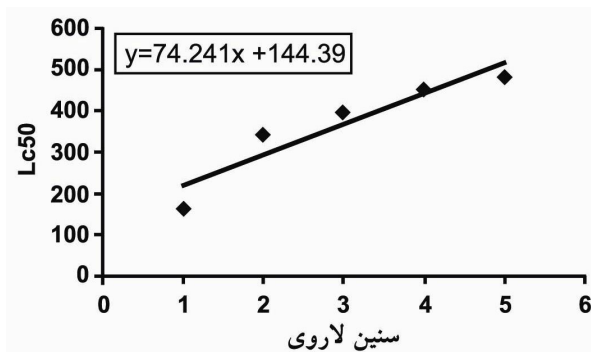
به اینکه جمعیت آفت برگخوار چغندر قند دارای سیکل منظمی نیست تا بتوان از تک تک معادلات حاصله از دو متغیر غلظت‌های نماتد و سنین لاروی در زمان‌های مختلف مبارزه بکار گرفت، بنابراین لازم است از معادله خطی بهره گرفت تا ترکیبی از سنین مختلف لاروی را در برگ‌برد، که با ترسیم معادله خط رگرسیون مابین دو متغیر سنین لاروی و LC_{50} حاصله برای هر سن می‌توان معادله خطی را به دست آورد که به‌عنوان یک مدل و الگو در کنترل جمعیت آفت به کار رود (شکل ۱).

جدول ۱- نتایج مرگ و میر لاروهای سنین مختلف پروانه برگخوار چغندر قند در اثر تأثیر غلظت‌های نماتد.

درصد مرگ و میر لاروها					تعداد لارو	غلظت‌های نماتد (تعداد در ۰/۱ میلی‌لیتر)					
۹۶ ساعت		۱۴۴ ساعت				سنین لاروی					
سن اول	سن دوم	سن سوم	سن چهارم	سن پنجم	کل	یک تکرار	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم
۶/۶	۶/۶	۶/۶	۶/۶	۱۰	۳۰	۱۰	۵	۱۵	۲۰	۲۰	۴۰
۱۰	۱۰	۱۳/۳	۱۳/۳	۱۶/۶	۳۰	۱۰	۱۱	۳۱	۳۹	۳۹	۷۲
۱۳/۳	۲۶/۶	۲۳/۳	۱۶/۶	۲۰	۳۰	۱۰	۲۳	۶۲	۸۰	۸۰	۱۳۲
۲۰	۳۶/۶	۳۶/۶	۳۰	۳۰	۳۰	۱۰	۵۲	۱۲۵	۱۵۸	۱۵۸	۲۴۱
۵۰	۴۳/۳	۵۰	۴۳/۳	۵۰	۳۰	۱۰	۱۱۴	۲۵۰	۳۱۶	۳۱۶	۴۳۹
۶۰	۵۶/۶	۵۶/۶	۶۰	۶۶/۶	۳۰	۱۰	۲۵۰	۵۰۰	۶۴۰	۶۴۰	۸۰۰

جدول ۲- LC_{50} و معادله خط رگرسیون سنین لاروی حاصل از تأثیر غلظت‌های نماتد.

معادله خط رگرسیون	LC_{50} (تعداد نماتد در ۰/۱ میلی‌لیتر)	سنین لاروی
$Y = 1/9802181 + 1/3721899 X$	۱۶۴	سن اول
$Y = 2/0141672 + 1/1782415 X$	۳۴۲	سن دوم
$Y = 1/8693278 + 1/2049384 X$	۳۹۶	سن سوم
$Y = 1/5629147 + 1/2951930 X$	۴۵۰	سن چهارم
$Y = 1/0660710 + 1/4663206 X$	۴۸۱	سن پنجم



شکل ۱- رابطه سنین لاروی و LC_{50} محاسبه شده.

جدول ۳- درصد تلفات پیش شفیره و شفیره برگخوار چغندر قند در اثر تأثیر غلظت‌های نماتد.

درصد تلفات شفیره‌ها	درصد تلفات پیش شفیره‌ها	تعداد شفیره		تعداد پیش شفیره		غلظت‌های نماتد (تعداد در لیتر)
		یک تکرار	کل	یک تکرار	کل	
۱۳/۳	۱۰	۱۰	۳۰	۱۰	۳۰	شاهد
۱۶/۶	۲۶/۶	۱۰	۳۰	۱۰	۳۰	4×10^3
۲۳/۳	۵۰	۱۰	۳۰	۱۰	۳۰	2×10^4
۳۳/۳	۸۳/۳	۱۰	۳۰	۱۰	۳۰	4×10^4

داده‌های حاصل از مرگ و میر شفیره‌ها و پیش شفیره‌ها مطابق جدول (۴) آنالیز گردید.

جدول ۴- تجزیه واریانس تأثیر غلظت‌های نماتد روی مراحل شفیره و پیش شفیرگی برگخوار چغندر قند.

F	شفیره			F	پیش شفیره			منابع
	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی		میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	
۱۳۶/۶۶**	۱۲۵۴/۵۱۸	۳۷۶۳/۵۵۳	۳	۶/۴۶ *	۱۱۱/۵۸۶	۳۴۳/۷۵۹	۳	تیمار
	۹/۱۸۰	۷۳/۴۳۸	۸		۱۷/۶۹۴	۱۴۱/۵۵۴	۸	خطا
	۱۲۵۴/۵۱۸	۳۸۳۶/۹۹۱	۱۱			۴۸۵/۳۱۴	۱۱	کل
			۷/۵۵				۱۵/۴۴	CV %

** با اطمینان ۹۹٪ بین تیمارها از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری دیده می‌شود.

* با اطمینان ۹۵٪ بین تیمارها از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری دیده می‌شود.

و 4×10^3 تأثیر چندانی روی شفیره‌ها نداشته و غلظت 4×10^4 به تأثیر بالا در میان غلظت‌های ذکر شده ولی در مقایسه با مرحله پیش شفیره از درصد کنترلی پایین (۳۳/۳) درصد) برخوردار است. در رابطه با تأثیر غلظت‌های نماتد روی پیش شفیره و شفیره درصد تلفات بالا در مرحله پیش شفیرگی در مقایسه با مرحله شفیرگی مشاهده گردید که علت کاهش تلفات در مرحله شفیرگی نسبت به مرحله پیش شفیرگی کاهش ابعاد سوراخ‌های تنفسی و کیتینی شدن بافت‌های بین حلقه‌ای در مرحله شفیرگی می‌باشد که این نتیجه با نتایج حاصل از بررسی‌های کایا و هارا (۱۹۸۱) روی حساسیت شفیره تعدادی از حشرات نسبت به نماتدها مطابقت نشان می‌دهد.

با توجه به بررسی حاضر و با نگرش صحیح به امر کنترل بیولوژیک امید است در آینده نزدیک این روش جایگاه و نقش مهمی در کنترل آفات گیاهی داشته باشد و

تأثیر غلظت‌های نماتد روی پیش شفیره و شفیره برگخوار چغندر قند: نتایج تأثیر غلظت‌های نماتدها روی مراحل پیش شفیره و شفیره برگخوار چغندر قند مطابق جدول ۳ حاصل گردید.

در بررسی‌های تشریحی حشرات کامل تفریخ شده از تیمارها هیچ نماتدی مشاهده نگردید، ولی در لاشه پیش شفیره و شفیره‌های مرده نماتدهای بالغ و لاروهای سن سوم مشاهده گردید. گروه‌بندی تیمارها نشان داد که تأثیر غلظت 4×10^4 روی پیش شفیره‌ها تفاوت معنی‌دار با هر سه تیمار دیگر داشته و در گروه مستقل از سه تیمار دیگر قرار می‌گیرد و با توجه به درصد تلفات، غلظت 4×10^4 حدود ۸۳/۳ درصد از پیش شفیره‌ها را کنترل می‌نماید که این میزان کنترل در حد بسیار قابل قبولی است، همچنین در بررسی تأثیر غلظت‌های نماتد روی شفیره‌ها غلظت 2×10^4 با غلظت 4×10^3 و تیمار شاهد در یک گروه قرار گرفته است و می‌توان نتیجه گرفت که غلظت‌های 2×10^4

تشکر و قدردانی

از مدیریت و مسئولین محترم دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه به جهت فراهم نمودن امکانات اجرای تحقیق حاضر تشکر و قدردانی می‌گردد.

در زمینه بکارگیری نماتدها نیز با بررسی‌های بیشتر بتوان در امر کنترل آفات به‌عنوان یک عامل بالقوه در مبارزه بیولوژیک استفاده کرد.

منابع

1. خیری، م. ۱۳۶۴. بررسی شرایط نشو و نماي برگ‌خوار چغندر قند (*Spodoptera exigua* H.) و علل تغییرات جمعیت آن. پایان‌نامه دکترای گیاهپزشکی، حشره شناسی کشاورزی، دانشگاه تهران. ۱۸۴ صفحه.
2. Barbercheck, M.E., and Kaya, H.K. 1991. Competitive interaction between entomopathogenic nematodes and *Beveria bassiana* (Deuteromycotina: Hypomycotina) in soilborn larvae of *Spodoptera exigua* (Lep: Noctuidae). Environ. Entomol. 20: 707- 712.
3. Bari, M.A., and Kaya, H.K. 1984. Evaluation of the entomogenous nematode *Neoplectana carpocapsae* (= *Steinernema felitiae*) Weiser (Rhabditida: Steinernematidae) and bacterium *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* for suppression of the artichoke plume moth (Lepidoptera: Pterophoridae). J. Econ. Entomol. 77: 225-229.
4. Dutky, S.R., Thampson, J.V., and Cantwell, G.E. 1964. A technique for the mass propagation of the DD-136 *Steinernema carpocapsae* nematode. J. Insect Pathol. 6: 417- 422.
5. Gaugler, R.H., and Kaya, K. 1999. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control . CRC Press, Boca Raton, FL. 365pp.
6. Gaugler, R., and Molly, D. 1981. Instar susceptibility of *Simulium vittatum* (Diptera: Simuliidae) to the entomogenous nematode *Neoplectana carpocapsae*. J. Nematol. 13: 1-5.
7. Glazer, I. 1992. Infectivity of Steinernematid and Heterorhabditid nematodes to the insect. Invertebr. Pathol. 59(1): 90-94.
8. Glazer, I., and Navon, A. 1990. Activity and persistence of entomoparasitic nematodes tested against *Heliothis armigera* (Lep: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 83: 1795-1800.
9. Gotham, A.A.A., Sikorowski, P.P., and Lawrence, G.W. 1995. Interactive effect of *Steinernema carpocapsae* and *Spodoptera exigua* nuclear polyhedrosis virus on *Spodoptera exigua* larvae. J. Invertebr. Pathol. 66: 270-276.
10. Henneberry, T.J., Lindgren, J.E., Forlow Jech, L., and Burke, R.A. 1995. Pink bollworm (Lep: Gelechiidae), cabbage looper, beet armyworm (Lep: Noctuidae), pupal susceptibility to Steinernematidae nematodes (Rhabditida: Steinernematidae). J. Econ. Entomol. 88 (4): 835-839.
11. Herrman, J. 1993. The role of the world health organization in the evaluation of pesticides. Regul. Toxicol. and Pharmacol. 17(3): 182-186.
12. Kaya, H.K. 1985. Susceptibility of early larval stage of *Pseudaletia unipuncta* and *Spodoptera exigua* (Lep: Noctuidae) to the entomopathogenic nematodes *Steinernema filitiae* (Rhabditida: Steinernematidae). J. Invertebr. Pathol. 46: 58-62.
13. Kaya, H.K., and Gaugler, R. 1993. Entomopathogenic Nematodes. Annu. Rev. Entomol. 38: 181-200.
14. Kaya, H.K., and Hara, A.H. 1981. Susceptibility of various species of lepidopterous pupae to the entomogenous nematode *Neoplectana carpocapsae*. J. Nematol. 13: 291-294.
15. Maracek, Z. 1980. The use of Galleria trap for obtaining nematode parasitism of insect in Czechoslovakia (Lepidoptera: Nematoda, Steinernematidae). Acta Bohemoslov, 77: 378-382.
16. Richardson, H. 1996. Pesticide application and community health hazard. Agriculture Engineering Australia, 25(2): 13-19.
17. Singh, P., and Moore, R.F. 1985. Handbook of Insect Rearing .Elsevier Science Publishers, 488pp.

Studies on the susceptibility of different larval, prepupa and pupa stages of beet armyworm (*Spodoptera exigua* H.) to *Steinernema carpocapsae* on sugar beet under laboratory conditions.

¹Sh. Aramideh, ²M.H. Safaralizadeh, ²A.A. Pourmirza and ³R. Parvizi

¹Ph.D Student of Entomology, Faculty of Agriculture, Uremia University, ²Faculty of Agriculture, Uremia Univ., ³Organization for Scientific in Agriculture Research Center of Uremia

Abstract

The present study was conducted to determine LC₅₀ values of different concentrations of *Steinernema carpocapsae* on various larval instars and compared the efficacy nematodes on prepupa and pupa stages of beet armyworm (*Spodoptera exigua*). The beet armyworm were reared in the laboratory on artificial diet. The nematodes were isolated from apple orchards soil by Galleria trap and reared on last instar larvae of greater wax moth (*Galleria mellonella* L.). Infective juveniles (3rd stage nematode larvae) collected after emergency from the larval cadavers. Different concentrations of nematodes prepare to determine LC₅₀ values and used in bioassay tests on the leaves of sugar beet. The estimated LC₅₀ values of five larval instars of armyworm were 164, 342, 396, 450 and 481 nematodes per 0.1 ml respectively. The effects of nematodes concentrations ranging from 4×10³, 2×10⁴ and 4×10⁴ nematodes per liter on prepupa and pupa stages were investigated. The percentages of mortality three concentrations were 26.6, 50 and 80 for prepupa and 16.6, 23.3 and 33.3 for pupa respectively. These results indicated that prepupa stage was more susceptible than pupa stage. In addition to larval instars, we propose to use the nematodes on prepupa stage of this pest.

Keywords: *Spodoptera exigua*; *Steinernema carpocapsae*; LC₅₀