تقييم أولي لكفاءة ثلاث عزلات محلية من النيماتودا الممرضة للحشرات من الجنس *Heterorhabditis* على يرقات فراشة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* مخبرياً

سمر عثمان*[(1)] و نادين علي[(1)] وندى ألوف[(1)]

(1). قسم وقاية النبات، كلية الهندسة الزراعية، جامعة تشرين، اللاذقية،سورية.

(*للمراسلة: م. سمر عثمان samar.93.sam@gmail.com، هاتف: 963936249048+).

تاريخ الاستلام:7/03/ 2024 تاريخ القبول:2 /2024/06

الملخص

هدف البحث إلى تقييم شراسة ثلاث عزلات محلية من النيماتودا *Heterorhabditis*: H1، H2 وH6، مخبرياً ضد العمر اليرقي الأخير من *Galleria mellonella* باستخدام اختبار الاستجابة للجرعة Dose response. نُفذ العمل في ظروف المخبر في جامعة تشرين خلال العام 2023. قورنت العزلات عند أربعة تراكيز (5، 10، 15، 20 يرقات معديةIJs / لكل يرقة حشرة)، عند درجة حرارة 30±2 C°. بينت النتائج قدرة العزلتين H2 وH6 على قتل اليرقات خلال 24 ساعة بعد العدوى، إذ وصلت نسبة القتل إلى 80 % و50% باستخدام 20 وIjs10 على التوالي. في اليوم الثاني، تفوقت جميع العزلات معنوياً على الشاهد إذ وصلت نسبة قتل اليرقات إلى 80%، 90% و100% للعزلات H1، H6 وH2 على التوالي. لم تُسجّل فروق معنوية بين العزلات من حيث القدرة على القتل باستثناء اليوم الأول إذ تفوقت العزلة H2. بلغت الجرعة النصفية القاتلة LD50 بعد 48 ساعة من المعاملة 10.13، 10.44 و9 Ijs للعزلات H1، H2 و H6 على التوالي.

الكلمات المفتاحية: النيماتودا الممرضة للحشرات، كفاءة، *Heterorhabditis*، فراشة الشمع الكبرى، الاستجابة للجرعة.

المقدمة:

تعد النيماتودا الممرضة للحشرات Entomopthogenic nematodes (EPNs) من عوامل المكافحة الحيوية الفعالة ضد العديد من الآفات الحشرية (Lacey *et al*., 2015)، درست النيماتودا التابعة لفصيلتي Steinernematidae وHeterorhabditidae عالمياً واستخدمت تجارياً كعوامل مكافحة حيوية ضد العديد من الآفات الحشرية من ساكنات التربة (Hominick, 2002; Lacey *et al*., 2015; Stock, 2015). بلغ عدد الأنواع المسجلة من هذه المجموعة حتى عام2020 96 نوعاً من الجنس *Steinernema*، ونوع واحد من الجنس *Nesteinernama* و21 نوعاً من الجنس *Heterorhabditis* (Koppenhofer *et al*., 2020). تملك EPNs يرقات / أطواراً معدية Infective juveniles (IJs) حرة المعيشة في التربة، تحمل في أمعائها بكتريا تكافلية تابعة للجنسين *Xenorhabdus* المرتبط مع الجنس *Steinernema* و*Photorhabdus* المرتبط مع الجنس *Heterorhabditis*، ويُعزى لهذه البكتيريا قدرة النيماتودا الإمراضية والقاتلة للحشرات (Burnell and Stock, 2000; Dillman *et al*., 2012). استُخدمت EPNs لأول مرة للسيطرة على الخنافس اليابانية في ثلاثينيات القرن العشرين، ومنذ ثمانينات القرن الماضي، اعتُمدت في برامج المكافحة الأحيائية للسيطرة على العديد من الآفات الحشرية الهامة (Georgis *et al*.,

(2006. تهاجم النيماتودا الممرضة للحشرات طيفاً واسعاً من الحشرات وقد أصبحت مستخدمة في كل بلدان العالم لإدارة الآفات الحشرية على المحاصيل. المدى العوائلي لهذه النيماتودا واسع جداً، إذ لوحظ تأثيرها على أكثر من 200 نوع من الحشرات التابعة لرتب مختلفة (Woodring and Kaya, 1988). وُجد النوع *S. carpocapsae* متطفلاً على أكثر من 250 نوع حشري تابع لأكثر من 75 فصيلة و11 رتبة (Poinar, 1975). يعتمد المدى العوائلي الواسع للنيماتودا على استراتيجية التغذية التي تتنوع بين التجوال ونصب الكمائن (Campbell and Gaugler, 1997). تلعب استراتيجية التغذية دوراً هاماً في شراسة العزلة النيماتودية وسرعتها في الوصول إلى العائل وإحداث العدوى. عُرفت استراتيجية التجوال بأنها استراتيجية نشطة في البحث عن العوائل إذ تتحرك النيماتودا خلال التربة وتكون أكثر فاعلية ضد هذه الحشرات من تلك الساكنة (Lewis *et al*., 1993; Campell and Gaugler, 1997). من الأنواع المتجولة بحثاً عن الغذاء *S. glaseri* (Lewis, 2002). أما استراتيجية نصب الكمائن فهي التغذية بالإقامة قريباً من أجسام عوائلها، ومن الأنواع التي تنتهج هذا السلوك *S. carpocapsae* و*S. scapterisci* التي يمكن أن تبقى ساعات من الزمن متربصة لعوائلها (Campbell and Gaugler, 1993). وهناك أنواع تمتلك الاستراتيجيتين معاً كالنوع *S. riobrave* (Griffin *et al*., 2005). بيّن Lalitha وآخرون (2018) أنه عقب دخول النيماتودا *H. indica* إلى داخل جسم العائل تتحرر البكتيريا المتعايشة معها التي بدورها تفرز وتحرر العديد من السموم المعقدة التي تعطل الاستجابة المناعية للعائل مثل Antimicrobial peptides وأنزيم Antioxidant and detoxification، كما أن البكتريا التي تبدأ بالتضاعف تفرز مواداً سامة ومضادات حيوية، تسبب الموت خلال 24– 48 ساعة نتيجة تسمم أو تعفن الدم Septicemia (Forst and Clarke, 2002; Koppenhofer, 2010). شجعت هذه الميزات (المدى العوائلي الواسع، استراتيجية البحث عن العائل، السرعة في التسبب بالقتل) الباحثين على مستوى العالم للبحث عن عزلات جديدة وتقييم شراستها من أجل انتخاب العزلات الأشرس وإدخالها ضمن برامج المكافحة الحيوية للحشرات. وفي هذا الخصوص، تعد فراشة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) من أكثر النماذج الحية ملاءمةً واستخداماً لهذا النوع من الدراسات، وذلك بسبب حجم اليرقات المناسب وحساسيتها العالية للإصابة بالنيماتودا (Devi, 2021)، لذا كان العمر اليرقي الأخير *G. mellonella* هو النموذج الحيوي المُعتمد في هذه الدراسة وذلك بغرض تقييم كفاءة ثلاث عزلات محلية من EPNs تابعة للجنس *Heterorhabditis* والمقارنة فيما بينها من أجل اختيار العزلة الأشرس لاقتراحها لاحقاً في برامج المكافحة للحشرات الضارة وذات الأهمية الاقتصادية محلياً.

مواد العمل وطرائقه:

نُفذ البحث في مخبر أبحاث وقاية النبات في كلية الهندسة الزراعية بجامعة تشرين خلال العام 2023.

العزلات النيماتودية: تم الحصول على العزلات النيماتودية المختبرة من ثلاثة مواقع في مدينة جبلة: H1 من بستان حمضيات في قرية رأس العين، H2 أيضاً من بستان حمضيات في قرية البرجان، H6: من بستان موز في قرية سيانو.

تعريف العزلات النيماتودية:

تم بداية تحديد جنس النيماتودا الممرضة للحشرات بالاعتماد على أعراض الإصابة على يرقة *G. mellonella* (لون اليرقة)، ومن ثم الفحص المجهري باستخدام المجهر الضوئي العادي لتحديد العلامات المميزة للجنس كشكل مقدمة الجسم للأطوار المعدية، وجود أو عدم وجود الخناث، امتلاك الذكور كيس سفاد أو عدم امتلاكها (Nguyen and Hunt, 2007).

تربية يرقات *G. mellonella* مخبرياً:

تمت تربية يرقات *G. mellonella* L. مخبرياً في الحاضنة على درجة حرارة 2±25C° باستخدام بيئة غذائية صنعية مكونة من 350غ من دقيق القمح، 200غ من دقيق الذرة، 130غ من حليب البودرة، 70غ من الخميرة الجافة، 100مل من العسل، 150مل من الغلسيرين (Metwally *et al*., 2012). استُخدم في الاختبارات العمر اليرقي الأخير بوزن يتراوح بين (0.2– 0.3) غراماً.

اختبار شراسة عزلات *Heterorhabditis* على يرقات *G. mellonella*:

تم تقييم شراسة العزلات الثلاثة من الجنس *Heterorhabditis* باستخدام اختبار الاستجابة للجرعة Dose- Response الذي يعتمد على تحديد العدد اللازم من أفراد النيماتودا اللازمة لقتل نصف عدد اليرقات المعداة بالنيماتودا. نُفذ الاختبار في أطباق 24- (well-plate) بحيث يمثل كل طبق معاملة، وُضع في كل طبق 10 يرقات *G. mellonella*(بوزن 0.3-0.2غ) ضمن حفر تحوي على ورق ترشيح.

حُضّر المعلق النيماتودي لكل عزلة على حدى، جُهزت التراكيز التالية (0، 5 ، 10، 15، 20 Ijs في كل 50 ميكروليتر من الماء المقطر). يمثل التركيز 0 الشاهد. طبقت العدوى باستخدام ماصة ميكروليترية، إذ سُحب 50 ميكروليتر من المعلق النيماتودي الحاوي على التركيز المطلوب وفُرغ ضمن الحفر الحاوية على أوراق الترشيح. تم اعتبار كل تركيز عبارة عن معاملة، بمعدل 10 مكررات لكل معاملة (كل مكرر هو يرقة واحدة)

غُطّيت الأطباق بورق ألمنيوم ووضعت على درجة حرارة 2±30 C ° (تم اختيار درجة حرارة الاختبار من خلال التجربة والمشاهدات المخبرية، إذ أبدت عندها العزلات أداء مثالياً من حيث السرعة في القتل والتطور داخل اليرقة العائل، ومن حيث زيادة أعداد النسل الناتج). سُجّلت أعداد اليرقات الحية والميتة من مكررات كل تركيز بعد 24، 48، 72 ساعة من المعاملة.

تحليل البيانات:

جرى تحليل البيانات إحصائياً باستخدام البرنامج الإحصائي R (R Core Team, 2013). من أجل مقارنة العزلات المختبرة في اختبار الجرعة القاتلة، استخدمت طريقة تحليل التباين Analyse of Variance (ANOVA) باستخدام عامل واحد One-Way ANOVA، من أجل حساب التباين بين متوسطات القتل بالمقارنة مع مرور الزمن لكل عزلة على حدى. كما تمت مقارنة متوسطات القتل بين العزلات الثلاثة المُختبرة باستخدام طريقة اختبار Tukey. حُسبت الجرعة القاتلة النصفية LD50 باستخدام اختبار Probit. حُللت البيانات عند مستوى المعنوية 1 % (*P*-value = 0.01).

النتائج:

تعريف العزلات النيماتودية على مستوى الجنس:

تميزت اليرقات الميتة بفعل النيماتودا باللون القرميدي، كما تبين من خلال الفحص المجهري للأطوار المعدية Ijs والذكور أن العزلات تنتمي إلى الجنس *Heterorhabditis*، إذ تميزت الأطوار المعدية Ijs بامتلاكها سنّاً على الناحية الظهرية لمقدمة الجسم وبأن فتحة الإطراح تقع تحت الحلقة العصبية، كذلك لُوحظ كيس سفاد يغطي كامل المنطقة الذيلية للذكور وفق المواصفات المحددة من قبل (Nguyen and Hunt, 2007).

تقييم شراسة العزلات النيماتودية ضد يرقات *G. mellonella* (اختبار الجرعة النصفية القاتلة):

سُجّلت نسب قتل يرقات *G. mellonella* بنتيجة كل عزلة من العزلات الثلاثة على درجة حرارة 30 C ° كما هو موضّح في الجدول رقم (1).

العزلة H1: لم تُسجّل في اليوم الأول أية فروق معنوية بين التراكيز المختبرة والشاهد ولم تسبب نسب موت تُذكر على يرقات الحشرة. ارتفعت نسبة القتل في اليوم الثاني وسُجّلت فروق معنوية بشكل أساسي بين التركيز 20 Ijs والشاهد إذ وصلت إلى80% عند التركيز 20 Ijs. أما في اليوم الثالث، فقد ارتفعت نسبة القتل إلى 100% عند التركيزين (15 و20 Ijs)، ولم تُسجّل فروق معنوية بين التراكيز الأربعة المختبرة.

العزلة H2: حقق التركيز 20 Ijs في اليوم الأول نسبة قتل وصلت حتى 80% بفروق معنوية كبيرة عن باقي التراكيز التي لم تسبب أية نسبة قتل تُذكر. في اليوم الثاني، وصلت نسبة القتل إلى 100%عند التركيز 20 Ijs، ولم تُلاحظ أية فروق معنوية بين التركيزين (10 و15 Ijs)، فيما حقق التركيز 5 Ijs أقل نسبة موت 20%. في اليوم الثالث، بلغت نسبة القتل 100 % عند التركيزين (15 و20 Ijs).

العزلة H6: لم تُظهر نتائج التحليل الإحصائي أية فروق معنوية في اليوم الأول بين التراكيز المُختبرة، وقد بلغت أعلى نسبة قتل 50% عند التركيز 10 Ijs. في اليوم الثاني، كانت جميع التراكيز متشابهة في فعاليتها إذ ارتفعت نسبة القتل مع زيادة التركيز بشكل خفيف ووصلت حتى 90 %عند التركيز 20 Ijs، أما في اليوم الثالث، فلم تُسجّل فروق معنوية بين التراكيز المختلفة، وكانت فقط بين التراكيز المُختبرة والشاهد.

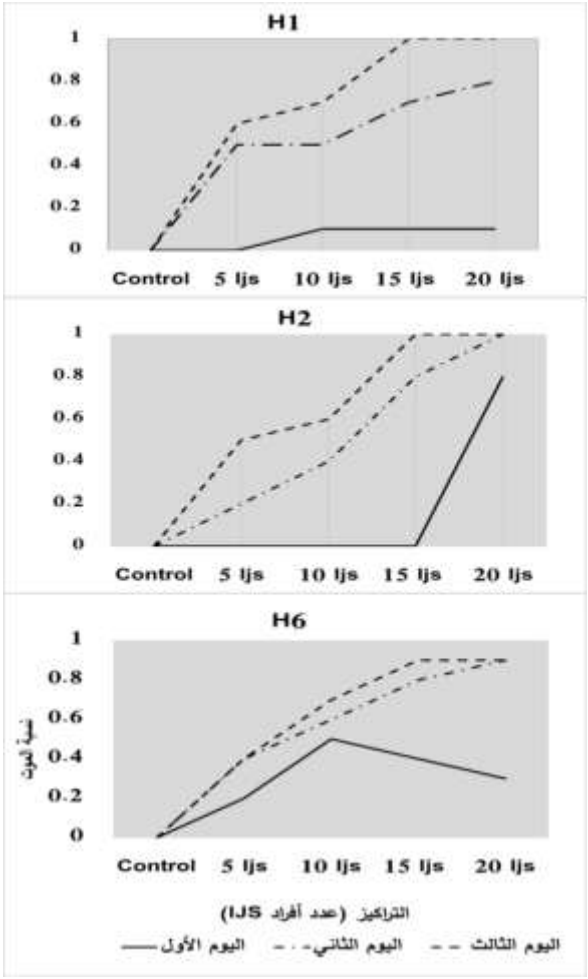
بشكل عام، من قراءة الجدول رقم (1) ومن نتائج اختبار Probit، يُلاحظ أن الجرعة اللازمة للعزلات لقتل نصف عدد اليرقات في اليوم الثاني LD50 للاختبار هي على التوالي 10.13 Ijs للعزلة H1، 10.44 IJs للعزلة H2 و9 Ijs للعزلة H6.

بمقارنة نسبة القتل المحققة من قبل العزلات المُختبرة عند كل تركيز من التراكيز الأربعة بعد 24، 48 و72 ساعة من المعاملة (الجدول رقم 2)، يُلاحظ عدم وجود فروق معنوية ذات أهمية فيما بينها، إذ تشابهت العزلات الثلاثة في شراستها وقدرتها على قتل يرقات *G. mellonella* في اليومين الثاني والثالث، أما في اليوم الأول، فقد تفوقت العزلة H2 على العزلتين H1 وH6 عند التركيز 20 Ijs إذ وصلت نسبة القتل إلى 80 %، وعند التركيز 10 Ijs، تفوقت العزلة H6 على باقي العزلات، إذ سجلت نسبة قتل 50 %.

بيُنت نتائج الاختبارات أيضاً ازدياد نسبة القتل مع ازدياد تركيز Ijs ومع ازدياد الزمن كما هو موضح في الشكل رقم 1.

الجدول رقم (1): نسبة قتل اليرقات *G. mellonella* (%) مخبرياً باستخدام ثلاث عزلات نيماتودا من الجنس *Heterorhabditis* بأربعة تراكيز والشاهد، والجرعة النصفية القاتلة LD50 في اختبار الجرعة النصفية القاتلة.

مدة التعرض (ساعة)	تركيز محضر النيماتودا يرقة Ijs /50 µl	العزلات المختبرة (*)			
		H1	H2	H6	*P*-value
24 h.	الشاهد	0	0.0^{b}	0	
	5 Ijs	0	0.0^{b}	0.2	**0.231**
	10 Ijs	0.1 bc	0.0^{b} c	0.5 Ab	**0.0037**
	15 Ijs	0.1	0.0^{b}	0.4	**0.112**
	20 Ijs	0.1 a	0.8^{a} a	0.3 B	**0.0029**
	***P*-value**	**0.736**	**<0.001**	**0.121**	
48 h.	الشاهد	0.0^{b}	0.0^{c}	0.0^{b}	
	5 Ijs	0.5^{ab}	0.2^{bc}	0.4^{ab}	**0.331**
	10 Ijs	0.5^{ab}	0.4^{ab}	0.6^{a}	**0.595**
	15 Ijs	0.7^{a}	0.8^{a}	0.8^{a}	**0.734**
	20 Ijs	0.8^{a}	1.0^{a}	0.9^{a}	**0.555**
	***P*-value**	**0.0023**	**<0.001**	**<0.001**	



	0.0^{c}	0.0^{c}	0.0^{b}	الشاهد	**72 h.**
0.796	0.4^{bc}	0.5^{b}	0.6^{a}	5 Ijs	
0.83	0.7^{ab}	0.6^{bc}	0.7^{a}	10 Ijs	
0.0838	0.9^{a}	1.0^{a}	1.0^{a}	15 Ijs	
0.404	0.9^{a}	1.0^{a}	1.0^{a}	20 Ijs	
	<0.001	**<0.001**	**<0.001**	***P*-value**	
	9 Ijs	**10.44 Ijs**	**10.13 Ijs**	**LD50**	

(*): تشير الأحرف المختلفة (a, b, c) إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات بالنسبة لكل مدة تعريض (عند مستوى معنوية 1 %)

الشكل رقم (1): ازدياد نسبة قتل اليرقات *G. mellonella* (%) مخبرياً باستخدام ثلاث عزلات نيماتودا من الجنس *Heterorhabditis* مع ازدياد تركيز Ijs بعد 24، 48، 72 ساعة من التعرض للنيماتودا.

المناقشة:

تختلف القدرة الإمراضية التي يسببها معقد (نيماتودا– بكتيريا) للحشرة العائل بشكل كبير فيما بين أنواع النيماتودا المختلفة، يعود هذا الاختلاف إلى عوامل متعلقة ببيولوجية النيماتودا والبكتيريا المتعايشة معها، لذلك تم تقييم شراسة ثلاث عزلات من الجنس *Heterorhabditis* والمقارنة فيما بينها لمعرفة العزلة الأشرس والأسرع في القتل. أعطت العزلات الثلاثة المختبرة فعالية ممتازة عند درجة حرارة 30 ±2 C °، وهذا يؤكد ما وجده **Tarasco وآخرون (2015)** عند دراسة فعالية عزلات مختلفة من النيماتودا عند درجات حرارة مختلفة، إذ لوحظ أن بعض الأنواع مثل *H. bacteriophora* قد أعطى أداء مثالياً عند درجات حرارة بين 30– C° 35.

في الدراسة الحالية، حققت العزلات المختبرة نسبة قتل بعد 24 ساعة من تنفيذ الاختبار وصلت إلى 80% للعزلة H2 عند التركيز 20 Ijs و50% للعزلة H6 عند التركيز 10 Ijs. تختلف هذه النتائج مع نتائج **(Khashaba and Moghaieb, 2020)**، إذ لم تُسجّل أي نسبة قتل لليرقات خلال الـ 24 ساعة الأولى من تنفيذ الاختبار، ومع نتائج **Campos-Herrera وآخرون (2007)** التي بيّنت أن عزلات *Steinernema* احتاجت إلى 1.94− 2 يوم لإحداث نسبة قتل مرتفعة، إذ أنه كلما كان الزمن اللازم لكل تركيز من تراكيز Ijs لقتل نصف مجتمع يرقات *G. mellonella* أقل اعتُبرت العزلة النيماتودية أكثر شراسة. بلغت نسبة القتل في الدراسة الحالية 90 و100 % للعزلات الثلاثة عند التركيز 20 Ijs بعد 72 ساعة من تنفيذ الاختبار.

سُجلت أقل نسبة لموت اليرقات عند التركيز 5 Ijs إذ تأرجحت بين 20− 60%، كما لوحظ بنتيجة الاختبار أن نسبة القتل تزداد مع ازدياد التركيز والزمن. تتفق نتائج دراستنا مع نتائج **أحمد وآخرون (2022)** التي أظهرت شراسة عزلات نيماتودية تابعة للجنس *Heterorhabditis* معزولة من مناطق مشابهة لمنطقة الدراسة بعد 48 ساعة من تنفيذ الاختبار، إذ تراوحت نسبة القتل بين 79− 100% للعزلات المختبرة عند التركيز 25 Ijs على درجة حرارة 25 °C.

الاستنتاجات:

1. أثبتت النتائج مخبرياً قدرة العزلات الثلاثة المختبرة من الجنس *Heterorhabditis* وشراستها في قتل يرقات *G. mellonella*.
2. تفوقت العزلة H2 على باقي العزلات بقدرتها على إحداث القتل بعد 24 ساعة من تنفيذ الاختبار، ووصلت إلى 100% بعد 72 ساعة لجميع العزلات.

النتائج الايجابية لهذه لدراسة تعطي أهمية تطبيقية ودليل على شراسة العزلات المحلية، ويقود إلى ضرورة اختبار هذه العزلات حقلياً على أنواع حشرية ضارة وذات أهمية اقتصادية كبيرة في المنطقة الساحلية من سورية كحافرات الأنفاق وديدان الثمار وضد الحشرات الساكنة للتربة لاستخدامها في برامج المكافحة.

المراجع:

أحمد، محمد وندى ألوف ومي علي (2022). اختبار شراسة بعض العزلات المحلية من النيماتودا الممرضة للحشرات Entomopathogenic Nematodes على يرقات فراشة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). مجلة جامعة تشرين للعلوم البيولوجية، المجلد 44 (2): 71− 80.

Burnell, A.M.; and S.P. Stock (2000). *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts – lethal pathogens of insect. Nematology. 2, 31–42. DOI: 10.1163/156854100508872

Campbell, JF.; and R. Gaugler (1993). Nictation behaviour and its ecological implications in the host search strategies of entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae). Behavior, 126: 155–169.

Campbell, JF.; and R. Gaugler (1997). Inter-specific variation in entomopathogenic nematodes foraging strategy: Dichotomy or variation along a continuum. Fundamental and Applied Nematology, 20: 393–398.

Campos-Herrera, R.; M. Escuer; S. Labrador; L. Robertson; L. Barrios; and Gutiérrez, C. (2007). Distribution of the entomopathogenic nematodes from La Rioja (Northern Spain). Journal of Invertebrate Pathology 95: 125-139. doi:10.1016/j.jip.2007.02.003.#Devi, G. (2021). Mass rearing of greater wax moth larvae, *Galleria mellonella* for entomopathogenic nematodes studies. *The Pharma Innovation Journal,* 1514-1519.

Dillman, A.R.; J.M. Chaston.; B.J. Adams.; T.A. Ciche.; H. Goodrich-Blair.; S.P. Stock and P.W Sternberg (2012). An entomopathogenic nematode by any other name. PLoS Pathogens, 8, 3, e1002527. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002527

Forst, S.; and D. Clarke (2002). *Bacteria–Nematode Symbiosis.* CABI, Entomopathogenic Nematodes, 57-74.

Georgis RAM.; M. Koppenhofer ; L.A. Lacey; G. Belair; L.W. Duncan; P.S. Grewal.; M. Samish; L. Tan; P. Torr; and R.W.H.M. van Tol. (2006). Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. Biological Control, 38: 103-123.

Griffin, CT.; N.E. Boemare; E.E. Lewis.2005., Biology and behaviour. In: Grewal, P.S.; R.U. Ehlers; D. Shapiro-Ilan. (eds). Nematodes as biocontrol agents. Wallingford, UK: CAB International, pp. 47–64.

Hominick, W.M.; (2002). Biogeography. In: Gaugler, R. (Ed.), Entomopathogenic Nematology. CABI Publishing, Wallingford, (U.K.), pp. 115-143.

Khashaba, E. K.; R.A. Moghaieb; A.M. Abd El Azim; and S.M. Ibrahim (2020). Isolation, identification of entomopathogenic nematodes, and preliminary study of their virulence against the great wax moth, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). Egyptian Journal of Biological Pest Control, 30: 55. DOI: 10.1186/s41938-020-00257-6

Koppenhofer, A. M.; D.I. Shapiro-Ilan; and I. Hiltpold. (2020). Entomopathogenic Nematodes in Sustainable Food Production. Frontiers in Sustainable Food Systems, 4: 125. doi: 10.3389/fsufs.2020.00125

Koppenhofer, H.S. (2010). Bacterial Symbionts of *Steinernema* and *Heterorhabditis.* Brill,735-808.

Lacey, L.A.; D. Grzywacz; D.I. Shapiro-Ilan; R. Frutos; M.Brownbridg; and Goettel, M.S.; (2015). Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. Journal of Invertebrate Pathology. 132: 1-41.

Lalitha K.; S. Karthi; G. Vengateswari; R. Karthikraja; P. Peruma; and M.S. Shivakumar.; (2018). Effect of entomopathogenic nematode of *Heterorhabditis indica* infection on immune and antioxidant system in lepidopteran pest *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Parasitic Diseases, 42(2): 204–211.

Lewis E.E. (2002). Behavioural ecology. In: Gaugler R, (Ed.). Entomopathogenic nematology. Wallingford, UK: CAB International, pp. 205–223.

Lewis E.E.; R. Gaugler; and R. Harrison; (1993). Response of cruiser and ambusher entomopathogenic nematodes (Steinernematidae) to host volatile cues. Canadian Journal of Zoology, 71: 765–769.

Metwally, H. M.; G.A. Hafez; M.A. Hussein; M.A. Hussein; H.A. Salem; and M.M. Saleh., (2012). Low Cost Artificial Diet for Rearing the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) as a Host for Entomopathogenic Nematodes. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 22(1): 15-17.

Nguyen, K.B.; and D.J. Hunt. (2007). Entomopathogenic nematodes: systematics, phylogeny and bacrterial symbionts. Brill Leiden-Boston, 1- 47.

Poinar, G.O.Jr. (1975). Description and biology of a new parasitic rhabditoid *Heterorhabditis bacteriophora* n.gen., n.sp (Rhabditida: Heterorhabditidae n. fam.). Nematologica, 21: 463-470.

Stock, S.P. (2015). Diversity, biology and evolutionary relationships. In: Campos-Herrera, R. (Ed.), Nematode pathogeneses of insects and other pests. Springer International Publishing, Switzerland, pp. 3-27.

Tarasco, E.; M. Oreste.; X. Li; and L. Qai-zhi. (2015). Infectivity of Mediterranean native entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) from natural habitats in relation to temperature. Journal of Zoology, 98: 109-114.

Woodring JL.; and H.K. Kaya. (1988). Steinernematid and Heterorhabditid nematodes: a handbook of biology and techniques. Southern cooperative series bulletin, 331, Arkansas Agricultural Experimental station, Fayetteville, Arkansas.

Preliminary evaluation of the virulence of three native isolates of Entomopathogenic nematodes against the great wax moth larvae *Galleria mellonella*. under laboratory conditions

Samar H. Othman [(1)], Nadine N. Ali [(1)] and Nada A. Allouf [(1)]

(1). Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Engineering, Tishreen University, Latakia, Syria.

(*Corresponding author: Samar H Othman. samar.93.sam@gmail.com).

Received:7/03/2024 Accepted: 2/06/2024

Abstract:

This study aimed to evaluate the virulence of three native isolates of nematodes *Heterorhabditis* (H1, H2, and H6), against the last instar of *Galleria mellonella* larvae, using the dose-response test, under laboratory conditions. The experiment was conducted in the laboratory in 2023. The three isolates were compared at four concentrations (5, 10, 15, and 20 infective juveniles IJs/1 insect larvae) at 30±2 C°. The results showed that H2 and H6 caused mortality during the first 24 hours after treatment. Mortality rates reached 80% and 50% using 20 and 10 Ijs, respectively. On the second day, significant differences were noticed between the three isolates and the control. Mortality rate achieved 80%, 90%, 100% for H1, H6 and H2, respectively. No significant differences were observed between the three isolates in terms of their killing ability except on the first day where H2 was the highest. LD50 after 48 h was 10.13, 10.44, 9 Ijs for H1, H2, and H6, respectively.

Keywords: Entomopathogenic Nematode, efficiency, *Heterorhabditis*, *Galleria mellonella*, Dose response.