

ارزیابی بیماری گری *Steinernema feltiae* روی بید گوجه فرنگی، *Tuta absoluta* در شرایط آزمایشگاه و گلخانه

المیرا ابوترابی و شهرام فرخی

مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

مسئول مکاتبات: المیرا ابوترابی، پست الکترونیک: elabootorabi@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۴/۱۱

XX-XX (۲) ۶

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۵/۲۹

چکیده

بید گوجه فرنگی (*Tuta absoluta*)، یکی از آفات مخرب و کلیدی گوجه فرنگی است که در صورت طغیان محصول را به طور کامل از بین می برد. در این بررسی بیماری گری نماتد *Steinernema feltiae* Filipjev روی سنین مختلف لاروی *T. absoluta* در شرایط آزمایشگاه و همچنین غلظت مؤثر نماتد در کنترل آفت در شرایط گلخانه ارزیابی شد. در مطالعه آزمایشگاهی، نتایج تاثیر غلظت های صفر، ۱۲۵، ۲۰۰، ۳۵۵، ۶۳۲ و ۱۱۲۴ عدد لارو عفونت زای سن سوم نماتد (Infective juveniles, IJ_s) روی لاروهای سنین دو تا چهار بید گوجه فرنگی نشان داد که ۴۸ ساعت پس از آلوده سازی، نماتد قادر به بیمار کردن سنین لاروی آفت می باشد و با افزایش تراکم جمعیت نماتد، درصد تلفات نیز افزایش می یابد. درصد تلفات سنین لاروی *T. absoluta*، در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی داری با یکدیگر داشتند. درصد مرگ و میر لاروهای سنین دوم، سوم و چهارم در بالاترین غلظت نماتد ۱۱۲۴ عدد IJ_s به ترتیب ۳۱/۵، ۷۵/۶ و ۸۵/۹ درصد بدست آمد. این مقادیر در کمترین غلظت نماتد به ترتیب معادل ۱۶/۸، ۲۶/۷ و ۳۰/۳ درصد بود. برای انجام آزمایش در شرایط گلخانه، سه تیمار شامل مؤثرترین غلظت نماتد معادل ۱۱۲۴ عدد IJ_s در یک میلی لیتر آب، فراورده بلیتروول باکتری *Bacillus thuringiensis* (Bt)، با غلظت ۲/۵ در هزار (32% WP) به عنوان تیمار مقایسه و تیمار شاهد بدون نماتد در شش تکرار در نظر گرفته شد. میانگین تلفات سنین مختلف لاروی بید گوجه فرنگی در تیمار *S. feltiae* با ۷۷/۵±۲/۹ درصد در مقایسه با نتایج حاصل از تاثیر فراورده Bt با ۴۰±۱۳/۷ درصد و تیمار شاهد، اختلاف معنی داری داشت. نتایج به دست آمده حاکی از پتانسیل نماتد *S. feltiae* در بیماری گری لاروهای بید گوجه فرنگی و تأثیر معنی دار آن در ایجاد تلفات روی این آفت می باشد.

واژه های کلیدی: بید گوجه فرنگی، کنترل بیولوژیک، نماتد بیمارگر حشرات

مقدمه

اطراف ارومیه توسط جواد امامزاده، جمع آوری و توسط عالی پناه شناسایی شد. دومین محل انتشار آفت در کشور، شهرستان برازجان استان بوشهر بود که آفت در تله های فرمونی شکار شد. با ردیابی آفت در دیگر مناطق کشور، مشخص شد که بید گوجه فرنگی در مدت ۱۳ ماه، مزارع گوجه فرنگی ۲۴ استان کشور را آلوده کرده است (Baniameri & Cheraghian, 2011).

در حال حاضر اصلی ترین روش کنترل این آفت استفاده از سموم شیمیایی است. سمومی که برای کنترل آن استفاده می شوند معمولاً حشره کش های فسفره و پایروترئیدی هستند، البته اخیراً حشره کش اسپینوساد با

شب پره مینوز یا بید گوجه فرنگی با نام علمی *Tuta absoluta* Meyrick (Lep., Gelechiidae) مهمترین آفات گوجه فرنگی می باشد. این آفت تهدیدی جهانی برای محصول گوجه فرنگی در جنوب آمریکا، اروپا، شمال آفریقا و اخیراً در خاورمیانه شده است. با وجود اینکه ترجیح غذایی آن گوجه فرنگی می باشد اما روی سایر گیاهان تیره Solanaceae از جمله بادمجان، فلفل شیرین، سیب زمینی، داتوره و تاجریزی دیده شده و از آن ها تغذیه می کند (Desneux et al., 2011). بید گوجه فرنگی برای اولین بار در سال ۱۳۸۹ در یکی از مزارع گوجه فرنگی در

آذربایجان‌های شرقی و غربی، اردبیل، تهران و خراسان شمالی گزارش شده‌اند (پرویزی و همکاران، ۱۳۸۱؛ تنهامعافی و همکاران، ۱۳۸۵؛ کریمی و خرازی پاکدل، ۲۰۰۷؛ عیوضیان کاری و همکاران، ۲۰۰۹؛ نیکدل و همکاران، ۲۰۱۰؛ کمالی و همکاران، ۲۰۱۳).

در بررسی‌های تجربی و مقدماتی گونه *S. feltiae* در شرایط آزمایشگاهی توانست ظرف مدت ۴۸ ساعت همه لاروهای بید گوجه‌فرنگی را پارازیته نماید (Abotorabi, 2014). در سایر بررسی‌ها، نماتد مذکور قادر به پارازیت نمودن سنین مختلف لاروی کرم گلوگاه انار (*Ectomyeloid* *ceratoniae*) طی ۷۲-۴۸ ساعت بود (Abotorabi, 2011) همچنین تاثیر کنترل‌کنندگی گونه *S. feltiae* روی کرم ساقه خوار ذرت (*Ostrinia nubilalis*) این آفت به خوبی کنترل شد (Abotorabi & Valizadeh, 2012).

نتایج حاصل از یک تحقیق، اثر گونه‌های *S. feltiae*، *S. carpocapsae* و *H. bacteriophora* را در پارازیته نمودن لارو *T. absoluta* در شرایط گلخانه تحقیقاتی به ترتیب ۹۰، ۷۰ و ۷۱ درصد داخل دالان پارانسیم برگ و ۹۴/۸ و ۹۴/۱ و ۸۸/۹ درصد خارج از دالان نشان داد. همچنین بر اثر محلول پاشی ۱۰۰۰ عدد لارو در میلی‌لیتر از گونه‌های مذکور روی بوته‌های آلوده به *T. absoluta*، باعث ایجاد ۸۷ تا ۹۵ درصد تلفات شده است (Batalla-Carrera et al., 2010). اثر آنتاگونیستی سه گونه نماتد بیماریگر، شامل *S. feltiae*، *S. carpocapsae* و *H. bacteriophora* روی مراحل مختلف زیستی *T. absoluta* در شرایط آزمایشگاهی، به ترتیب ۹۶/۷، ۱۰۰ و ۵۲/۳ درصد پارازیتسم لاروها را نشان داد (Garsia et al., 2013).

باکتری *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* یک باکتری همه‌جازی، گرم مثبت، هوازی یا بی‌هوازی اختیاری است که در سال ۱۹۱۱ توسط ارنست برلینر از لاروهای آلوده‌ی بید آرد جداسازی، شناسایی و نامگذاری شد (Berbert-Molina et al., 2008). این باکتری یک حشره-کش موفق در کشاورزی است که در حال حاضر از ژن‌های آن در گیاهان تراریخت، برای ایجاد مقاومت به آفت در

نحوه تاثیر متفاوت نیز برای کنترل آن به کار می‌رود که در بعضی از مناطق سمپاشی به صورت هفتگی صورت می‌گیرد که باعث جلوگیری از افزایش تراکم آفت و همچنین باعث افزایش محصول می‌شود، با این وجود افزایش کاربرد روش مبارزه شیمیایی باعث مقاومت در این آفت شده است (Reyes et al., 2012). بنابراین مشکلات مقاومت و همچنین اثرات منفی آفت‌کش‌های شیمیایی موجب شده است که راه‌های جایگزین آفت‌کش‌های شیمیایی برای کنترل آفات در نظر گرفته شوند (Isman, 2006).

یکی از روش‌های موثر در کنترل این گونه آفات، بهره‌گیری از روش کنترل بیولوژیک است که تا کنون در بسیاری از کشورها انجام شده و یا در حال انجام است (Bloem & Esther, 2011). مهار زیستی آفات توسط نماتدهای بیماریگر حشرات (Entomopathogenic nematodes) یکی از موضوعاتی است که در دهه‌های اخیر توجه زیادی را به خود جلب نموده است (Hunt, 2007). این نماتدها، به دلیل توانایی ایجاد مرگ سریع میزبان و قابلیت استفاده از آنها همراه با سایر عوامل کنترل بیولوژیک و همچنین سموم شیمیایی که موارد زیادی از هم افزایی نیز گزارش شده است، خود را به عنوان یکی از عوامل کنترل بیولوژیک کارآمد در کنترل آفات مطرح است. از این رو، نماتدهای بیماریگر حشرات به عنوان یک گزینه مناسب در مدیریت تلفیقی آفات معرفی شده است (Koppenhofer & Grewal, 2005). در شرایط مساعد، بید گوجه‌فرنگی بین ۱۰-۱۲ نسل در سال دارد و یک نسل آن بسته به شرایط محیطی حدود ۳۵-۳۰ روز به طول می‌انجامد. خسارت آن به صورت کاهش رشد گیاه میزبان، ایجاد دالان در برگ، خسارت به میوه و کاهش بازپسندی آن قابل مشاهده است. لذا با توجه به اهمیت خسارت‌زائی، نام این حشره در فهرست آفات قرنطینه‌ای بسیاری از کشورها قرار گرفته است.

از ایران تاکنون، پنج گونه نماتد بیماریگر حشرات شامل: *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, *Steinernema bicornutum* Tallosi, Peters & Ehlers, *Steinernema carpocapsae* Tallosi, *Steinernema feltiae* Filipjev, *Steinernema glaseri* Steiner

برای جداسازی نماتد از خاک‌های نمونه‌برداری شده از مزارع یونجه در استان تهران (Tanha Maafi et al., 2006)، از روش طعمه‌گذاری با لارو سن آخر شب‌پره موم‌خوار *Galleria mellonella* L. استفاده شد. لاروهای بیمار با روش تله وایت (White trap) بررسی و نماتدها با استفاده از این روش جداسازی شدند (White, 1927). لاروهای عفونت‌زای نماتد پس از جمع‌آوری، در دمای ۱۲°C نگهداری شدند (Stock & Goodrich-Blair, 2012).

ب- جمع‌آوری، تکثیر و پرورش لارو *T. absoluta*

برای این منظور، تعدادی از حشرات نر و ماده بالغ بید گوجه‌فرنگی جمع‌آوری شده از گلخانه گوجه‌فرنگی آلوده به بید گوجه‌فرنگی واقع در شهرستان ورامین، روی بوته‌های گوجه‌فرنگی رقم فلات درون قفس‌های توری رهاسازی شدند. پس از جفت‌گیری و تخم‌ریزی حشرات ماده روی سطح برگ‌ها، امکان دستیابی به جمعیت مورد نیاز از سنین مختلف لاروی فراهم شد.

ج- آزمون بیماری‌زایی در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی

ارزیابی کارایی نماتد *S. feltiae* روی سنین مختلف لاروی *T. absoluta*: در این مرحله، تاثیر لاروهای عفونت‌زای سن سوم *S. feltiae* بر سنین دوم تا چهارم لاروی بید گوجه‌فرنگی بررسی شد. برای این منظور یک میلی‌لیتر آب مقطر استریل حاوی غلظت‌های صفر، ۱۲۵، ۲۰۰، ۳۵۵، ۶۳۲، ۱۱۲۴ عدد لارو سن سوم عفونت‌زای نماتد *S. feltiae* به تفکیک در ظرف‌های پتری (قطر دهانه ۵/۵ سانتی‌متر) حاوی کاغذ صافی مرطوب ریخته و سپس ۱۵ عدد لارو سالم سنین دوم تا چهارم بید گوجه‌فرنگی به‌طور مجزا به داخل آنها منتقل شد. در ظرف‌های مربوط به تیمار شاهد حاوی لاروهای آفت، فقط از آب مقطر استریل (بدون نماتد) استفاده شد. پتری‌ها به مدت سه روز در دمای ۲۴±۲°C با فتوپریود طبیعی نگهداری شدند. این آزمایش به صورت فاکتوریل (فاکتور غلظت در پنج سطح و فاکتور سن لاروی میزبان در سه سطح)، در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار برای هر سن لاروی انجام شد.

لاروهای مرده برای تایید آلودگی به نماتد، به تله وایت منتقل شدند (Kaya & Stock, 1997). لاروهای مرده، در

گیاه نیز استفاده می‌شود. باکتری Bt در همولنف حشرات به سرعت تکثیر پیدا می‌کند و باعث ایجاد عفونت خونی می‌شود (Heierson et al., 1986). در یک پژوهش، در پنج گلخانه گوجه‌فرنگی برای کنترل بیولوژیک بید گوجه‌فرنگی از زنبور *Trichogramma achaeae* باکتری Bt و سن شکارگر *Macrolophus caliginosus* استفاده و مشاهده شد که هر تیمار به صورت جداگانه و به‌ویژه ترکیب هر سه عامل با هم تاثیر زیادی در کاهش خسارت بید گوجه‌فرنگی دارند (Chailleux et al., 2013). در یک مطالعه دیگر ترکیب Bt و سن *Nesidiocoris tenuis* علیه بید گوجه‌فرنگی خسارت آن را تا ۹۷ درصد کاهش داده است (Molla et al., 2011).

بر اساس منابع، یکی از روش‌های جایگزین سموم حشره‌کش، بهره‌گیری از فرمولاسیون‌های مختلف باکتری Bt به‌عنوان یکی از عوامل کنترل بیولوژیک در چند دهه اخیر است که فاقد هر گونه اثرات زیست محیطی مخرب می‌باشند. بررسی‌های متعددی در ارتباط با تاثیر Bt در کنترل بید گوجه‌فرنگی (*T. absoluta*)، نقش موثر این عامل بیولوژیک را در این زمینه تایید می‌نماید، به‌طوری‌که این باکتری قادر به ایجاد بیماری در تمام سنین لاروی بید گوجه‌فرنگی می‌باشد (Giustolin et al., 2001). بررسی‌های انجام شده در شرایط آزمایشگاهی، گلدانی و مزرعه‌ای نشان داد که ۹۰٪ از لاروهای بید گوجه‌فرنگی توسط باکتری Bt کنترل شده است. که در این بین لارو سن اول در مقایسه با سایر سنین لاروی این آفت، نسبت به باکتری حساس‌تر بوده و بیشترین درصد کنترل مربوط به همین سن لاروی می‌باشد (Gonzalez et al., 2011).

این پژوهش با هدف بررسی قابلیت بیمارگری جدایه بومی نماتد *S. feltiae* در کنترل بید گوجه‌فرنگی (*T. absoluta*) در شرایط آزمایشگاه و گلخانه و هم‌چنین در مقایسه با یک فرمولاسیون خارجی از باکتری Bt در مدیریت این آفت انجام شد.

مواد و روش‌ها

الف- تکثیر نماتد *S. feltiae*

در شش تکرار انجام شد. برای این منظور نشاء گوجه‌فرنگی (رقم فلات) در گلدان‌های یک کیلوگرمی پرورش داده شد و پس از اینکه رشد نشاء به مرحله ۳۰ سانتی‌متری رسید، به وسیله قلم‌مو و به‌طور تصادفی ۳۰ عدد لارو سالم و فعال بید گوجه‌فرنگی (۱۰ عدد لارو از هر یک از سنین دوم تا چهارم) روی سطح برگ‌های هر بوته قرار داده شد. محل قرار گرفتن لاروها علامت‌گذاری و دو روز به آن‌ها مهلت داده شد تا داخل بافت گیاه دالان حفر کنند.

از برآورد نتایج اولیه حاصل از بررسی آزمایشگاهی، تراکم ۱۱۲۴ عدد نماتد در میلی‌لیتر برای انجام آزمایش گلدانی در نظر گرفته شد. برای محلول‌پاشی سطح بوته‌ها به طول ۳۰ سانتی‌متر شامل حدود ۲۰ برگ اصلی، به ازاء تعداد ۱۱۲۴ عدد نماتد در حجم یک میلی‌لیتر، سوسپانسیون به حجم ۱۵ میلی‌لیتر آماده‌سازی نموده و ضمن هم زدن مداوم و یکنواخت شدن محلول، آن را به سه قسمت مساوی تقسیم نموده و هر قسمت از سوسپانسیون که حاوی حدود ۵۶۰۰ لارو نماتد بود، با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط نموده و روی سطح پشتی و شکمی برگ‌ها با فاصله زمانی هر شش ساعت یکبار محلول‌پاشی انجام شد. علاوه بر این به منظور مرطوب نگه داشتن سطح برگ‌ها و ممانعت از خشک شدن لارو نماتد، رطوبت فضای داخل گلخانه نیز تامین می‌شد.

تیمار شاهد شامل بوته‌های آلوده به سنین مختلف آفت بود که مشابه گلدان‌های تیمار شده با سوسپانسیون حاوی نماتد، طی سه نوبت سطح پشتی و شکمی برگ‌ها با آب خالص محلول‌پاشی شد. ۴۸ تا ۷۲ ساعت پس از محلول‌پاشی، برگ‌های آلوده به بید گوجه‌فرنگی بررسی و در صورت عدم تحرک و مشاهده تغییر رنگ لارو آفت، لارو از سطح برگ جدا و به تله وایت انتقال داده شدند. درصد تلفات اصلاح شده، بر اساس روش آبت (۱۹۲۵) تعیین شد.

از فراورده تجاری بلیتیرول (WP) 32% (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*) که در بررسی آزمایشگاهی از بین چهار تیمار آزمایشی انتخاب شده بود، به نسبت ۲/۵ در هزار به عنوان تیمار مقایسه‌ای استفاده شد. با توجه به تفاوت ماهیت و گوارشی بودن نحوه تأثیر Bt، پس از

زیر استرئومیکروسکوپ تشریح و درصد مرگ و میر لاروها بر اساس فرمول آبت (Abbott, 1925) محاسبه شد. برای بررسی اثر متقابل تیمارهای آزمایشی و سنین مختلف لارو بید گوجه‌فرنگی، تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون فاکتوریل بر اساس برنامه آماری SAS 9.1 ارزیابی و میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) مقایسه شدند.

ارزیابی کارایی باکتری *B. thuringiensis* روی

سنین مختلف لاروی *T. absoluta*: ابتدا فرمولاسیون‌های باکتری *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (BTK) برای اطمینان از وجود کریستال و اسپور در محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد. برای انتخاب بهترین فراورده میکروبی BTK، از چهار فرمولاسیون شامل بایولپ پودری (سه در هزار)، بایولپ مایع (۶ در هزار) فرمولاسیون مایع تولید شده در بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک (۶ در هزار) و فرمولاسیون پودری ساخت شرکت پروبلته اسپانیا (بلیتیرول ۲/۵ در هزار) به همراه توئین ۸۰ (۰/۵ در هزار) استفاده شد.

برای تعیین بهترین فرمولاسیون باکتری *B. thuringiensis*، روی هر برگچه گیاه گوجه‌فرنگی که به‌صورت جداگانه با غلظت‌های مورد نظر از فرمولاسیون‌های باکتری، محلول‌پاشی شده بودند، با استفاده از قلم‌موی ظریف به تفکیک پنج عدد تخم سرسیاه و آماده تفریح، لارو سنین دوم و چهارم *T. absoluta* قرار داده و در شرایط اتاق حرارت ثابت میزان تلفات لاروهای سنین اول، دوم و چهارم حداکثر تا ۹ روز بررسی و ثبت شد. برای هر یک از تیمارها (فرمولاسیون باکتری و سن لاروی) ۱۰ عدد برگچه مورد بررسی قرار گرفت. برای این آزمایش سنین دقیق لاروی از روی ابعاد کپسول سر لاروی داخل دالان برگچه‌ها تشخیص داده شد. در هر روش از برگچه‌های تیمار شده با محلول توئین ۸۰ به‌عنوان شاهد استفاده شد.

د- آزمایش گلخانه‌ای

بررسی تأثیر *S. feltiae* روی سنین مختلف لاروی *T. absoluta*: آزمایش گلدانی با سه تیمار شامل تیمار نماتد، Bt و شاهد در شرایط گلخانه با دمای $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ، رطوبت نسبی ۷۰-۵۰ درصد و فتوپریود طبیعی،

نماتد، درصد تلفات نیز افزایش یافت، به طوری که در بالاترین و مؤثرترین غلظت نماتد (۱۱۲۴ عدد لارو سن سوم نماتد)، بیشترین تلفات در سنین لاروی دوم تا چهارم به ترتیب به میزان $۳۱/۵ \pm ۹/۲۶$ ، $۷۵/۶ \pm ۲/۱۶$ و $۸۵/۹ \pm ۴/۲۶$ درصد بدست آمد. بیشترین تلفات در لارو سن چهارم بید گوجه فرنگی (L4) و سپس لارو سن سوم (L3) تحت تاثیر بالاترین غلظت نماتد (۱۱۲۴ عدد لارو) مشاهده شد که نشان می‌دهد نماتد *S. feltiae* سنین سوم و چهارم لارو بید گوجه فرنگی را که منافذ قابل نفوذتری در مقایسه با سنین پایین تر دارند، بیشتر مورد هدف قرار می‌دهد (شکل ۱). بدون در نظر گرفتن سن لاروی میزبان هدف، در مجموع به طور متوسط تلفاتی معادل ۲۴/۸ الی ۶۴/۸ درصد بر اثر پنج غلظت نماتد به کار رفته در این آزمایش، بدست آمده است (داده‌های تجمیع شده، جدول ۱).

از میان چهار فرمولاسیون *B. thuringiensis* فرآورده بلیتورول (شرکت پروبلته اسپانیا) روی سنین مختلف لاروی بید گوجه فرنگی، بیشترین تاثیر را داشت. درصد تلفات ($M \pm SE$) ناشی از آن، به ترتیب روی سنین اول، دوم و چهارم لاروی معادل $۶۶/۶۷ \pm ۱۳۹$ ، $۶۴ \pm ۹/۸$ و $۱۱/۱۸ \pm ۷۵$ درصد بدست آمد، که به همین دلیل از این فرمولاسیون برای انجام آزمایش گلخانه‌ای استفاده شد.

در بررسی گلدانی، پس از رهاسازی سنین لاروی بید گوجه فرنگی روی بوته‌ها و محلولپاشی نماتد، میزان تلفات ارزیابی شد (جدول ۲). اکثر لاروها در اثر آلودگی به نماتد، بیمار شده بودند. در گلدان‌های شاهد، اکثر لاروها به حشره کامل تبدیل شدند. در تیمار مقایسه، چهار روز پس از آلوده‌سازی لارو بید گوجه فرنگی با Bt، تاثیر باکتری در ایجاد تلفات لارو بر اساس علائم بیماری و فعالیت لاروهای سالم ارزیابی و محاسبه شد. شرایط آزمایش و سنین لاروی آفت مشابه واحدهای آزمایشی ارزیابی نماتد آماده سازی شد.

طبق گزارش دودس و پیترز (۲۰۰۲)، سنین بالاتر لارو بید گوجه فرنگی به دلیل داشتن جثه و روزنه‌های تنفسی بزرگ تر و قابل ورود برای نماتد، بیشتر مورد هدف قرار گرفته (Dowds & Peters, 2002) همچنین به واسطه سوخت و ساز بیشتر، مقدار تولید محرک‌های فراری که

پرورش نشاء گوجه فرنگی و رسیدن بوته‌ها به مرحله هشت برگی، ابتدا محلول پاشی باکتری روی سطح برگ‌ها صورت گرفت و پس از ۲۰ دقیقه، ۳۰ عدد لارو بید گوجه فرنگی (سنین دوم تا چهارم) روی برگ‌ها به طور تصادفی قرار داده شد. پس از گذشت چهار روز، ضمن شکافتن دالان‌های لاروی، نتیجه تاثیر باکتری در ایجاد تلفات لارو بر اساس علائم بیماری و فعالیت لاروهای سالم ارزیابی و محاسبه شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.1 صورت گرفت و گروه بندی میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) ارزیابی و با یکدیگر مقایسه شد.

نتایج و بحث

در بررسی آزمایشگاهی ۴۸ ساعت پس از آلوده سازی، سنین لاروی دوم تا چهارم *T. absoluta* به خوبی توسط نماتد *S. feltiae* آلوده شدند به جز لارو سن اول *T. absoluta* که به دلیل کوچک بودن روزنه‌های تنفسی نماتدها قادر به نفوذ نبودند (شکل ۱).



شکل ۱- تجمع نماتدهای *Steinernema feltiae* روی لاشه

لارو سن سوم *Tuta absoluta*

Fig. 1. Multiplication of *Steinernema feltiae* on the cadaver of third larval stadia of *Tuta absoluta*.

در این آزمایش، نتایج تاثیر غلظت‌های مختلف نماتد *S. feltiae* روی سنین لاروی دوم تا چهارم *T. absoluta*، به صورت درصد تلفات ۴۸ ساعت پس از آلوده‌سازی، در جدول (۱) آورده شده، اختلاف تیمارها در سطح ۱٪ معنی دار بود ($F_{14,30} = 25.66, P < 0.0001$). با افزایش غلظت

در توانایی آلوده‌سازی سنین مختلف لاروی بید گوجه‌فرنگی به‌ویژه سنین لاروی سوم و چهارم را نشان می‌دهد. در بررسی تاثیر چهار ترکیب داخلی و خارجی در بررسی تاثیر چهار ترکیب داخلی و خارجی *B. thuringiensis*، فراورده تجاری پلتیول (شرکت پروبلته اسپانیا) با غلظت ۲/۵ در هزار موثرترین نقش را در کنترل آفت داشته است. این ترکیب تجاری در مقایسه با نماتد *S. feltiae* که باعث مرگ و میر ۸۵/۹ درصد از لارو سن چهار بید گوجه‌فرنگی شد، توانست حدود ۷۶ درصد از این سن لاروی را بیمار نماید. همچنین بر خلاف نماتد که به دلیل کوچک بودن جثه و روزه‌های تنفسی لارو سن اول بید گوجه‌فرنگی، قادر به بیمار نمودن آن نبود، باکتری Bt توانست حدود ۶۷ درصد این سن لاروی را بیمار نماید که نشان می‌دهد باکتری Bt که به صورت گوارشی عمل می‌کند، قادر است آفت را حتی در مراحل اولیه لاروی و پیش از نفوذ به داخل بافت گیاه، مورد هدف قرار داده و تاییدی است بر ادعای گونزالس و همکاران (۲۰۱۱) که بیان کردند لارو سن یک در مقایسه با سایر سنین این آفت، نسبت به باکتری حساس‌تر بوده و اهمیت کنترل مربوط به سن یک لاروی بید گوجه‌فرنگی بوده است (Gonzalez et al, 2011).

باعث جلب نماتد می‌شوند، در لاروهای بزرگتر بیشتر است (Hallem et al., 2011). در بررسی بعمل آمده توسط ون دام و همکاران (۲۰۱۵)، نتیجه تاثیر سه گونه *S. feltiae*، *S. carpocapsae* و *H. bacteriophora* روی سنین یک تا چهار لاروی بید گوجه‌فرنگی، نشان داد که هر سه گونه نماتد، بیشترین تاثیر را روی سنین سه و چهار لارو در مقایسه با سنین یک و دو داشته‌اند که در بین سه گونه، *S. feltiae* ماکزیم کنترل را روی لاروآفت داشته است (Van Damme et al., 2015). بر اساس گزارش این محقق، گونه *S. feltiae* روی سنین یک تا چهار لاروی بید گوجه‌فرنگی به ترتیب با داشتن ۳/۶، ۶/۳، ۲۵ و ۲۱/۲ درصد تلفات، گونه *S. carpocapsae* به ترتیب با داشتن ۷/۷، ۳/۳، ۰، ۲/۶ درصد تلفات و گونه *H. bacteriophora* به ترتیب با داشتن ۵/۶، ۴/۸، ۱۱/۱ و ۱۱/۳ درصد تلفات، اثر داشته‌اند. نماتد قرار گرفت، لاروهای سنین سوم و چهارم بود. با گذشت ۴۸ ساعت پس از تلقیح تیمارهای آزمایشی، ۹۰ درصد تعداد لاروهای موجود در تیمار شاهد زنده باقی مانده و اکثراً تبدیل به شفیره و پروانه بالغ شدند و ۱۰ درصد تلفات بدون حضور نماتد، ناشی از محدودیت‌های موجود محیطی بوده است که در مقایسه با سایر تیمارها، نقش موثر حضور نماتد *S. feltiae*

جدول ۱- درصد تلفات (SE± میانگین) سنین لاروی دوم تا چهارم *Tuta absoluta* توسط نماتد *Steinernema feltiae* پس از ۴۸ ساعت در شرایط آزمایشگاه.

Table 1. Mortality percentage (mean±SE) of second (L2), third (L3) and fourth (L4) larval instars of *Tuta absoluta* caused by *Steinernema feltiae* after 48 h in laboratory conditions.

EPN concentrations (IJs/ ml)	Larval instars (n=15)			Pooled data** (n=45)
	L2	L3	L4	
125	16.8 ± 4.58 e*	26.7 ± 1.83 e	30.3 ± 2.75 e	24.8 ± 2.07 D*
200	21.8 ± 3.81 e	29.3 ± 4.19 e	34.8 ± 3.33 e	28.8 ± 1.39 D
355	26.7 ± 4.51 e	41.6 ± 3.08 d	55.9 ± 4.32 c	41.6 ± 1.14 C
632	29.1 ± 3.66 e	58.6 ± 1.47 c	74.6 ± 5.72 b	54.4 ± 2.23 B
1124	31.5 ± 9.26 e	75.6 ± 2.16 a	85.9 ± 4.26 a	64.8 ± 3.25 A
Control	8.9 ± 2.22	8.9 ± 2.22	4.4 ± 2.22	7.4 ± 0.74

* داده‌های دارای حروف مشابه، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ هستند.

** داده تجمیع شده: مجموع نتایج مربوط به سه سن لاروی بررسی شده می‌باشد.

* Means in data followed by a similar letter are not significantly different at 1% level by DMRT.

** Pooled data: Three larval stadia pooled together.

سطح احتمال یک درصد در مقایسه با تیمار شاهد و لارو سن دوم، قابل توجه بوده است. نتایج نشان داد که توانایی

مطابق نتایج بررسی حاضر نیز تعداد تلفات در سنین لاروی سه و چهار بید گوجه‌فرنگی با داشتن اختلاف معنی‌دار در

در بررسی گلدانی که سه تیمار نماتد، باکتری و شاهد در نظر گرفته شد، برای ارزیابی توانایی نفوذ نماتد به داخل پارانیشم برگ، ضمن رهاسازی سنین دو تا چهار لارو بید گوجه‌فرنگی به تعداد ۱۰ عدد از هر سن لاروی روی سطح برگها و ایجاد دالان توسط لاروها، محلولپاشی نماتد دو روز پس از رهاسازی لاروها صورت گرفت در حالیکه برای ارزیابی باکتری Bt، ابتدا سطح برگ‌ها توسط محلول تجاری بلتیرو، محلول‌پاشی شد و ۳۰ دقیقه بعد رهاسازی لارو آفت صورت گرفت. با توجه به نتایج آزمایش، به نظر می‌رسد که این نماتد قادر به نفوذ به داخل پارانیشم برگ از محل شکاف‌های ایجاد شده در سطح برگ و ردیابی لارو آفت در حد چند میلی‌متر می‌باشد. از طرفی لاروهای آفت نیز به نماتد حساس بوده و کاربرد سوسپانسیون نماتد روی اندام‌های هوایی گیاه، می‌تواند لاروها را پارازیته نموده و منجر به کاهش خسارت آفت در مقایسه با تیمار شاهد شود. براساس گزارش‌های اوربانزا و همکاران (۲۰۱۳) لاروهای بزرگ‌تر به غذای بیشتری احتیاج داشته و سطح دالان حفر شده توسط آن‌ها بیشتر است (Urbaneja et al., 2013)، بنابراین زمانی که نماتد روی گیاه محلول‌پاشی می‌شود، اگر وسعت دالان‌های ایجاد شده بیشتر باشد، احتمال نفوذ نماتد به درون دالان و یافتن لارو حشره آفت بیشتر است. طبق نظر آرتور و همکاران (۲۰۰۴) قرار گرفتن این آفت درون دالان‌های حفر شده در بافت گیاه، محیط مناسبی برای نماتد پدید می‌آورد که آن را از اثرات زیان بار محیطی از جمله خشکی و اشعه فرابنفش حفظ می‌کند (Atrhurs et al., 2004). بر این اساس، نتایج حاصل از مشاهدات گلدانی نشان داد که، صرف‌نظر از تعداد معدودی لارو زنده باقی مانده در سطح برگ که احتمالاً از دسترس نماتد دور مانده‌اند و همچنین لاروهایی که پس از رهاسازی، از سطح برگ گریخته بودند، میزان تلفات در گلدان‌های تیمار شده با *S. feltiae*، بیش از ۷۷/۵ درصد و این میزان در گلدان‌های تیمار شده با *B. thuringiensis* ۴۰ درصد بوده است. در تیمار شاهد، تنها ۱۲/۴ درصد لاروها بنا به دلیل شرایط محیطی اعم از تغییرات دما و رطوبت، از بین رفتند و اکثر لاروها به سفیره و پروانه بالغ تبدیل شدند.

نماتد در ایجاد بیماری‌زایی و تلفات در لارو بید گوجه‌فرنگی با افزایش غلظت، بیشتر خواهد شد. بالاترین درصد مرگ و میر لارو سن چهارم بید گوجه‌فرنگی که بر اثر بیشترین غلظت نماتد اثر داده شده است (۸۵/۹ درصد)، بیش از چهار برابر تلفات لارو سن دوم بر اثر کمترین غلظت نماتد در این آزمایش (۱۶/۸ درصد) بوده است. همچنین با افزایش سن لاروها، درصد آلوده شدن آن‌ها نیز افزایش یافت و بیشترین سن لاروی بید گوجه‌فرنگی که مورد هدف

جدول ۲- درصد مرگ و میر لارو بید گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* توسط نماتد *Steinernema feltiae* و فرمولاسیون تجاری *Bacillus thuringiensis* در شرایط گلخانه.

Table 2. Larval mortality of *Tuta absoluta* caused by *Steinernema feltiae* and *Bacillus thuringiensis* in greenhouse conditions.

Treatment (n=30)	Mortality (%)
<i>S. feltiae</i> (1124 IJs/ml)	77.5±2.9 a
Bt (2.5/1000ml)	40±13.7 b
Control	12.4±3.4 c

داده‌های دارای حروف غیرمشابه، بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ است.

Means in data followed by a unsimilar letter are significantly different at 1% level by DMRT.

براساس گزارش دنو و همکاران (۲۰۱۰)، عمده خسارت بید گوجه‌فرنگی توسط لاروهای سنین سه و چهار که به برگ و میوه گیاه میزبان حمله می‌کنند، ایجاد می‌شود (Desneux et al., 2010). لذا نتایج آزمایشگاهی حاصل از بررسی حاضر، نشان داد که تیمار نماتد در مقایسه با تیمار باکتری به لحاظ تاثیر بیشتر بر کنترل سنین سه و چهار بید گوجه‌فرنگی، قابلیت زیادی از نظر کنترل آفت داشته است. بنابراین از نظر مهار زیستی در مقایسه با باکتری Bt از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. در مجموع، ارزیابی تاثیر دو تیمار نماتد و باکتری به دلیل نقش تاثیرگذار هر کدام از آنها روی سنین مختلف لارو بید گوجه‌فرنگی، بیانگر نقش موثر این دو عامل کنترل بیولوژیک به‌ویژه در تلفیق با یکدیگر در ایجاد تلفات موثر در جمعیت بید گوجه‌فرنگی است.

مدیریت آفت بید گوجه‌فرنگی، پیشنهاد می‌شود تنها به یک روش و یک عامل کنترل بیولوژیک اکتفا نشده و با توجه به شرایط و امکانات علاوه بر نماتدهای بیمارگر حشرات و فرآورده‌های Bt از عوامل دیگر مانند زنبورهای پارازیتوئید (El-Arnaouty *et al.*, 2014)، سن شکارگر (De Backer *et al.*, 2014) نیز استفاده شود.

بنابراین ملاحظه می‌شود که تیمار نماتد حدود دو برابر باکتری در ایجاد تلفات بید گوجه‌فرنگی نقش داشته و موجب کنترل آفت و ممانعت از رسیدن به مرحله بلوغ و تکثیر آفت می‌شود.

همانگونه که در بررسی‌های آزمایشگاهی و گلدانی مشخص شد، دو عامل بیولوژیک *S. feltiae* و *B. thuringiensis*، هر کدام با درصد‌های متفاوتی قادر به کنترل سنین مختلف لاروی بید گوجه‌فرنگی بودند. برای

References

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing effectiveness of an insecticide. *Journal of Economical Entomology*, 18: 265–267.
- Abootorabi, E. 2011. The control feasibility of *Ectomyelois ceratoniae* by Entomopathogenic nematode. National Pomegranate Symposium, Ferdowsi- Iran; 28–29.
- Abootorabi, E. & Valizadeh, A. 2012. Preliminary study of using nematode parasites of insects (Nematodes: Entomopathogenic) to control of maize borer (*Ostrinia nubilalis*). The first National Congress of Monitoring and Forecasting in Plant Protection, Borujerd; Iran; 14–15.
- Abootorabi, E. 2014. Report of native isolate pathogenicity of *Steinernema feltiae* on tomato leafminer, *Tuta absoluta*. *Biocontrol in Plant Protection*, 1: 107–109.
- Arthurs, S., Heinz, K.M. & Prasifka, J.R. 2004. An analysis of using entomopathogenic nematodes against above ground pest. *Bulletin of Entomological Research*, 94: 297–306.
- El- Arnaouty, S. A., Pizzol, J., Galal, H. H., Kortam, M. N., Afifi, A. L., Beyssat, V., Desneux, N., Biondi, A & Heikal, I. H. 2014. Assessment of two *Trichogramma* species for control of *Tuta absoluta* in North African Tomato Greenhouses. *African Entomology*, 22: 801–809.
- Baniameri, V. & Cheraghian, A. 2011. The current status of *Tuta absoluta* in Iran and initial control strategies In: International symposium on management of *Tuta absoluta* (tomato borer) proceeding. Agadir, Morocco, November 16-18, 2011.
- Batalla- Carrera, L., Morton, A. & Garcia- delpino, F. 2010. Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tomato leafminer *Tuta absoluta* in laboratory and greenhouse conditions. *BiolControl*, 55: 523–530.
- Berbert-Molina, M.A., Prata, A. M.R., Pessanha, L.G. & Silveira, M.M. 2008. Kinetics of *Bacillus thuringiensis* var. israelensis growth on high glucose concentrations. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 35(11): 1397–1404.
- Bloem, S. & Esther, S. 2011. New pest response guidelines tomato leafminer (*Tuta absoluta*). USDA.
- Chailleux, A., Bearez, P., Pizzol, J., Amiens-Desneux, E., Ramirez-Romero, R. & Desneux, N. 2013. Potential for combined use of parasitoids and generalist predators for biological control of the key invasive tomato pest *Tuta absoluta*. *Journal of Pest Science*, 86(3): 533–541.

- De Backer, L., Haubruge, E., Caparros Megido, R & Verheggen, F. 2014. *Macrolophus pygmaeus* as an efficient predator of the tomato leafminer *Tuta absoluta* in Europe. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 18: 536–543.
- Desneux, N., Wajnberg, E., Wyckhuys., K.A.G., Burgio, G., Arpaia, S., Narvaez-Vasquez, C.A., Gonzalez-Cabrera, J., Ruescas, D.C., Tabone, E., Frandon, J., Pizzol, J., Poncet, C., Cabello, T. & Urbaneja, A. 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *Journal of Pest Science*, 83: 197–215.
- Desneux, N., Luna, M.G., Guillemaud, T. & Urbaneja, A. 2011. The invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*, continues to spread in Afro- Eurasia and beyond: the new threat to tomato world production. *Journal of Pest Science*, 84: 403–408.
- Dowds, B.C.A & Peters, A. 2002. Virulence mechanisms. Pp. 79-98 *In* R. Gaugler, ed. *Entomopathogenic nematology*. New York, NY: CABI.
- Eivazian Kary, N., Niknam, G., Griffin, C.T & Mohammadi, S.A. 2009. A survey of entomopathogenic nematodes of the families Steinernematidae and Heterorhabditidae (Nematoda: Rhabditida) in the north-west of Iran. *Nematology*, 11 (1): 107-116.
- Garcia-del-Pino, F., Alabern, X. & Morton, A. 2013. Efficacy of soil treatments of entomopathogenic nematodes against the larvae, pupa and adults of *Tuta absoluta* and their interaction with the insecticides used against this insect. *BioControl*, 58: 723–731.
- Giustolin, T.A., Venderamim, J.D., Alves, S.B., Vieira, S.A. & Pereira, R.M. 2001. Susceptibility of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) reared on two species of *Lycopersicon* to *Bacillus thuringiensis* var *Kurstaki*. *Journal of Applied Entomology*, 125: 551–556.
- Gonzalez- Cabrera, J., Molla, O., Moton, H & Urbaneja, A. 2011. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) for controlling the tomato borer, of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *BioControl*, 56: 71–80.
- Hallem, E.A., Dillman, A.R., Hong, A.V., Zhang, Y., Yano, J.M., DeMarco, S.F. & Sternberg, P. W. 2011. A sensory code for host seeking in parasitic nematodes. *Current Biology*, 21: 377–383.
- Heierson, A., Sidén, I., Kivaisi, A & Boman, H.G. (1986). Bacteriophage-resistant mutants of *Bacillus thuringiensis* with decreased virulence in pupae of *Hyalophora cecropia*. *Journal of Bacteriology*, 167(1): 18–24.
- Hunt, D.J. 2007. *Entomopathogenic Nematodes: Systematics, Phylogeny of Bacterial Symbionts, Nematology Monographs and Perspectives*. Koninklijke Brill NV, Leiden.
- Isman, M.B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review Entomology*, 51: 45–66.
- Kamali, S., Karimi, J., Hosseini, M., Campos-Herrera, R & Duncan, L. W. 2013. Biocontrol potential of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* on cucumber fly, *Dacus ciliates* (Diptera: Tephritidae). *Biocontrol Science and Technology*, 23(11): 1307–1323.
- Karimi, J., Kharazi-Pakdel, A., Yoshiga, T., Koochi Habibi, M & Hassani- Kakhki, M. 2011. Characterization of Xenorhabdus (Y-Proteobacteria) strains associated bacteria with the *Steinernema* (Nematode: Steinernematidae) isolates from Iran. *Journal of Entomological Society of Iran*, 31 (1): 57–69.

- Kaya, H.K. & Stock, S.P. 1997. Techniques in insect nematology. In: Lacey, L. A. (ed.), Manual of techniques in insect pathology. Academic press, London, UK.
- Koppenhofer, A.M. & Grewal, P.S. 2005. Compatibility and Interactions with Agrochemicals and Other Biocontrol Agents. In: Grewal, P., Ehlers, R. & Shapiro-Ilan, D. (eds.) Nematodes as biocontrol agents. CABI International.
- Mollá, O., González-Cabrera, J. & Urbaneja, A. 2011. The combined use of *Bacillus thuringiensis* and *Nesidiocoris tenuis* against the tomato borer *Tuta absoluta*. BioControl, 56: 883–891.
- Nikdel, M., Niknam, G., Griffin, C.T. & Eivazian Kary, N. 2010. Diversity of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Steinernematidae, Heterorhabditidae) from Arasbaran forests and rangelands in north-west Iran. Nematology, 12: 767–773.
- Petras, S.F. & Casida, L.E. 1985. Survival of *Bacillus thuringiensis* spores in soil. Applied and Environmental Microbiology, 50(6): 1496–1501.
- Reyes, M., Rocha, K., Alarco n, L., Siegwart, M & Sauphanor, B. 2012. Metabolic mechanisms involved in the resistance of field populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) to spinosad. Pesticide Biochemistry and Physiology, 102:45–50.
- Sharma, M.P., Sharma, A.N. & Hussaini, S.S. 2011. Entomopathogenic nematodes, a potential microbial biopesticide: Mass production and commercialization status- a mini review. Archives of Phytopathology and Plant Production, 44: 855–870.
- Stock, S.P. & Goodrich- Blair, H. 2012. Nematode parasites, pathogens and associates of insects and invertebrates of economic importance. Pp. 373- 426. In: Lacey, L. A. (ed.), Manual of Techniques in Insect Pathology. 2nd ed. Academic Press, San Diego.
- Tanha Maafi, Z., Ebrahimi, N., Abootorabi, E & Spiridonov, S. E. 2006. Record of two Steinernematid species from Iran. 17th Iranian Plant Protection Congress, 482p.
- Urbaneja, A., Desneux, N., Gabarra, R., Arno, J., Gonzalez-Cabrera, J., Mafra Neto, A., Stoltman, L., Pinto, A. de S & Parra, J.R.P. 2013. Biology, ecology and management of the South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*. Pp. 98-125. In: Pena, J.E. (ed), Potential Invasive Pests of Agricultural Crops. CAB International, Wallingford.
- Van Damme, V.M., KEG Beck, B., Berckmoes, E., Moerkens, R., Wittemans, L., De Vis, R., Nuyttens, D., Casteels, H.F., Maes, M., Tirry, L & De Clercq, P. 2015. Efficacy of entomopathogenic nematodes against larvae of *Tuta absoluta* in the Laboratory. Pest manag Society of Chemical Industry (SCI). 8 P.

**Efficacy of a native isolate of *Steinernema feltiae* on tomato leafminer (*Tuta absoluta*)
under laboratory and greenhouse conditions**

Elmira Abootorabi, Shahram Farrokhi

Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization
(AREEO), Tehran, Iran

Corresponding author: Elmira Abootorabi, email: elabootorabi@gmail.com

Received: Aug., 20, 2018

6(2) xx-xx

Accepted: Jul., 02, 2019

Abstract

The tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae) is a devastating key pest of tomato, and its damage may reach up to 100%. Here, the potential of the infective juveniles (IJ_s) of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* Filipjev species on different larval stadia of *T. absoluta* was studied under laboratory conditions and the ability of most effective nematode concentration when applied in the greenhouse conditions. In the *in vitro*, the six concentrations of third-infective juveniles *S. feltiae* (0, 125, 200, 355, 632 and 1124 IJs/ml) were tested against the three larval instars, L2, L3 and L4 of *T. absoluta*. Forty eight hours after infection, the entomopathogenic nematode was able to infect all instars of the pest. With increasing density of *S. feltiae*, the pest larva mortality also increased with a significant difference at 1% probability level. The percentage mortality of L2, L3 and L4 at the highest concentration of nematodes (1124 IJs) were 31.5, 75.6 and 85.9%, respectively. These values at the lowest concentration of nematodes (125 IJs) were 16.8, 26.7, and 30.3%. In the greenhouse test, three treatments included; *S. feltiae* (1124 IJs/ml), *Bacillus thuringiensis* (0.25%, Belthirul 32% WP, Probelte Co.) and control in a completely randomized design with six replicates were conducted. The percentage mortality of different *T. absoluta* larval stages by *S. feltiae* and *B. thuringiensis* treatments were $77.5\% \pm 2.9$ and $40\% \pm 13.7$ with a significant difference at 1% probability level. The results indicate the potential of *S. feltiae* as a native entomopathogenic nematode could be used in an integrated management measure in controlling of the *T. absoluta*.

Keywords: biological control, tomato leaf miner, *Steinernema feltiae*