دراسة مخبرية لتأثير درجات الحرارة في فاعلية بعض عزلات النيماتودا الممرضة للحشرات من الجنسين *Heterorhabditis* و *Steinernema* المستخلصة من ترب بعض بساتين الفاكهة في ريف دمشق

The Impact of Different Temperature Levels on Pathogenic Efficacy for some Strain Entomopathogenic Nematodes Isolated from some Orchards in Damascus Countryside.

Received 7 March 2010 / Accepted 2 September 2010

م. أماني جاويش[1]، أ.د عبد النبي بشير[1]، و أ.د خالد العسس[1]

(1): قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - جامعة دمشق - سورية.

المُلخَّص

نُفذ البحث خلال عامي 2008 و 2009م، بهدف دراسة الفاعلية الإمراضية لست عزلات من النيماتودا المستخلصة من ترب بعض بساتين محافظة ريف دمشق/سورية، بتركيز 250 فرد/مل، ثلاث عزلات منها تنتمي للجنس *Heterorhabditis*، وهي: PHA و MHA وDKH ، والعزلات الثلاث الأخرى تنتمي للجنس *Steinernema* وهي: RM و RST و RTA، وذلك على يرقات في العمر الأخير لدودة الشمع (*Galleria mellonella* L)، على درجات حرارة مختلفة (15 و 20 و 25 و 30م°). تمّ تقويم الفاعلية بالاعتماد على معرفة معدل الموت ليرقات الحشرة ومعدل التكاثر للنيماتودا تحت درجات الحرارة المختلفة. أظهرت النتائج أنّ درجة الحرارة 25 م° هي الدرجة المثلى لكل العزلات المستخدمة، وذلك من حيث معدل الموت، كما بَينت النتائج أنّ عزلات جنس *Steinernema* كانت أكثر تأقلماً مع درجات الحرارة المنخفضة بالمقارنة مع عزلات جنس *Heterorhabditis*، التي حققت النسبة الأعلى للموت على درجة 15 م°، في حين أنّ العزلات التابعة للجنس *Heterorhabditis* حققت المعدل الأعلى للموت على درجة حرارة 30 م°. وبينت النتائج أنّ الوقت اللازم لقتل 50 % من يرقات دودة الشمع على درجات الحرارة المختلفة يتناقص مع زيادة درجة الحرارة عند كل العزلات، وكانت أقصر دورة حياة للعزلات على درجة الحرارة 25 م°، أما على الدرجة 15م° فكانت العزلات التابعة لجنس *Steinernema* هي الأسرع في دورة الحياة، في حين أنّ العزلات التابعة لجنس *Heterorhabditis* كانت دورة حياتها بطيئة وطويلة عند هذه الدرجة من الحرارة، حيث خرجت الأفراد المعدية بعد وقتٍ طويل من حدوث الإصابة، أما عند درجة حرارة 30م° فكانت العزلات التابعة لجنس *Heterorhabditis* هي الأسرع في دورة الحياة، وأعطت العزلات التابعة لجنس *Steinernema* أعلى كثافة عددية للطور المعدي عند درجة الحرارة 15م°، في حين أعطت العزلات التابعة لجنس *Heterorhabditis* أعلى كثافة لأفراد الطور المعدي عند الدرجة 30م°، في حين لم تخرج الأفراد المعدية للعزلة RST التابعة لجنس *Steinernema* عند هذه الدرجة من الحرارة. وكانت حيوية الأفراد المعدية القليلة التي خرجت

©2013 The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands, All rights reserved - ISSN 2305- 5243.

من العزلتين RM وRTA التابعتين لجنس *Steinernema* عند درجة الحرارة 30 م° ضعيفة.

الكلمات المفتاحية: الفاعلية الإمراضية، العزلات، النيماتودا، درجات حرارة.

Abstract

Study was conducted to verify the pathogenic efficacy of six nematodes strains isolated from soil of some fields of Damascus Countryside using the concentration of 250 individual / ml on the last stage wax worm, *Galleria mellonella* larvae under different temperatures (15, 20, 25 and 30°C), where three isolates, belong to the genus *Heterorhabditis* and three isolates belong to *Steinernema*. The assessment of effectiveness was calculated depending on the knowledge of the death and reproduction rate of the nematodes under different temperature levels.

Results showed that the temperature 25°C is optimal for all isolates used in terms of the death rate, as results showed that the isolates of the genus *Steinernema* more adapted to low temperatures compared to *Heterorhabditis* isolates, where these isolates had the highest percentage of death at 15°C, while the *Heterorhabditis* isolates achieved the highest rate of death when the temperature was 30°C. The time required to kill 50% of the wax worm larvae at different temperatures was calculated, it decreased with increasing temperature for each of the isolates. The results showed that the shortest life cycle was at the temperature 25°C, whereas at 15°C *Steinernema* isolates were the fastest in the life cycle, while the life cycle of the *Heterorhabditis* isolates was slow and long at this temperature. Where infectious individuals exited after long of infection, when the temperature was 30°C *Heterorhabditis* isolates were the fastest in life cycle. The reproduction rate of the isolates were calculated under different temperatures and the results showed that *Steinernema* isolates gave the highest density of the infectious stage at the temperature 15°C, also *Heterorhabditis* isolates had achieved the highest concentration of the infectious stage at 30°C whereas infectious individuals of *Steinernema* isolate RST did not exit at this temperature. And the few infectious individuals that emerged from the isolates RM and RTA of the genus *Steinernem*a at the temperature 30°C were vitality weak.

Keywords: Pathogenic efficacy, Isolates, Nematodes, Temperatures.

المقدمة

تشكل النيماتودا المرضة للحشرات Entomo Pathogenic Nematodes (EPN) جزءاً مهماً من الأعداء الطبيعية التي تسهم في الحد من أضرار الكثير من الآفات الزراعية والمحافظة على التوازن لأنواع مختلفة من مفصليات الأرجل. وتستخدم بضعة أنواع من الجنسين *Steinernema*(Rhabditida:Steinernematidae) و *Hetrorhbditis*(Rhabditida:Hetrorhbditidae) كمبيدات حيوية حشرية (Biological Insecticides)، وتنتج على نطاق تجاري من قبل عدد من الشركات في العالم (Woodring و Kaya، 1988، Georgis، 1990، Grewal، 2002). وتستخدم حالياً بنجاح لمكافحة بعض الآفات الحشرية التي تنتمي لرتب مختلفة مثل حفار ساق التفاح (*Zeuzyra pyrina*)، وحفار ساق الذرة الأوروبي (*Pyrausta nubilalis*)، ودودة اللوز الأمريكية (*Heliothes armigera*)، والديدان القارضة (*Euxoa segetum*)، والديدان البيضاء (*Polyphylla phollo*)، ودودة ثمار التفاح (*Cydia pomonella*)، والديدان السلكية (*Agriotes lineatus*)، وسوسة النخيل الحمراء (*Rhynchophorus ferrugineus*) (Akhurst، 1986، Mracek وJenser، 1988). تُعد درجات الحرارة العامل البيئي الأكثر أهمية في بقاء النيماتودا الممرضة للحشرات،

وتختلف درجة الحرارة المناسبة لنشاط النيماتودا المرضة للحشرات باختلاف منشأ النيماتودا، فتتحمل النيماتودا ذات المنشأ الاستوائي مثل النوع *S. glaseri* درجات الحرارة المرتفعة أكثر من النيماتودا ذات المنشأ في المناطق المعتدلة مثل النوع *S. carpocapsae*، الذي يتحمل البقاء والاستمرار في ترب ذات درجة حرارة منخفضة (Kaya، 1990 ؛ Curran، 1993؛ Griffin، 1993). واشار Brown وزملاؤه (2002) إلى أنّ النيماتودا المرضة للحشرات تتجنب الحرارة غير الملائمة بالانتقال الى عمق أكثر في التربة وعدم الخروج من العائل. ونظراً لقلة الدراسات المرتبطة بتأثير درجات الحرارة في فاعلية النيماتودا المرضة للحشرات أو ندرتها في سورية، كان من الضروري اجراء هذا البحث بهدف دراسة فاعلية بعض عزلات النيماتودا المستخلصة من ترب بعض بساتين الفاكهة في محافظة ريف دمشق على يرقات دودة الشمع الكبرى (*Galleria mellonella* L.)، عند درجات حرارة مختلفة.

مواد البحث وطرائقه

1 - مكان البحث:

نُفذت الدراسة خلال عامي 2008 و2009، حيث تم العمل المخبري في مخبر الأعداء الحيوية غير الحشرية في مركز بحوث ودراسات المكافحة الحيوية في كلية الزراعة في جامعة دمشق/ سورية، ونفذ العمل الحقلي في بعض البساتين والحقول التابعة لمحافظة ريف دمشق.

2 - طرائق العمل:

▪ جمع عينات التربة:

جُمعت 158 عينة تربة، تزن كل منها 1كغ تقريباً من بساتين أشجار الفاكهة والزيتون وكروم العنب، ونُقلت إلى مخبر الأعداء الحيوية غير الحشرية ليتم الكشف عن وجود النيماتودا المرضة للحشرات. تمّ أخذ العينات من منطقة ظل الشجرة وأقرب ما يمكن إلى الساق، على عمق 5 إلى 30 سم باستعمال المسبار، حيث كان متوسط درجة حرارة التربة على هذا العمق يتراوح بين 12.04 و22.27 م° في شهر نيسان/ أبريل، وبين 16 و 26.14 م°في شهر أيار/ مايو، وبين 26.13 و 30.23 م° في شهر حزيران/ يونيو، وتمّ الحصول على درجة حرارة التربة بوساطة ميزان درجة حرارة زئبقي.

▪ عزل النيماتودا المرضة للحشرات من عينات التربة:

تمّ العزل خلال 24 ساعة من جمع العينات باستعمال طريقة طعوم فراشة الشمع (Bedding وAkhurst، 1975)، حيث تم نقل كل عينة ترابية من الكيس إلى وعاء بلاستيكي بعمق 10سم، وخلطت جيداً بعد ترطيبها بالماء بوساطة مرش يدوي عند الحاجة، ثم وضعت خمس إلى سبع يرقات من دودة الشمع في الطور اليرقي الأخير في أسفل مرطبان بلاستيكي سعة نصف كيلو غرام، وأضيفت التربة فوقها حيث وزعت عينة التربة الواحدة على أربعة مرطبانات في أسفل كل منها 5 إلى 7 يرقات من دودة الشمع، وسُجلت عليها المعلومات الموجودة على الكيس البلاستيكي، بالإضافة إلى تاريخ وضع اليرقات، ثم وضعت المرطبانات في الحاضنة على درجة الحرارة 25 درجة مئوية ورطوبة 65 %، بعد ذلك تمّ الكشف عن اليرقات الميتة كل ثلاثة أيام، حيث أخذت هذه اليرقات وتم تعقيمها سطحياً في محلول هيبوكلوريت الصوديوم 1 %، ثمّ وضعت على أطباق الاستخلاص بطريقة مصيدة وايت (White trap)، (White، 1927)، وتمّ اختيار هذه الطريقة بهدف الحصول على النيماتودا المرضة للحشرات دون وجود أنواع أخرى من النيماتودا (المرضة للنبات والرمية وغيرها).

▪ تصنيف النيماتودا المرضة للحشرات:

تمّ تحديد جنس النيماتودا المرضة للحشرات اعتماداً على أعراض الإصابة وبعض العلامات المميزة لكل جنس حسب Nguyen و Smart (1996) و Adams و Nguyen (2002) و Nguyn وHunt (2007). وتمّ اعطاء العزلات المختلفة التي تم الحصول عليها رموزاً وذلك تبعاً لنوع الأشجار واسم المنطقة لتسهيل العمل (الجدولان 1 و2).

الجدول 1. العزلات التابعة للجنس *Heterorhabditis*

نوع الشجرة	الدراق	المشمش	العنب	المشمش	الأجاص	المشمش	الجانرك	المشمش	الحمضيات	الخوخ
اسم المنطقة	جسرالغيضة	جسرالغيضة	حينة	بيت جن	حوش عرب	حوش عرب	عسال الورد	أبو جرش	أبو جرش	مرج السلطان
الرمز	DKH	MG	VH	BJM	PHA	MHA	AAG	MA	GLA	MSKH

الجدول 2. العزلات التابعة للجنس *Steinernema*

نوع الشجرة	الدراق	المشمش	التفاح	التفاح	الخوخ	المشمش
اسم المنطقة	بيت جن	رنكوس	سهل رنكوس	رنكوس	النشابية	حران العواميد
الرمز	DBJ	RM	RST	RTA	NKH	HAM

▪ دراسة تأثير درجات الحرارة في فاعلية العزلات المختبرة من النيماتودا الممرضة للحشرات من الجنسين *Heterorhabditis* و *Steinernema*:

دُرس تأثير أربع درجات حرارة مختلفة (15، 20، 25، 30 م°) في إمراضية العزلات المختبرة من الجنسين *Heterorhabditis* و *Steinernema* على يرقات في العمر الأخير لدودة الشمع (*G.mellonella*)، واستُعملت هذه العزلات على شكل معلق مائي بتركيز 250 فرد/مل [250 فرد هو عدد أفراد الطور المعدي الذي يسمى Dauer Juvenile (DJ) وهو الطور اليرقي الثالث (J3) في المليمتر الواحد. تم تحديد الفاعلية من خلال معرفة معدل موت اليرقات ومعدل تكاثر النيماتودا بإحصاء أعداد أفراد الطور اليرقي الثالث الخارجة من اليرقات الميتة لدودة الشمع بالنسبة لكل عزلة تحت درجات الحرارة المختلفة. نُفذ العمل في حاضنة مخبرية على رطوبة 60 % ± 5 (وهي رطوبة مناسبة لنشاط النيماتودا الممرضة للحشرات)، باستعمال أطباق بتري قطرها 15سم. حُضرت التراكيز المطلوبة من عزلات النيماتودا المستخدمة، ثم وضعت ثلاث أوراق ترشيح في أسفل كل طبق وأضيف لها 5 مل من محلول النيماتودا المحضر بالتركيز المطلوب. وضع في كل طبق عشر يرقات من دودة الشمع، ثمَّ غطيت الأطباق ودونت عليها المعلومات اللازمة (اسم العزلة، ودرجة الحرارة، ورقم المكرر). بلغ عدد المكررات ثلاثة من كل عزلة لكل درجة حرارة بالإضافة للشاهد، الذي أضيف إليه الماء فقط. أُخذت القراءات بعد 24 و 48 و 72 ساعةً، ثم بعد 5 أيام، وذلك بالنسبة لعدد اليرقات الميتة، ثم وضعت اليرقات الميتة على أطباق الاستخلاص (مصيدة وايت) لاستقبال الأطوار المعدية من النيماتودا وسُجل تاريخ خروج الطور المعدي من كل طبق، وتاريخ انتهاء وخروج الأفراد المعدية وبالتالي الفترة الزمنية التي استغرقتها الأفراد المعدية للخروج من جسم اليرقات، وتمَّ تسجيل عدد أفراد الطور المعدي جميعها والتي خرجت من يرقات دودة الشمع حتى انتهاء خروجها وذلك في كل طبق بتري (Shamseldean، 1994).

▪ التحليل الإحصائي Statistical analysis:

حُللت النتائج إحصائيا باستخدام تحليل التباين ANOVA، وباستخدام برنامج SPSS لحساب أقل فرق معنوي عند مستوى معنوية 5 %.

النتائج والمناقشة

1 - اختبار تأثير درجات الحرارة المختلفة في الفاعلية الإمراضية للعزلات المحلية المختبرة للنيماتودا الممرضة للحشرات للجنسين *Heterorhabditis* و *Steinernema*:

1 - 1 - معدل الموت ليرقات دودة الشمع عند استعمال عزلات مختلفة من النيماتودا تحت درجات حرارة مختلفة:

- الدرجة 15م°±1: حققت العزلة RTA من الجنس *Steinernema* أعلى متوسط نسبة للموت (64 %)، وكانت أكثر تأقلماً مع درجات الحرارة المنخفضة، وتفوقت معنوياً على باقي العزلات عند هذه الدرجة، في حين حققت العزلة RM من الجنس *Steinernema* معدلات موت متوسطة (60.67 %)، أما العزلة RST التي تنتمي للجنس السابق نفسه، فقد بلغ متوسط نسبة الموت فيها 41.67 %. في حين بلغ متوسط معدل الموت في العزلة DKH من الجنس *Heterorhabditi* 21.67 %، وبلغ متوسط نسبة الموت عند العزلة MHA من الجنس *Heterorhabditi* 17 %، في حين بلغ أقل متوسط للموت (1 %) عند العزلة PHA من الجنس *Heterorhabditis* (الجدول3).

- الدرجة 20م°±1 : حققت العزلة RM من الجنس *Steinernema* أعلى نسبة موت (99.33 %)، وتفوقت معنوياً على باقي العزلات، وتأتي العزلتان RST و RTA من الجنس *Steinernema*، في المرتبة الثانية حيث بلغ متوسط معدل الموت عند هذه الدرجة من الحرارة 73، و72 % على التوالي، أما بالنسبة للعزلتين DKH و MHA من الجنس *Heterorhabditi* فبلغت نسبة الموت فيهما 65.67 و63 %على التوالي، في حين بلغت نسبة الموت عند العزلة PHA من الجنس *Heterorhabditi* قرابة 46 % مع ملاحظة وجود فروق معنوية بين العزلات (الجدول 3).

- الدرجة 25م°±1: حققت العزلة RM والعزلة MHA أعلى معدل للموت بلغ بالمتوسط 99.67% و 99.33 % على التوالي. وتفوقت هاتان العزلتان معنوياً على باقي العزلات، في حين بلغت نسبة الموت عند العزلتين PHA و DKH 90 و 92.33 %على التوالي، وكان متوسط نسبة الموت 86 % عند العزلة RTA، وحققت العزلة RST أقل معدل للموت (73.67 %) (الجدول 3).

- الدرجة 30 م°±1: تفوقت العزلات التابعة للجنس *Heterorhabditis* معنوياً على العزلات التابعة للجنس *Steinernema*، حيث بلغت نسبة الموت عند العزلات MHA و PHA وDKH قرابة 99.67 % 98.33 و7 98.6%على التوالي، ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي أية فروقات معنوية بين هذه العزلات الثلاث عند هذه الدرجة من الحرارة، في حين بلغت نسبة الموت عند العزلات RM و RST و RTA 19.67 و 29 و 52.33 %على التوالي، مع وجود فروقات معنوية بين هذه العزلات (الجدول 3).

وتظهر نتائج التحليل الإحصائي تفوق درجة الحرارة 25م°±1 معنوياً

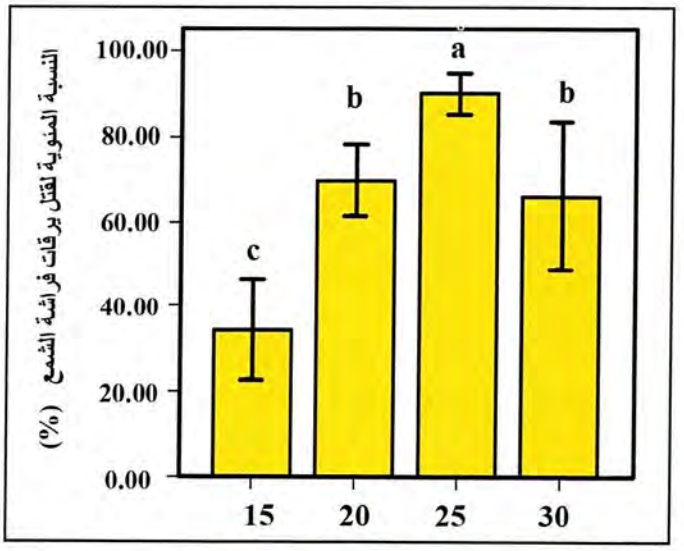
الجدول3. متوسط النسبة المئوية (%) للموت عند تطبيق عزلات مختلفة من النيماتودا على يرقات دودة الشمع (*Galleria mellonella*) تحت درجات حرارة مختلفة.

الجنس	العزلة	متوسط نسبة الموت (%)			
		درجات الحرارة (م°)			
		15 ± 1	20 ± 1	25 ± 1	30 ± 1
Steinernema	RST	41.67 ^{c}	73.00 ^{b}	73.67 ^{d}	29.00 ^{c}
Steinernema	RM	60.67 ^{b}	99.33 ^{a}	99.67 ^{a}	19.67 ^{d}
Steinernema	RTA	64.00 ^{a}	72.00 ^{b}	86.00 ^{c}	52.33 ^{b}
Heterorhabditis	PHA	1.00 ^{f}	46.00 ^{d}	90.00 ^{bc}	98.33 ^{a}
Heterorhabditis	MHA	17.00 ^{e}	63.00 ^{c}	99.33 ^{a}	99.67 ^{a}
Heterorhabditis	DKH	21.67 ^{d}	65.67 ^{c}	92.33 ^{b}	98.67 ^{a}

* القيم المتبوعة بأحرف مختلفة يوجد بينها فروقات معنوية عند مستوى معنوية 0.05، وذلك بين العزلات عند كل درجة حرارة.

على باقي درجات الحرارة من حيث معدل القتل، ويظهر الشكل 1 تأثير درجات الحرارة في النسبة المئوية لقتل يرقات دودة الشمع.

وتتوافق هذه النتائج مع ما توصل إليه Kung وزملاؤه (1991)، من أنّ المدى الحراري لنشاط النيماتودا الممرضة للحشرات ضيق، وتقل القدرة على إحداث العدوى والموت بشكل ملحوظ عند درجات الحرارة المرتفعة والمنخفضة، حيث تعد الحرارة من العوامل المهمة التي تؤثر في تطبيقات النيماتودا الممرضة للحشرات سلباً أو إيجاباً في مناطق مناخية مختلفة، وبالتالي فإنّ أفضل عزلات النيماتودا هي التي تملك مجالاً حرارياً واسعاً، وتتأقلم نوعاً ما مع كل درجات الحرارة. يعود تطور القدرة على الإصابة عند النيماتودا الممرضة للحشرات ومدى توسع حدود الإصابة بشكل كامل أو جزئي لتطور مستوى نمو البكتريا المتعايشة *Photorhabdus* *Xenorhabdus* (Grewal وزملاؤه، 1993).



الشكل 1. تأثير درجات الحرارة في النسبة المئوية لقتل يرقات فراشة الشمع.

* القيم المتبوعة بأحرف مختلفة يوجد بينها فروقات معنوية عند مستوى معنوية 0.05.

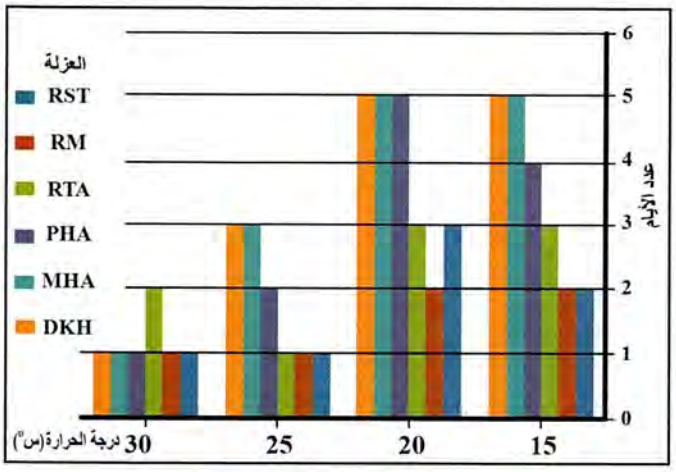
تؤثر الحرارة بشكل مباشر في مستوى تكاثر البكتريا المتعايشة وحيوية النيماتودا وقدرتها على الإصابة، حيث أثبت Milstead (1981) أنّ تطور أنواع البكتريا *Photorhabdus* تم تثبيطه عند درجة 12 م°، وهذه النتائج تتشابه إلى حد ما مع النتائج التي تم التوصل إليها في هذه الدراسة. إن حدوث الموت عند العائل مرتبط بمقدار استجابة هذا العائل للجرعة البكتيرية الواصلة إلى أنسجته، وتزداد هذه الجرعة أوتنقص مع معدل التكاثر البكتيري، وهذا التكاثر متلازم تماماً مع درجات الحرارة، لهذا يجب عند دراسة القدرة الإمراضية للنيماتودا الأخذ بعين الاعتبار دراسة الإمراضية المتلازمة (بكتريا - نيماتودا)، يضاف إلى ذلك تأثير الحرارة في حركة النيماتودا باتجاه العائل واختراقها لجسمه من خلال فتحات الجسم الطبيعية (Byers و Poinar، 1981).

ذكر Stiener (1996) أنّ فشل النوع *S. feltiae* في إمراضيته ليرقات فراشة الشمع *G. mellonella* يعود إلى قدرته الضعيفة على الحركة عند درجة الحرارة 6 م°، لذلك فإنه عند استخدام النيماتودا حقلياً لابد أن تؤخذ مواصفات المنطقة الحرارية بعين الاعتبار، وبالتالي اختيار عزلة النيماتودا المتوافقة حرارياً مع هذه المنطقة. وتبين من هذه الدراسة أنّ العزلات التابعة للجنس *Steinernema* قد تفوقت معنوياً على باقي العزلات من الجنس *Heterorhabditis* عند درجة الحرارة 15م°± 1 (الجدول3)، وتكون هذه العزلات فعّالة ضد الحشرات النشطة في الفصول الباردة، وهي متأقلمة أكثر مع درجات الحرارة الباردة، وهذا يتفق مع ما وجده كثير من الباحثين، وهو أنّ النيماتودا التابعة للجنس *Steinernem* منتشرة بصورة كبيرة في المناطق المعتدلة والباردة مثل بريطانيا (Hominick و Brisco، 1990) وألمانيا (Ehlers وزملاؤه،1991) ، وإيرلندا (Griffen و Downes، 1991)، وسكوتلاندا (Boag وزملاؤه، 1992)، والنروج (Haukeland، 1993). وتفوقت العزلات التابعة للجنس *Heterorhabditis* معنوياً على العزلات التابعة للجنس

Steinernema عند درجة الحرارة 30 م°± 1، وبالتالي يمكن استعمالها ضد الحشرات التي تنشط في الصيف كونها متأقلمة أكثر مع درجات الحرارة العالية، وهذا يتفق مع ما وجده Jaworaska (1992) من أن النيماتودا من الجنس *Heterorhabditis* متكيفة مع الأجواء الحارة، وهي شائعة الوجود في المناطق المدارية وشبه المدارية، مثل استراليا (Akhurst و Bedding، 1986)، وهاواي (Akhurst و Brooks، 1984)، ومصر (Shamseldean وAbd Elgawad، 1994).

1 - 2 - الوقت اللازم لقتل 50 % من يرقات دودة الشمع عند درجات حرارة مختلفة:

اختلفت المدة اللازمة لقتل 50 % من العائل الحشري (يرقات دودة الشمع) باختلاف العزلة المستخدمة وباختلاف درجة الحرارة، فعند الدرجة 15م° ± 1 استغرقت العزلات التابعة للجنس *Steinernema* وقتاً قصيراً لإحداث العدوى والموت (48 ساعة)، في حين تأخرت عزلات الجنس *Heterorhabditis* في إحداث القتل عند هذه الدرجة من الحرارة ووصلت إلى 5 أيام. أما عند الدرجة 20م° ± 1 فكانت العزلات من الجنس *Steinernema* أسرع في القتل حيث احتاجت إلى 3 أيام، في حين احتاجت عزلات الجنس *Heterorhabditis* إلى 5 أيام، وعند درجة الحرارة 25م° ± 1 بلغت الفترة اللازمة للقتل يوماً واحداً فقط بالنسبة للجنس *Steinernema*، وظهرت أعراض الإصابة والموت على اليرقات المعدية بالجنس *Heterorhabditis* بعد 2 إلى 3 أيام، أما بالنسبة لدرجة الحرارة 30م°± 1 فكان الوقت اللازم للقتل أقل ما يمكن عند كل العزلات ولكلا الجنسين، حيث ظهرت أعراض الإصابة والموت بعد 24 ساعة من العدوى، ويوضح الشكل 2 الفترات اللازمة لقتل 50 % من يرقات دودة الشمع، وهذا يتوافق مع ماأكده Poinar (1990) حول تأثير زيادة درجة الحرارة في انخفاض فترة التحضين أو الفترة اللازمة لقتل العائل الحشري، وأن البكتيريا هي التي تحول العائل الحشري إلى بيئة مناسبة لتطور وإنتاج النيماتودا داخل هذا العائل. وتشير هذه النتائج إلى أن الحرارة هي عامل مهم يؤثر في سلوك النيماتودا ونشاطها سواء من الجنس *Steinernema* أو الجنس *Heterorhabditis*. ويتوافق تفسير هذه النتائج مع ما وجده الكثير من الباحثين في هذا المجال، فقد أوضح Glazer وزملاؤه (1996) أن السرعة الأكبر في موت العائل الحشري المعدي والسمية الأكبر في سلالات النيماتودا قد يكون ناتجاً عن تضافر عدة عوامل منها معدل سرعة الاختراق، ومعدل تكاثر أكبر للنيماتودا، وسرعة تكاثر البكتيريا المتعايشة، وتتعلق هذه العوامل كلها بدرجة الحرارة. كما أشار Gray و Webester (1986) إلى أن السلوك المختلف لسلالات النيماتودا يرجع إلى الاختلاف في طرائق البحث عن العائل، والقدرة على الاختراق، والاختلاف في أنواع التوكسينات المفرزة من قبل العقد نيماتودا – بكتيريا، وللقدرة الإمراضية للبكتريا نفسها، وعدد خلايا البكتريا في الفرد النيماتودي الواحد. كما توصل Grewal وزملاؤه (1993a) إلى أن التطور في مقدرة النيماتودا على العدوى في مدى حراري معين وظهور أعراض الإصابة يرجع بشكل كلي أو جزئي إلى التطور في معدل نمو البكتريا المتعايشة.



الشكل 2. الفترة اللازمة لقتل 50 % من يرقات دودة الشمع (يوم).

1 - 3 - الفترة اللازمة لخروج الأطوار المعدية للنيماتودا من يرقات دودة الشمع المصابة تحت درجات حرارة مختلفة:

تم خروج الطور المعدي الثالث للنيماتودا من يرقات دودة الشمع في أوقات مختلفة، باختلاف العزلة ودرجة الحرارة:

- الدرجة 15م° ± 1 : كان أسرع خروج للأطوار المعدية عند هذه الدرجة للعزلات التابعة للجنس *Steinernema* حيث خرجت الأطوار المعدية من العزلات RM و RST و RTA بعد فترات متوسطها 7، و 9.67، و 10 أيام من حدوث الإصابة على التوالي، أما العزلة PHA (*Heterorhabditis*) فخرجت أطوارها المعدية بعد 28.33 يوماً من حدوث الإصابة، في حين أن العزلتين MHA وDKH بقيت داخل العائل الحشري أطول فترة من بين العزلات عند هذه الدرجة من الحرارة، حيث بلغت هذه الفترة نحو 35 و 36.33 يوماً على التوالي (الجدول 4).

- الدرجة 20 م° ± 1 : كان خروج الأفراد المعدية عند العزلتين RST و RTA (*Steinernema*) بعد فترة بلغ متوسطها 14.67 و 14 يوماً على التوالي، وهي أقصر فترة عند هذه الدرجة من الحرارة، أما بالنسبة للعزلتين DKH (*Heterorhabditis*) و RM (*Steinernema*) فقد خرجت الأفراد المعدية بعد 19.33 و 18 يوماً من الإصابة على التوالي، في حين خرجت الأفراد عند العزلتين MHA و PHA من الجنس *Heterorhabditis* بعد أطول فترة بلغ متوسطها 23.33 و 22.67 يوماً من الإصابة على التوالي.

- الدرجة 25 م° ± 1: كانت أفضل درجة حرارة بالنسبة لجميع العزلات، حيث خرجت أفراد النيماتودا بالنسبة للعزلات RTA و RM و RST (*Steinernema*) و PHA (*Heterorhabditis*) بعد فترات من الإصابة متوسطها 7.33 و 7.33 و 7.67 و 6.33 يوماً على التوالي، تلتها العزلات DKH و MHA (*Heterorhabditis*) حيث خرجت الأفراد المعدية بعد 9 و 9.33 يوماً على التوالي.

- الدرجة 30 م° ± 1: خرجت الأطوار المعدية عند هذه الدرجة بعد فترات مختلفة، أقصرها عند العزلات التي تنتمي للجنس *Heterorhabditis*، حيث خرجت بعد 11، و11.67، و11.67 يوماً وذلك بالنسبة للعزلات MHA و DKH و PHA، أما عند عزلات الجنس *Steinernema* فلم تخرج الأفراد نهائياً عند العزلة RST، في حين خرجت بعد 17.33 يوماً من الإصابة بالنسبة للعزلة RM، وبعد 20 يوماً بالنسبة للعزلة RTA (الجدول 4). وتفسر هذه النتائج آليات البقاء عند النيماتودا الممرضة للحشرات التي تعتمدها للمحافظة على استمرارية وجودها وتأقلمها مع درجات الحرارة والظروف الجوية المختلفة، ومن هذه الآليات بقاء النيماتودا بحالة ساكنة في التربة أو هجرتها للأسفل لتجنب الظروف غير الملائمة (Kaya، 1990). وقد تقوم النيماتودا بتقليل مستوى الاستقلاب ومتطلبات الأوكسجين (O_2)، أو تقوم بتركيب مواد كيميائية تمنع التجمد في حالة الظروف الجوية الباردة (Poinar، 1990)، وقد تبقى أفراد النيماتودا في جسم العائل لفترة طويلة لتجنب الظروف غير الملائمة خارج العائل (Gauglar وزملاؤه،1997)، وهذا يتوافق مع نتائج هذا البحث. إن عدم خروج الأطوار المعدية للنيماتودا من يرقات دودة الشمع عند درجة الحرارة 30م° ± 1 بالنسبة للعزلة RST بالرغم من إصابتها لليرقات وحدوث الموت يعني عدم تأقلم هذه العزلة مع هذه الدرجة من الحرارة، وهذا ما أكده Gaugler وزملاؤه (1997). إنّ عدم توفر الظروف الملائمة حرارياً خارج العائل تؤدي إلى عدم خروج أفراد النيماتودا من العائل، وهذا مايفسر عدم وجود أي يرقة من النيماتودا *S.carpocapsae* في الأفراد الميتة والمصابة بشدة من دودة الشمع تحت درجات حرارة معينة.

أما بالنسبة للفترة التي استمرت فيها هذه الأفراد بالخروج من أفراد دودة الشمع الميتة، فقد لوحظ أنّ هذه الفترة تطول عندما تكون درجة الحرارة خارج العائل غير ملائمة لعزلة النيماتودا، فعند الدرجة 15م° ± 1 كان متوسط هذه الفترات 46.66 و51.66 يوماً للعزلات RM و RST و RTA على التوالي، وكان متوسط هذه الفترات 75، و76.67، و78.33 يوماً للعزلات MHA و DKH و PHAعلى التوالي (الجدول 5).

- الدرجة 20م° ± 1: تراوحت متوسطات الفترة التي استمرت فيها الأفراد بالخروج بين 25 و53.33 يوماً، وكانت أقل الفترات للعزلات التابعة للجنس *Steinernema* وأكثرها للعزلات التابعة للجنس *Heterorhabditis* (الجدول 5).

- الدرجة 25م° ± 1: استمرت أفراد النيماتودا بالخروج لفترة متوسطها 19.33 يوماً وذلك بالنسبة للعزلة RTA من الجنس *Steinernema* وهي أقل فترة مسجلة، أما أطولها فكانت للعزلة DKH من الجنس *Heterorhabditis*، حيث بلغت 38.33 يوماً (الجدول 5).

_ الدرجة 30 م°± 1: خرجت جميع الأفراد المعدية بالنسبة للعزلتين RM وRTA (*Steinernema*) في وقت قصير، وكانت أعدادها قليلة جداً وحيويتها قليلة، أما بالنسبة للعزلة RST التابعة للجنس السابق نفسه فلم تخرج أفراد النيماتودا أبداً، في حين أنّ خروج أفراد النيماتودا كان منتظماً أكثر وبفترة زمنية تراوحت بين 19 و 35 يوماً للعزلات التابعة للجنس *Heterorhabditis* (الجدول 5).

1 - 4 - تأثير درجات الحرارة المختلفة في كثافة أفراد الطور المعدي الخارجة من يرقات دودة الشمع المعداة بعزلات مختلفة من النيماتودا:

_ الدرجة 15م° ± 1 : أنتجت العزلة RM عند هذه الدرجة أكبر كثافة عددية لأفراد الطور المعدي، بلغ متوسطها 216 ألف فرد للطور المعدي من اليرقة الواحدة، وتفوقت معنوياً على باقي العزلات، في حين بلغ

الجدول 4. تأثير درجات الحرارة في الفترة اللازمة لخروج الأطوار المعدية من يرقات فراشة الشمع.

الجنس	العزلة	درجات الحرارة (م°)			
		15 ± 1	20 ± 1	25 ± 1	30 ± 1
Steinernema	RST	9.67^{c}	14.67^{c}	7.33^{ab}	0^{c}
Steinernema	RM	7.00^{c}	18.00^{b}	7.33^{ab}	17.33^{a}
Steinernema	RTA	10.00^{c}	14.00^{c}	7.67^{ab}	20.00^{a}
Heterorhabditis	PHA	28.33^{b}	22.6^{a}	6.33^{b}	11.67^{b}
Heterorhabditis	MHA	35.00^{a}	23.33^{a}	9.00^{a}	11.00^{b}
Heterorhabditis	DKH	36.33^{a}	19.33^{b}	9.33^{a}	11.67^{b}

* القيم المتبوعة بأحرف مختلفة يوجد بينها فروق معنوية عند مستوى معنوية 0.05 وذلك ضمن درجة الحرارة الواحدة.

الجدول 5. الفترة التي استمرت فيها الأطوار المعدية للنيماتودا بالخروج من يرقات فراشة الشمع تحت درجات حرارة مختلفة (باليوم).

الجنس	العزلة	درجات الحرارة (م°)			
		15 ± 1	20 ± 1	25 ± 1	30 ± 1
Steinernema	RST	55.00^{b}	28.33^{b}	25.67^{b}	–
Steinernema	RM	51.67^{b}	30.00^{b}	23.33^{bc}	3.33^{c}
Steinernema	RTA	46.67^{b}	25.00^{b}	19.33^{c}	2.67^{c}
Heterorhabditis	PHA	78.33^{a}	46.67^{a}	33.33^{d}	35.00^{a}
Heterorhabditis	MHA	75.00	53.33^{a}	36.67^{a}	21.00^{b}
Heterorhabditis	DKH	76.67^{a}	52.67^{a}	38.33^{a}	19.00^{b}

* القيم المتبوعة بأحرف مختلفة يوجد بينها فروق معنوية عند مستوى معنوية 0.05 وذلك ضمن درجة الحرارة الواحدة.

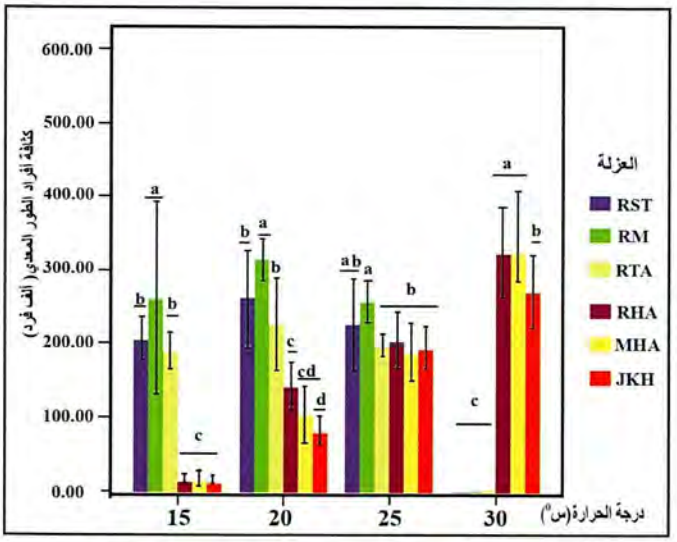
متوسط ما أنتجته العزلتان RTA و RST 189.66 و 206.66 ألف فرد للطور المعدي على التوالي، في حين انخفضت الكثافة عند العزلات التابعة للجنس *Heterorhabditis* عند هذه الدرجة وكان متوسط إنتاجها من النيماتودا 18.33، و 16 ، و 17.33 ألف فرداً للطور المعدي للعزلات DKH و PHA و MHA على التوالي.

- الدرجة 20 م° ± 1 : بلغ أعلى متوسط لكثافة أفراد الطور المعدي 313.33 ألف فرد معدٍ وذلك للعزلة RM وتفوقت معنوياً على باقي العزلات، في حين بلغ متوسط هذا العدد 225.55 و 260 ألفاً للعزلتين RST و RTA، أما العزلات التابعة للجنس *Heterorhabditis* فبلغ متوسط ما أنتجته من نيماتودا 141.66 ألف فرد معدٍ للعزلة PHA و103.33 ألفاً للعزلة MHA، في حين كانت أقل كثافة عند هذه الدرجة من الحرارة للعزلة DKH، حيث بلغت 81.66 ألف فرد معدٍ .

- الدرجة 25م° ± 1: بلغ أكبر متوسط لكثافة أفراد الطور المعدي 225 و 256.66 ألفاً وذلك للعزلتين RM و RSTعلى التوالي، وتفوقت هاتان العزلتان معنوياً على باقي العزلات، في حين بلغ متوسط كثافة أفراد الأطوار المعدية 186 و 193.33 و 196.66 ألفاً للعزلات MHA وPHA و DKH على التوالي من الجنس *Heterorhabditis* و 203.33 ألفاً للعزلة RST للجنس *Steinernema*.

- الدرجة 30م° ± 1: بلغت أكبر كثافة لأفراد الطور المعدي عند العزلتين PHA و MHA وكانت تساوي 346.66 و 323.33 ألفاً، وتفوقت معنوياً على باقي العزلات المستخدمة، أما العزلة DKH فبلغ متوسط ما أنتجته 270 ألف فرد للطور المعدي، في حين أنتجت العزلات التابعة للجنس *Steinernema* أعداداً قليلةً من أفراد النيماتودا بلغ متوسطها 1 و 1.66ألف طور معدٍ وذلك بالنسبة للعزلات RM و RTA على التوالي، ولم تعطِ العزلة RST أي فرد من النيماتودا (الشكل3).

تشير هذه النتائج إلى أنَّ المعدل الحراري الأمثل للتكاثر يتراوح بين 25 و 30 م° بالنسبة لعزلات الجنس *Heterorhabditis*، ويتراوح بين 15



الشكل 3. معدل التكاثر عند عزلات النيماتودا تحت درجات حرارة مختلفة.

* القيم المتبوعة بأحرف مختلفة يوجد بينها فروق معنوية عند مستوى معنوية 0.05 وذلك ضمن درجة الحرارة الواحدة .

و 25 م° بالنسبة لعزلات *Steinernema*، وينخفض معدل التكاثر بشدة عند درجة الحرارة 30 م° بالنسبة للجنس الأخير. وأدى التعرض لهذه الدرجة من الحرارة إلى إنتاج أعداد قليلة من النيماتودا بالنسبة للعزلتين RM و RTA في حين أنَّ RST لم تعطِ أي فرد من النيماتودا عند التعرض لهذه الدرجة من الحرارة، وعند تشريح يرقات دودة الشمع المصابة بهذه العزلة لم يلحظ أي فرد نيماتودي، لذلك يمكن القول أنَّ الدرجة 30 م° هي نقطة الموت الحراري لهذه العزلة ،وإنَّ قدرة النيماتودا على إنتاج أفراد معدية يرتبط بدرجة الحرارة التي تؤثر في معدل التكاثر عند أفراد النيماتودا ومعدل نمو البكتريا داخلها (Wright، 1992 ؛ Milstead ، 1981). كما أكد Grewal وزملاؤه (1994a) أنَّ النيماتودا المرضة للحشرات لها مؤشر حراري واضح قد لا تصبح خارج هذا المدى أو المؤشر فعّالة و أن الاختلاف في أعداد أفراد النيماتودا الناتجة عن يرقات دودة

الشمع يوضح أن لكل عزلة من هذه العزلات مؤشر ومدى حراري خاص بها يجب أن تستعمل ضمنه، وهذا ما أشار إليه كثير من الباحثين (Downes وGriffen،1991، Kung وزملاؤه،1991، Wright، 1992، Grewal وزملاؤه، 1993، Shamseldean، 1994)، حيث سجل هؤلاء اختلافاً وتنوعاً واسعاً في قدرة أنواع وسلالات النيماتودا على الفتك بالعائل وإنتاج أفراد جديدة عند درجات حرارة مختلفة. إن الأعداد القليلة لبعض العزلات عند درجات حرارة معينة تفسر بفقدان سلوك معين للنيماتودا أو فقدان حيوية البيوض أو النطاف أو بسبب سلوك التزاوج للنيماتودا، أو أنه متعلق بفقدان سلالات من البكتيريا المتعايشة متكيفة مع هذه الدرجات من الحرارة (Dutky وزملاؤه، 1964، Kaya، 1977، Wright، 1992). تشير النتائج التي تم التوصل إليها في هذا البحث إلى أنّ النيماتودا التابعة للجنس *Steinernema* تفضل الأجواء الباردة والمعتدلة وتستطيع التأقلم مع الظروف الحرارية الباردة، أما النيماتودا التابعة للجنس *Heterorhabditis* فهي تفضل الأجواء الحارة وتتأقلم معها، وهذا يتوافق مع ما وجده وأثبته Hominicke وزملاؤه (1995) من حيث أنّ النيماتودا التابعة للجنس *Steinernema* تتواجد في المناطق الباردة والمعتدلة في حين أن النيماتودا التابعة للجنس *Heterorhabditis* متأقلمة مع الظروف الجوية الحارة وتحتاج إلى درجات حرارة أعلى من *Steinernema*، وتتوافق هذه النتائج أيضاً مع ماوجده Shamseldean و Abd-Elgawad (1994) في عملية الحصر للنيماتودا المرضة للحشرات في مصر وهو وجود الجنس *Heterorhabditis* أكثر في الأشهر الحارة منها في الأشهر الباردة.

الاستنتاجات والمقترحات:

- أثبتت هذه الدراسة أنّ درجة الحرارة تؤثر في عمل النيماتودا المرضة للحشرات من حيث معدل قتل الحشرة ومعدل تكاثر النيماتودا.
- تعد عزلات الجنس *Steinernema* أكثر تأقلماً مع درجات الحرارة المنخفضة، وبالتالي يمكن استعمالها في المناطق ذات درجات الحرارة المنخفضة، في حين يفضل استعمال عزلات الجنس *Heterorhabditis* في المناطق الحارة.
- ينصح باستعمال النيماتودا المرضة للحشرات والمستخلصة محلياً كعامل مكافحة حيوية ضد الآفات الحشرية المنتشرة في البيئة المحلية السورية، مع مراعاة استعمال الجنس *Steinernema* في المناطق المعتدلة والباردة، والجنس *Heterorhabditis* في المناطق الأكثر حرارة.

المراجع

Adams, B. J., and K. B. Nguyen. 2002. Taxonomy and systamatics in: Gaugler, R (Ed). Entomopathogenic nematology. CAB International publishing, Wallingford, UK : 1- 33.

Akhurst, R. J. 1986. *Xenorhabdus nematophilus* spp. poinarii: its interaction with insect Pathogenic nematodes. Systematic and Applied Microbiolog. 8:142- 147.

Akhurst, R. J., and W. M. Brooks. 1984. The distribution of entomophilic nematodes Steinernematidae and Heterorhabditidae in North Carolina. J. Invertebr. Pathol. 44: 140 - 145.

Akhurst, R. J., and R. A. Bedding. 1986. Natural occurrence of insect pathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) in soil Australia. J. Aust. Entomol. Soc. 25: 241 - 244 .

Bedding, R. A., and R. J. Akhurst. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic nematodes in the soil. Nematologica 21: 109 - 110.

Boag, B., R. Neilson, and S. C. Gordon. 1992. Distribution and prevalence of the entomopathogenic nematodes Steinernema feltiae in Scotland. Ann. App. Biol. 121: 355 - 360.

Brown, I. M., B. J. Lovett, P.S. Grewal, and R. Gaugler. 2002. Latent infection: a low temperature survival strategy in Steinernematid nematodes. Journal of Thermal Biology 27:231 - 239.

Byers, J.A., and G.O. Poinar.1981. Location of insect hosts by the nematode Newaplectana carpocapsae , in response to temperature. Behavior 79: 1 -10.

Canhilal, R ., W. Reid, H. Kutuk, and M. EL-Bouhssini. 2006. Natural occurrence of entomopathogenic

strains and *Heterorhabditis heliothidis*. Journal of Nemaotology 18(2): 270- 272.

Grewal, P.S., R. Gaugler, H.K. Kaya, and M. Wusaty. 1993a. infectivity of the entomopathogenic nematode *Steinernema scapterisci* (Nematode : Steinernematidae). J. Invertebr. Pathol. 62: 22- 28.

Grewal, P. S., E.E. Lewis, R. Gaugler, and J. F. Campbell. 1994a. Host finding behavior as apredictor of foraging strategy in entomopathogenic nematodes. Parasitology 108 : 207- 215.

Grewal . P. S. 2002 . Formulation and application technology in R. Gaugler . (ed). Entomobatogenic nematology. CABI publishing Walling . UK : 265 - 287.

Griffin, C.T., and M.J. Downes. 1991. Low temperature activity in *Heterorhabditis* sp. (Nematoda : Heterorhabdidae). Nematologica 37: 83- 91.

Griffin, C.T . 1993. Temperature responses of entomopathogenic nematodes: implications for the success of biological control programmes. In : Bedding R, Akhurst R and Kaya HK. eds. Nematodes and the Biological Control of Insects. CSRIO Publications. East Melbourne , Australia : 115- 126.

Haukeland, S. 1993. Entomopathogenic nematodes found in Norway. Norwegian, J. Agri. Sci. 7: 17- 27.

Hominick, W. M., A. P. Reid, and B. R. Briscoe. 1995. Prevalenca and habitat specificity of Steinernematid and heterohabditid nematodes isolated during soil surveys of the UK and the Netherlands. Journal of Helminthology 69: 27- 32.

Hominick, W.M., and B.R. Briscoe, 1990. occurrence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida : Steinernematidae and Heterorhabditidae) in British nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) in Syria soils. Res. J. Agric. And Biol. Sci. 2(6) : 493- 497.

Curran, J. 1993. Post – application biology of entomopathogenic nematodes in soil. In : R. Bedding, A. Akhurst, H. Kaya (Eds), Nematodes and the Biological control of insect pests. CSIRO, Melbourne, Australia: 67- 77.

Downes, M. J., and C. T. Griffin. 1991. Recovery of Heterohabditid nematodes for Irish and Scottish solis. In ''proceedings of the third European meeting microbial control of pests, IOCP/WPRS Bulletin (P. H. Smits, ED) :216- 218.

Dutky, S. R., J.V. Thompson, and G.E. cantwell. 1964 . A technique for the mass propagation of the DD – 136 nematode. J. Insect pathol. 6:417 – 422.

Ehlers, R. U., K. V. Deseo, and E. Stackebrandet. 1991. Identification of *Steinemema* spp. (Nematoda) and symbiotic bacteria *Xenorhabdus* spp. From Italian and German soils. Nematologica 37 : 360 - 366.

Gaugler, R., E. Lewis, and R. J. Stuart. 1997. Ecology in the service of biological control : the case of entomopathogenic nematodes. Oecologia 109: 483- 489.

Georgis, R. 1990. Formulation and application technology. In : Gaugler, R. and Kaya, H. K. (eds) , Entomopathogenic Nematodes In Biological control. CRC Press. Boca Raton, Florida. : 173 - 191.

Glazer, I., E. Kozodoi., G. Hashmi and R. Gaugler. 1996. Biological characteristics of the entomopathogenic nematode *Heterohabditis* sp. IS-5: Aheat tolerant isolate from Israel. Nematologica, 24, 481492-.

Gray, B. D., and J. M. Webster. 1986. Temperature effect on the growth and virulence of *Steinernema feltiae*

and Nem Dep, 816 pp.

Poinar, G. O. Jr. 1990. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: Gaugler, R. and Kaya, H. K. (eds), Entomopathogenic Nematodes In Biological control. CRC Press. Boca Raton, Florida. : 32- 61.

Shamseldean, M. M., and M. M. Abd – Elgawad. 1994. Natural occurrence of insect pathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae) in Egyptian soils. Afro – Asian Journal of Nematology, 4 (2): 151-154.

Shamseldean, M. M. 1994. Effects of temperature on survival and infectivity of Egyptian Heterorhabditid nematode isolates. Egypt. J. Appl. Sci, 9 (9): 53-59.

Steiner, W. A. 1996. Dispersal and Host – Finding apility of Entomopathogenic nematodes at low temperatures. Nematologica, 42: 243 -261.

White, G. F. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from culture. Scirnce 66:302-303.

Woodring, J. L., and H. K. Kaya. 1988. Steinemematid and Heterorhabditid Nematodes: A Handbook of Biology and Techniques. Arkansas Agricultural Experiment Station. Southern Cooperative Series, Bulletin 331.

Wright, P. J. 1992. Cool temperature reproduction of steinernematid and heterorhabditid nematode. J. Invertebr. Pathol. 60: 148 - 151.

soils Parasitology100:295 - 302.

Jaworaska, M. 1992. Effect of the soil texture and Temperature on the activity of *Steinernema* feltiae and Heterorhabditis bacteriophora in the soil. Entomonematologica. 1(5): 31- 37.

Kaya, H. K. 1977. Development of the DD-136 strain of Neoaplectana carpocapsae at constant Temperatures. J. of Nematology 9(4) : 346 - 349.

Kaya, H. K. 1990. Soil ecology. In: Gaugler, R. and Kaya, H. K. (eds) Entomopathogenic Nematodes In Biological Control. CRC Press. Boca Raton, Florida : 93 - 115.

Kung, S. P., R. Gaugler, and H.K. Kaya. 1991. Effects of soil temperature, moisture, and relative humidity on entomopathogenic nematode persistence. J. Invertebr. Pathol. 57:242 - 249.

Milstead, J. E. 1981. Influence of temperature and dosage on mortality of seventh instar larvae of *Galleria mellonela* (Insecta : Lepidoptera) caused by *Heterohabditis bacteriophora* (Nematode : Rhabditoidea) and it's bacterial associate Xenorhabdus Iuminescens. Nematologica 27: 303-306.

Mracek, Z. and G. Jenser.1988. First report on entomogenous nematodes of the families Steinernematidae and Heterorhabditidae from Hungary . Acta phytopathologica et Entomologica Hungaricae 23: 153 - 156.

Nguyen, K.B., and G.C.JR. Smart, 1996. Identification of entomopathogenic nematodes in the Steinernematidae and Heterorhabditidae (Nematoda : Rhabditida). J. Nematol. 28:286 - 300.

Nguyen, K. B., and D. J. Hunt. 2007. Entomopathogenic Nematodes :Systamation, phlogeny and Bacterial symbionts. University of Florida Publication . Ent