

ارزیابی نماتد های بیمارگر حشرات در برابر مگس میوه زیتون *Bactrocera oleae*

چکیده

شیوع شش گونه نماتد بیمارگر حشرات در برابر *Bactrocera oleae* مقایسه شد. سطوح آلودگی مشابه زمانی مشابه شد که لارو سن سوم در معرض IJS ها در سوبستر های خاک گلدانی قرار گرفتند. وقتی IJS بر روی زیتون های افتاده آلوده اسپری شدند، بسیاری از لارو ها در زیتون های فراوری شده علاوه بر خاک مردند. *Steinernema feltiae* موجب بالاترین مرگ و میر کلی 67.9 درصد شد. به علاوه، سه آزمایش برای بهینه سازی دوره زمانی برای کاربرد مزرعه ای *S. feltiae* انجام شد. 1- فراوانی لارو های مگس در زیتون های افتاده در دوره 2006-2007 با بالاترین تعدد لارو های حساس در هر 100 زیتون مشاهده شده طی دسامبر 2006 برآورد شد. 2- کارایی *S. feltiae* در برابر لارو مگس به استعمال پس از IJ تعیین شد. *B. oleae* به سوبسترا قبل و بعد از استعمال نماتد در سطوح مشابه آلوده شد. 3- اثر سه رژیم دمایی متناظر با اکتبر تا دسامبر در دیوس کالیفرنیا بر بقا و آلودگی *S. feltiae* تعیین شد. بعد از 8 هفته، لارو های سن سوم در تیمار 3-12 درجه، بالاترین سرعت بقا را نشان دادند. با این حال دمای سرد به طور معنی داری آلودگی و شیوع *S. feltiae* کاهش داد. نتایج نشان دهنده این است که لارو بالغ *B. oleae* به عفونت EPN هم در خاک و هم در زیتون های الوده حساس است. *S. feltiae* به عنوان کارآمد ترین گونه، پتانسیل توقف رشد *B. oleae* را دارد. پیشنهاد ما این است که نوامبر زمان بهینه برای استعمال میدانی *S. feltiae* در کالیفرنیا شمالی است

لغات کلیدی: *Bactrocera*، *Heterorhabditis*، *Steinernema*، *Tephritidae*، *oleae*، نماتد پارازیت

حشره، زیتون

1. مقدمه

مگس میوه زیتون (*Bactrocera oleae* (Rossi)) مهم ترین آفت حشره ای درختان زیتون در سرتاسر دنیا است (رایس 2000). این مگس برای اولین بار در 1998 در اکتبر در کالیفرنیا مشاهده شده و اکنون در بسیاری از منطق کشت زیتون در این ایالت منتشر شده است (رایس و همکاران 2003). در طبیعت، این آفت چند نسله تنها در میوه زیتون تولید مثل می کند (جانسون و همکاران 2006). اولین افراد بالغ در هر سال در بهار به دنیا آمده و تخم گذاری در زیر پوست زیتون هایی انجام می شود که بر روی درختان سال قبل باقی مانده اند. لارو بر روی گوشت میوه تغذیه کرده و از این روی سه نسل خود را قبل از شفیرگی کامل می کنند. در طی ماه های گرم تر سال، شفیرگی در درون میوه رخ می دهد (رایس 2000). با گذشت زمان، نسبت زیادی از لارو ها میوه ها در سومین نسل ترک می کنند یا بعد از این که میوه بر روی زمین افتاد و یا زمانی که آن ها هنوز بر روی درخت قرار دارند. آن ها سپس شفیره شده و در زمستان در خاک می مانند (کاپتوس و فلچر 1984) در عمق 1-4 سانتی متر است (دیمو و همکاران 2003). آلودگی توسط B.

Oleae موجب می شود تا میوه به طور نارس بیفتد و کیفیت میوه هم در زیتون های جعبه ای و همه زیتون های روغنی کاهش می یابد (Michelakis and Neuenschwander, 1983; Kapatos and Fletcher, 1983).

امروزه، ابزار مدیریتی اصلی برای *B. oleae* متشکل از کاربرد و استعمال مواد آفت کش بر اساس اسپینوزاد می باشد. (جانسون و همکاران 2006) اگرچه اسپینوزاد به صورت یک ترکیب کم خطر طبقه بندی می شود، توسعه راهبرد های ایمن از نظر محیطی و پایدار تضمین می شود. این راهبرد ها شامل استفاده از نماتد های بیمار گر حشرات در برابر مراحل از مگس هایی می باشند که در مرحله زمستانه در تماس با خاک هستند. به دلیل نگرانی های ایمنی مربوط به استعمال شیمیایی و سطح کم مورد نیاز برای تیمار، استفاده از نماتد های بیمار گر حشرات ا یک روش ایمن و اقتصادی برای مدیریت *B. oleae* در حیات خانه و اراضی عمومی است که هر دوی آن ها منابع مهم آلودگی باغ های تجاری محسوب می شود.

EPNs ها متعلق به جنس های *Steinernema* و *Heterorhabditis* هستند. آن ها دارای رابطه متقابل دو سویه با باکتری ها در جنس های *Xenorhabdus* و *Photorhabdus* برای *steinernematids*

و heterorhabditids دارند (پوینار 1990). باکتری ها، میزبان را با تولید توکسین می کشند و برای نماتد مواد غذایی ارایه کرده و مانع از الودگی جسد میزبان می شود (فورست و کلارگ 2002). لارو های نسل سوم که حامل باکتری ها در روده است، تنها مرحله آزاد زی در در سیکل حیات EPN است. لارو های نسل سوم وارد بدن میزبان از طریق منافذ طبیعی شده و باکتری ها را درون هوموکل کرده و میزبان را در طی 24 تا 48 ساعت می کشند. نماتد ها بر روی باکتری ها تغذیه کرده و 1-3 نسل را کامل می کنند و بعد از آن لارو ها وارد مرحله بیماری زایی شده و برای جست و جوی میزبان جدید از جسد یا لاشه خارج می شوند (بوتمر 2002).

EPNS به طور کارآمدی در برابر طیف وسیعی از افات حشره ای از جمله دو بالان استفاده شده است (Georgis et al., 2005; Jagadale et al., 2004; Jess et al., 2005; Grewal et al., 2005). هیچ مطالعه ای به تست نماتد ها در برابر *B. oleae*, نپرداخته است ولی *Steinernema riobrave* Cabanillas, Poinar و *S. feltiae* (Filipjev) و *Raulston, S. carpocapsae* (Weiser) وقتی بر روی تفریتید های *Ceratitis capitata* اعمال شدند نتایج قابل قبولی را نشان دادند (Gazit et al., 2000; Lindegren et al., 1990).

در این مطالعه سه هدف دنبال می شود: 1- فراوانی لارو های مگس در زیتون های افتاده در دوره 2006-2007 با بالاترین تعدد لارو های حساس در هر 100 زیتون مشاهده شده طی دسامبر 2006 برآورد شد 2- کارایی *S. feltiae* در برابر لارو مگس به استعمال پس از IJ تعیین شد. *B. oleae* به سوبسترا قبل و بعد از استعمال نماتد در سطوح مشابه آلوده شد. 3- اثر سه رژیم دمایی متناظر با اکتبر تا دسامبر در دیوس کالیفرنیا بر بقا و الودگی *S. feltiae* تعیین شد.

2. مواد و روش ها

2.1 نماتد ها و حشرات

S. riobrave, *S. Steinernema feltiae* (SN strain), *S. carpocapsae* (All strain) و *H. marelatus* Liu, *glaseri* (Steiner) (NC strain), *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar در سومین نسل *Galleria mellonella* در دمای اتاق کشت شد. لارو های عفونی و بیمارگر در دام

های سفید بر اساس روش Kaya and Stock (1997) برداشت شدند. اطلاعات بیشتر در مورد نماتد ها برای آزمایشات خاص ارایه شده است. *S. feltiae* تنها در آزمایشات کارایی استفاده شد. لارو *B. oleae* نسل سوم در آزمایشات از میوه های پوسیده طبیعی جمع اوری شده از درختان زیتون خوراکی مدیریت نشده در محیط دانشگاه کالیفرنیا دیویس در نوامبر و دسامبر بدست آمد. زیتون های جمع اوری شده بر روی صافی های سیمی و لوله های پلاستیکی در دمای 5 تا 15 درجه قرار داده شدند تا لارو ها هنگام خروج از میوه به مدت 24 ساعت نگه داری شوند. به علاوه، برای آزمایشات دیگر، زیتون های افتاده از زیر درختان مدیریت نشده در شهر دیویس از نوامبر تا ژانویه جمع اوری شدند.

2.2 حساسیت به نماتد ها

دو آزمایش آزمایشگاهی برای تعیین حساسیت *B. oleae* به هر گونه EPN انجام شدند. برای هر دو آزمایش، لارو های نسل سوم جمع اوری شده در آب دمای 20 درجه باقی مانده و در 3 هفتگی استفاده شدند. نرخ استعمال نماتد ها 25 لارو در هر سانتی متر مربع بود و مقدار کل رطوبت سوبسترا 10 درصد بود و 5 تکرار در هر گونه EPN انجام شد.

2.2.1 آزمایش 1

حساسیت لارو *B. oleae* به آلودگی با نماتد های نسل سوم تعیین شد که به طور طبیعی از زیتون ها در لارو ها در پلیت های پلاستیکی 37 میلی لیتری تا عمق 3 سانتی متری با سوبسترای متشکل از ترکیب 1 به 1 شن غربال شده و خاک گلدان در رطوبت 10 درصد ظهور یافتند. شن قبل از شروع آزمایش آون خشک شده و مقدار رطوبت اولیه خاک 10 درصد بود. نماتد ها به سوبسترای شن/خاک در آب با استفاده از پیپت با سرعت فوق اعمال شدند. در 1 ساعت پس از استعمال نماتد، 5 لارو به هر کاپ اعمال شده و و به درون سوبسترا نفوذ کردند. کاپ ها پوشش دهی شده و در دمای 25 درجه به مدت 24 ساعت انکوبات شدند و بعد از آن حشرات جمع اوری شده و برای تعیین وضعیت عفونی و الودگی حشرات تشریح شدند. چون زمان اجرای آزمایش تنها 24 ساعت بود، و وضعیت عفونت، نه مرگ و میر تعیین شد، تیمار های شاهد عاری از نماتد در این مطالعه استفاده نشدند.

2.2.2. آزمایش 2

برای تایید نتایج آزمایش 1 با استفاده از زیتون های آلوده، دومین آزمایش انجام شد. لوله های پلاستیکی (40 cm × 30 cm × 18 cm، 1200 سانتی متر مربع در سطح خاک) با ترکیب 3 به 1 شن غربال شده از 30 سانتی متر و خاک گلدانی در عمق 4 سانتی متر پر شدند و بعد از آن 120 زینون بر روی سطح سوبسترا قرار داده شد. زیتون های زیر درختان زیتون جمع اوری شده و وضعیت بیماری آن ها نامشخص بود. با این حال فرض شد که هر لوله دارای نسبت یکسانی از زینون های لاروی بود زیرا زیتون ها فوراً قبل از آزمایش ترکیب شدند. نماتد ها بر روی زیتون ها با استفاده از اسپری دستی اسپری شدند. آب به صورت شاهد نیز اسپری شد. لوله ها با پوشش پلاستیکی پوشیده شده و در دمای اتاق قرار داده شدند. دما و رطوبت بالای زیتون ها به ترتیب 24 و 18 درصد بود. بعد از 72 ساعت، زیتون ها تشریح شده و خاک برای جمع اوری لارو و شفیره غربال شد. شفیره های درون زیتون های تشریح شده در تحلیل قرار نگرفتند زیرا فرض شد که شفیره ها قبل از استعمال نماتد تشکیل شده اند یعنی زمانی که میوه ها هنوز روی درختان بوده و شفیره های *B. oleae* حساس نبودند و این بر اساس نتایج مطالعات دیگر بر روی دو بالان است ((Belton et al., 1987; Ishibashi and Kondo, 1990; Lindegren and Vail, 1986; Yee and Lacey, 2003)).

2.3 دوره زمانی بهینه برای استعمال گونه های EPN در مزرعه

تنها موثر ترین گونه های آزمایشات 1 و 2 یعنی *feltiae* مورد تست بیشتر قرار گرفت. برای بقای لارو نسل سوم و آزمایشات الودگی و بیماری، لارو های نسل سوم یک روز در میان برداشت شدند. ان هایی که در روز ششم بعد از شروع ظهور برداشت شدند در اب در دمای 20 درجه باقی مانده و طی 1 هفته استفاده شدند

2.3.1 برآورد جمعیت لاروی *B. oleae* درون زیتون های افتاده

برای برآورد تعداد لارو های *B. oleae* حساس به *S. feltiae* درون زیتون های طی فصل رشد، زیتون از زیر 3 درخت زیتون بر روی محوطه دانشکاه از نوامبر 2006 تا مارس 2007 جمع اوری شدند. درختان بر اساس

سطح بالای الودگی مشاهده شده سال قبلی انتخاب شدند. در هر تاریخ نمونه برداری، زیتون های جمع اوری شده ترکیب شده و 500 زیتون به صور تصادفی انتخاب شدند. لارو های S. OLEA درون زیتون وقتی در 1 گالن سر بسته انکوبات شدند از میوه خارج شدند. لارو ها شمارش شده و به دو گروه تقسیم شدند: 3 میلی متر و بزرگ تر، کوچک تر از 3 میلی متر

2.3.2 کارایی در برابر B. oleae افتاده به خاک بعد از استعمال نماتد نسل سوم

کارایی S. feltiae استعمال شده به خاک قبل از قرار دادن زیتون های الوده در سطح با استفاده از نماتد های تجاری ارزیابی شد. بخش کوچکی از بیج به 300 میلی لیتر آب افزوده شده و 15 دقیقه هم زده شده و طی 12 ساعت استعمال شد. پروتکل های آزمایشی مشابه با آزمایش 2 بود. لارو های نسل سوم بر روی زیتون های الوده سوبسترا در اولین تیمار استعمال شدند. در دومین تیمار، نماتدهای نسل بر روی سوبسترا 1 ساعت قبل از قرار دادن زیتون ها بر روی خاک استعمال شدند. سپس 10 میلی لیتر آب بر روی زیتون ها برای تامین رطوبت استعمال شدند. آب بدون نماتد بر روی زیتون ها به صورت شاهد استعمال شدند. مقدار کل رطوبت سوبسترا بعد از اسپری 10 درصد در همه تیمار ها بود.

2.3.3 اثر دما بر روی بقای گونه EPN

برای تعیین دوره بهینه زمان برای استعمال نماتد، اثر دمای فصلی بر روی بقای موثر ترین گونه از آزمایشات 1 و 2، S. feltiae بررسی شدند. آزمایشات در سه دمای نوسانی بر اساس ماکزیمم و مینیمم دمای روزانه طی ماه های اکتبر تا دسامبر صورت گرفت. این دوره زمانی بود که نسبت زیادی از لارو های از میوه برای تولید سفیره در خاک خارج می شوند (کاپتوس 1984). داده های دما در 25 سال توسط ایستگاه هواشناسی ارایه شد. و اتاقل های رشد با یکی از سه رژیم حرارتی با حداقل و حداکثر دمای 10-27، 6-18 و 3-12 تنظیم شدند. در طی 24 ساعت، دما در رژیم 10-27 درجه با الگوی زیر نوسان داشت: 8 ساعت در 27 درجه، 4 ساعت در 17 درجه، 8 ساعت در 10 درجه و 4 ساعت در 17 درجه. در 6-18 و 3-12 درجه تعداد ساعت در ماکزیمم و می نیمم دما برابر با 10-27 درجه بود ولی دما های 4 ساعت، 12 و 7 درجه بود.

یک هزار لارو نسل سوم *S. feltiae* به اب مقطر به میزان 25 گرم شن اتوکلاو درون لوله سانتریفیوژ پلاستیکی 50 میلیتری با انتهای مخروطی افزوده شد. مقدار کل رطوبت شن در همه لوله ها 10 درصد بود. برای هر رژیم دمایی، 90 قسمت تهیه شد. در لوله های شاهد، 10 لوله در دمای 25 درجه انکوبات شد و بعد از آن نماتد های نسل سوم از شن استخراج شد. 80 لوله باقی مانده وزن شده و پارافیلیم پوشش دهی شده و در دمای طرح انکوبات شدند. هر 4 روز، لوله ها وزن شده و آب مقطر کافی به آن ها برای حفظ مقدار رطوبت شن به میزان 10 درصد افزوده شده و پارافیلیم تعویض شد. لارو های نسل سوم از شن در 10 لوله تصادفی در هر هفته استخراج شده و تحت میکروسکوپ شمارش شدند. تعداد لارو های بدست آمده در فرایند استخراج به صورت معرف تعداد لارو های نسل سوم باقی مانده در نظر گرفته شدند.

برای استخراج لارو های نسل سوم از شن، 40 میلی لیتر آب مقطر به لوله آزمایشی اعمال شده و منافذ با دستمال کاغذی 1 لایه پوشیده شده و پوشش پلاستیکی اصلاح شده بر روی آن ها قرار داده شد. لوله ها درون پتری دیش های 100 میلی متر مربعی واژگون شدند و 60 میلی لیتر آب مقطر به آن ها افزوده شد. لوله های واژگون در دمای 25 درجه به مدت 48 ساعت انکوبات شدند که بعد از آن خارج شده و لارو ها در دیش شمارش شدند

2.3.4 اثر دما بر بیماری زایی گونه EPN

بیماری زایی *S. feltiae* در پلیت های 24 چاهکی در سه رژیم دمایی ارزیابی شد. 20 لارو به آب مقطر 50 میکرولیتری در هر چاهک افزوده شد. چاه خا دارای 3 گرم شن اتوکلاو شده با 1 درصد رطوبت بودند. 50 چاهک با لارو و 50 چاهک شاهد در هر رژیم دمایی تست شدند. در چاهک ها با پارافیلیم مسدود شده و پلیت ها در رژیم طراحی شده برای سازکاری لارو ها به مدت 24 ساعت انکوبات شدند. حشره جایگزین *G. mellonella* در این آزمایش به دلیل نبود لارو مگس زیتون استفاده شد. یک لارو *G. mellonella* به هر چاهک بعد از دوره سازگاری افزوده شده و پلیت ها پوشش دهی شده و به تیمار های دمایی خود بازگشتند. لارو ها هر 12 ساعت چک شدند. برای تعیین مرگ لاروی هر یک از آن ها بعد از نگه داشتن در دمای اتاق به مدت 10 دقیقه پروب شدند و در صورتی که پاسخ نمی داد به صورت مرده تلقی می شد. لارو های مرده با آب برای شست و شوی لارو

های چسبیده شده اب کشی شده و در پتری دیش های تمیز با کاغذ صافی به مدت 5 روز دمای 25 درجه انکوبات شدند. و بعد از آن برای تعیین وضعیت بیماری زایی تشریح شدند. لارو های زنده بعد از یک هفته با اب ابگشی شده و در پلیت های 24 چاهکی در دمای 25 درجه به مدت 7 روز دیگر انکوبات شده و پس از آن حشرات مرده برای تعیین وضعیت الودگی تشریح شدند.

2.4 تولید مثل نماتد در لارو های *B. oleae*

توانایی تولید مثلی *S. feltiae* درون *B. oleae* ارزیابی شد. 50 لارو نسل سوم در معرض 50 IJs/cm درون 10 کاپ پلاستیکی 30 میلی متری قرار داده شده، 5 بارو در هر کاپ قرار داده شده و در 25 سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفتند. سوپسترا متشکل از ترکیب 1 به 1 شن غربال شده و خاک کلدان با رطوبت 10 درصد بودند. بعد از 2 روز، حشرات جمع اوری شده و بر روی وایت تراپ در دمای اتاق قرار داده شدند. در طی 3 هفته، شفیره های توسعه یافته به حشرات الوده کنار گذاشته شده و باقی مانده ها به صورت الوده در نظر گرفته شده و به مدت سه هفته برای جمع اوری نماتد های لاور نسل سوم استفاده شدند. شفیره های یکه از آن ها لارو های ایجاد نشده بود برای تعیین حضور EPN درون اجساد تشریح شدند.

2.5 تحلیل آماری

داده های کارایی، بقا و حساسیت با ANOVA (2002-2003 SAS) و سپس مقایسه میانگین استیودنت، نویمن و کول تحلیل شدند. داده های جمع اوری شده از لارو های 3 میلی متر و بزرگ در در تحلیل ها در نظر گرفته شدند و لارو های کوچک تر هرگز در طی آزمایش ما الوده نشدند. از مون T به مقایسه نرخ الودگی و بیماری میان زیتون ها و خاک برای هر تیمار EPN پرداخت. مرگ و میر *G. mellonella* و بقای *S. feltiae* در دما های مختلف از نظر مرگ و میر شاهد و بقا تصحیح شد. تست کای اسکور برای مقایسه الودگی و بیماری زایی *S. Feltiae* در دماهای مختلف استفاده شد. داده های ثبت شده به صورت درصد الودگی یا درصد بقا در معرض تبدیل ارک سینوس قبل از تحلیل قرار گرفت. میانگین های تبدیل نشده در همه اشکال نشان داده شده است.

3. نتایج

3.1 حساسیت به نماتد

3.1.1 آزمایش 1

همه شش گونه EPNs *B. oleae* را در سطوح یکسان الوده کردند. *S. feltiae* 100 درصد لارو های پیشنهادی را الوده کرده و *S. Glaseri* و *S. riobrave* موجب کم ترین سطح 76 درصد شدند. بسیاری از لارو های در معرض نماتد به صورت شفیره مردند به جز انواع الوده شده توسط *S. Feltiae* که همه آن ها قبل از شفیرگی مردند.

3.1.2 آزمایش 2

همه شش گونه EPN ایجاد مرگ و میر بیشتری نسبت به شاهد نشان دادند که در آن هیچ گونه آلودگی دیده نشد: *S. feltiae* کارآمد ترین گونه بود و این موجب ایجاد الودگی 67.9٪ شد. سطح الودگی درون زیتون ها و خاک نیز در جدول 1ارایه شده است. همه لارو های الوده شده 3 میلی متر یا بزرگ تر بودند. شفیره های الوده تنها در خاک دیده شدند. به دلیل دسترسی متغیر لارو *B. oleae* علی رغم ترکیب زیتون های جمع اوری شده، تعداد کل لارو ها و شفیره ها در میان تیمار ها متفاوت بودند.

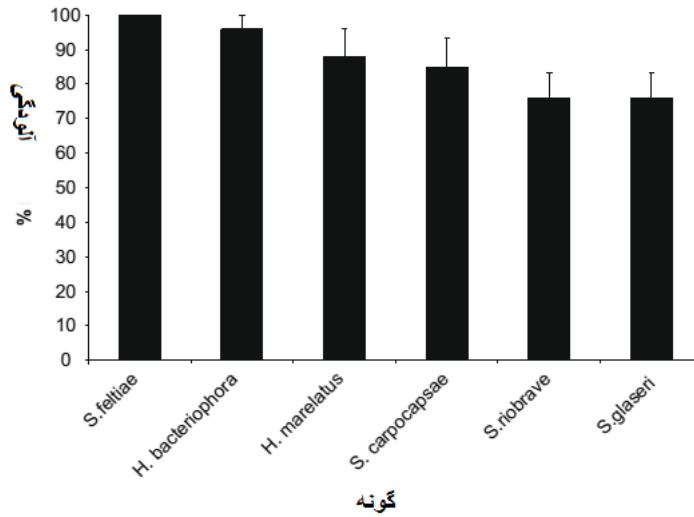
3.2 دوره زمانی بهینه برای استفاده از گونه های EPN در مزرعه

3.2.1 برآورد جمعیت لاروی *B. oleae* در زیتون های افتاده

بیشترین تعداد لارو های برآورد شده در هر 100 زیتون 23 بود و از زیتون های جمع اوری شده در تاریخ اول نمونه برداری در 6 نوامبر حاصل شدند. بیشترین تعداد لارو های 3 میلی متر و بزرگ تر از زیتون های جمع اوری شده در 11، 18 و 15 دسامبر 2006 حاصل شدند. جمع اوری در دو تاریخ نمونه برداری ژانویه و در فوریه به دلیل بارندگی سنگین قطع شد. آزمایش در 4 مارس 2007 به دلیل عدم دسترسی کافی به زیتون ها پافت.

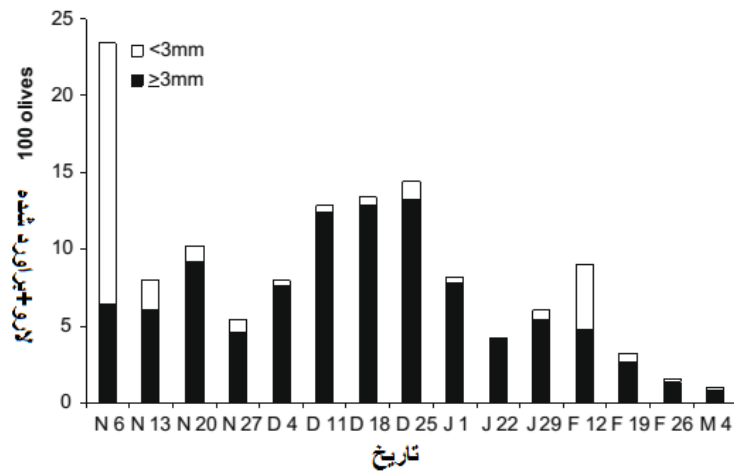
شکل 1: سطح آلودگی لارو های نسل سوم *Bactrocera oleae* توسط *Steinernema feltiae* (SN توسط *Bactrocera oleae* نسل سوم) و *H. marelatus* در 25 لارو در سانتی متر مربع بعد از 24 ساعت در سوبسترای خاک کلدان و شن درون کیسه های پلاستیکی 37 میلی متری

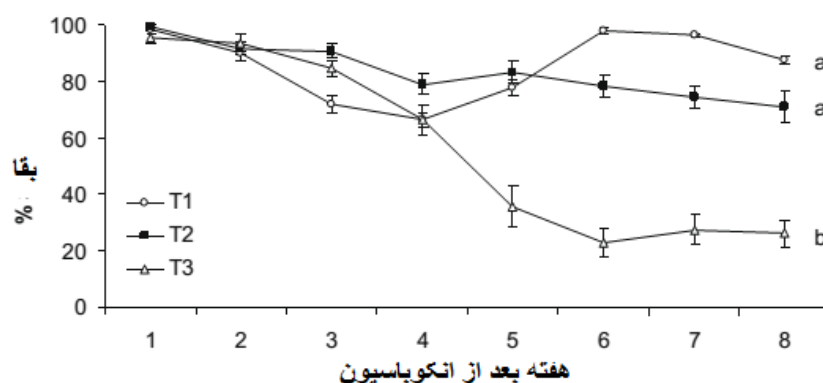
در 25 درجه



شکل 2: تعداد برآورد شده لارو های *Bactrocera oleae* به ازای هر 100 زیتون افتاده جمع اوری شده در

هفته طی 2006-2007





شکل 3: بقای درصد میانگین لارو سوم *Steinernema feltiae* اتکوبات شده در سوبسترا در سه تیمار دمایی: T1: 2-12 درجه، T2: 6-18 درجه، T3: 10-27. در دمای 24 ساعت، نوسان دما به شکل زیر بود: 8 ساعت در ماکزیمم و 8 ساعت در مینیمم دما با دو بازه 4 ساعت در دمای 12، 7 و 17 درجه. داده ها بر اساس تست SNK تبدیل شدند. خطوط با حرف مشترک اختلاف معنی داری دارند.

3.2.2 کارایی در برابر *B. oleae* ریخته شده بر خاک بعد از کاربرد لارو نسل سوم

آلودگی ناشی از *S. feltiae* بر روی زیتون ها مشابه با لارو نسل سوم استعمال شده بر روی خاک قبل از افزودن به زیتون ها استعمال شده و هر دو بهتر از شاهد بودند. بسیاری از *B. Oleae* به صورت شفیره در خاک مردند. وقتی که در 10 زیتون اسپری شدند، *S. feltiae* موجب الودگی 50 درصد با 16.4 درصد *B. oleae* در زیتون ها کرده و 33.6 درصد در خاک مردند. لارو های نسل سوم استعمال شده به سوبسترا قبل از افزودن به زیتون ها موجب الودگی 47.2 درصد شدند. در تیمار بعدی، 10.2 درصد *B. oleae* در زیتون و 37 درصد در خاک مردند. هیچ الودگی در شاهد دیده نشد.

3.2.3 اثر دما بر بقای گونه های EPN

بقای *S. feltiae* تحت تاثیر زمان و دما قرار گرفت. برای 2 هفته اول انکوباسیون، *S. feltiae* برای همه دما ها مشابه بود. بعد از 4 هفته، لارو های نسل سوم در سرد ترین و گرم ترین رژیم های دمایی دارای نرخ بقای کم تری نسبت به تیمار متوسط 6-18 درجه داشتند. در هفته 8، با این حال، *S. feltiae* اتکوبات شده در سرد

ترین و گرم ترین رژیم بالاترین و پایین ترین درصد بقا را به ترتیب نشان دادند. درصد زنده مانده *S. feltiae* در سه رژیم دمایی در جدول 2 ارائه شده است.

3.2.4 اثر دما بر روی بیماری زایی گونه EPN

دمای سرد به طور معنی داری موجب محدود شدن مرگ و میر *G. Mellonella* توسط *S. feltiae* شد. مرگ و کیر در تیمار 3-12 درجه طی 7 روز اول تلقیح دیده شد. در طی 4 روز، *S. feltiae* موجب 2 و 18.4 درصد مرگ و میر به ترتیب در 6-18 و 10-27 درجه شد. هفت روز بعد از تلقیح، مرگ و میر های مشاهده شده، 42.8 درصد در 6-18 درجه و 53 درصد در دمای 10-27 درجه بودند. بعد از انکوباسیون لارو های زنده در دمای 25 درجه برای 7 روز دیگر، همه حشرات در معرض *S. feltiae* از هر دو تیمار 6-18 و 10-27 درجه قرار گرفته و مردند در حالی که 30.2 درصد مرگ و میر برای حشرات در رژیم دمایی 3-12 درجه مشاهده شدند.

جدول 1:

Overall infection levels of *Bactrocera oleae* and percentage that died in the soil compared to that inside infested olives resting on a sand-potting soil substrate and treated with *Steinernema* and *Heterorhabditis* species (25 infective juveniles/cm²) in the laboratory.

Nematode species	Percent ^a overall infection ± SEM	Percent ^b of all <i>B. oleae</i> infected ± SEM		Total larvae and pupae
		Inside olives ^a	In the soil	
<i>S. feltiae</i>	67.9 ± 6.0a	42.1 ± 9.0a	25.8 ± 4.2a	78
<i>S. carpocapsae</i>	45.6 ± 4.9b	30.2 ± 6.2ab	15.4 ± 2.5a	73
<i>S. riobrave</i>	35.8 ± 4.6bc	5.5 ± 2.4b	30.3 ± 4.2a	70
<i>S. glaseri</i>	33.7 ± 6.4bc	28.5 ± 4.1ab	5.2 ± 2.8c	117
<i>H. bacteriophora</i>	37.3 ± 6.4bc	10.2 ± 6.1b	27.1 ± 5.9b	60
<i>H. marelatus</i>	19.1 ± 8.4c	10.3 ± 5.4b	8.8 ± 3.9b	63

^a Means followed by the same letter are not significantly different (SNK test, $P < 0.05$).

^b Two means followed by the same letter within each row are not significantly different (t-test, $\alpha = 0.05$).

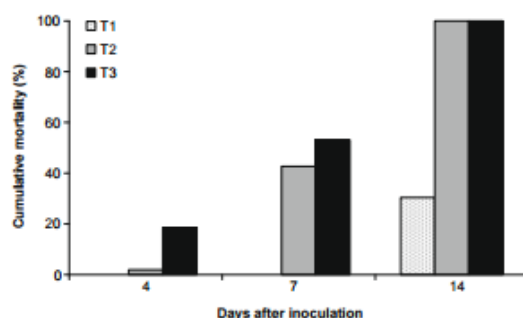
جدول 2:

Mean percent^a survival (±SEM) of *Steinernema feltiae* incubated on a sand substrate (10% moisture) at three different temperature (°C) treatments.

Treatment ^b	Week(s) after incubation							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	98.7 ± 0.5a	90.1 ± 2.8b	72.1 ± 3.0cd	66.5 ± 2.6c	78.1 ± 2.9d	97.9 ± 1.0a	96.4 ± 0.9a	87.6 ± 1.4e
T2	99.5 ± 0.5a	91.9 ± 2.3b	90.9 ± 2.5b	79.1 ± 3.5cd	83.1 ± 3.9c	78.4 ± 3.8cd	74.7 ± 3.9cd	71 ± 5.4cd
T3	95.5 ± 1.7a	93.8 ± 3.1a	84.7 ± 2.8b	66.6 ± 5.1c	35.8 ± 7.5d	23.1 ± 5.0e	27.6 ± 5.0e	26.3 ± 4.5e

^a Means followed by the same letters within rows are not significantly different (SNK test, $P < 0.05$).

^b T1: 3-12 °C (min-max); T2: 6-18 °C; T3: 10-27 °C; In a 24 h period, the temperature fluctuated in the following pattern: 8 h at the maximum and 8 h at the minimum temperature with two 4 h intervals at 7, 12, and 17 °C, respectively.



شکل 4

3.3 تولید مثل نماتد در لارو *B. oleae*

همه حشرات در معرض EPN شفییره شده بعد از 2 روز قرار گرفتند. هیچ ظهور لارو نسل سوم بعد از 3 هفته دیده نشد که طی آن 19 مورد از 50 شفییره به مکس بالغ تبدیل شدند. وقتی که شفییره ها تشریح شدند 35.5 درصد 3ض آن ها دارای تعداد زیادی از لارو های زنده نسل سوم بودند. 9.7 درصد دارای تعداد زیادی از لارو های نسل سوم مرده بودند و 26 درصد دارای نماتد های مرده ماده بودند و 9.7 درصد دارای مراحل انگلی مختلف بودند که بسیاری از آن ها مردند هیچ نماندی در 19 درصد باقی مانده مشاهده نشد.

4. بحث

نتایج ما نشان می دهد که لارو *B. Oleae* که سه میلی متر و بزرگ تر است حساس به الودگی EPN نه تنها در خاک بوده بلکه درون زیتون های افتاده وجود داشتند. این می تواند فرصت را برای نماتد ها برای استفاده علیه *B. oleae* فراهم می کند زیرا بسیاری از زیتون های الوده که به زمین در انتهای فصل می افتند دارای لارو بالغ می باشند. این یافته ها نشان می دهند که *S. feltiae* قادر به بقا و عفونی برای *B. oleae* در دما های پاییز و اوایل زمستان می شود به خصوص زمانی که لارو ها زیر درختان زیتون به تعداد زیاد بر روی خاک در شرایط اقلیمی مشابه افتادند. از این روی *S. feltiae* یک عامل کنترل زیستی برای کاهش جمعیت های زمستانه *B. oleae* است پیشنهاد ما این است که ماه نوامبر زمان بهینه برای استعمال *S. feltiae* بر علیه *B. oleae* در مزرعه کارولینای شمالی به دلیل شرایط دمایی و رطوبتی آن است.

لارو های نسل سوم حساسیت مشابهی به الودگی توسط سویه های *Heterorhabditis* و *Steinernema* نشان دادند به خصوص زمانی که در معرض نماتد ها در سوبتسرای خاک گلدان و شن قرار گرفتند. بسیاری از لارو ها به صورت شفیره مردند که مشابه با نتایج مربوط به *R. indifferens* در معرض *S. feltiae* و *S. carpocapsae* است ((Patterson Stark and Lacey, 1999; Yee and Lacey, 2003)). هم چنین *C. capitata*, *Dacus dorsalis* Hendel و *D. cucurbitae* Coquillett در معرض *S. carpocapsae* نیز به صورت لارو الوده شدند ولی بعد از شفیرگی مردند و *S. feltiae* موجب مرگ و میر 100 درصد قبل از شفیرگی شدند زیرا لارو های مگس در طی چند ساعت بعد از ترک میوه در دمای 25 درجه شفیره شدند. این ناشی از پاتوژنسیته بالا و یا درجه پاتوژنسیته بالا است. وقتی *S. feltiae* در برابر *C. capitata* تست شدند، عملکرد بهتری از *S. riobrave* داشتند (گازیت و همکاران 2000).

وقتی گونه های EPN بر روی زیتون های الوده به مگس زیتون اعمال شدند، دارای سطوح الودگی متفاوتی با *S. feltiae* بودند که به عنوان عفونی ترین گروه بود. این آزمایش مطابق با شرایط طبیعی بود که در آن پتانسیل نماتد ها برای الودگی لارو های درون زیتون موجب بهبود کارایی آن ها می شود. یک زیتون افتاده همراه یا بدون سوراخ خروجی، دارای بیش از یک لارو در مراحل مختلف است. وقتی که زیتون ها جمع اوری شدند، نمی دانستیم که کدام یک الوده و کدام یک سالم است و از این روی 120 زیتون در هر تکرار در نظر گرفته شدند و هدف داشتن تعداد کافی از گونه های الوده بود. حساسیت منحصر به فرد لارو های 3 میلی متری و بزرگ تر ناشی از خروج و انتشار دی اکسید کربن بالا است که نماتد جذب می کند (لوییس و همکاران 1993) و منافذ طبیعی بزرگ آن ها از مهم ترین درگاه های ورودی لارو های نسل سوم است (گریف و همکاران 2005).

بسیاری از لارو های درون زیتون های تیمار شده که نشان می دهد لارو های نسل سوم قادر به یافتن آن ها قبل از خروج می باشند، نماتد ها به احتمال زیاد وارد کانال های تغذیه ای در زیتون ها از طریق منافذ خروجی می شوند به طور مشابه *S. carpocapsae* و *S. feltiae* موجب الودگی لارو های *Anaplophora glabipennis* درون کانال های سوراخ شده در رژیم غذایی مصنوعی شد (فالون و همکاران 2004). به علاوه، LeBeck et al (1993) اثبات کردند که *S. carpocapsae* وارد برگ های *Liriomyza trifolii* از طریق منافذ تخم گذاری شدند. گونه های EPN به گونه های کمین کننده که دارای راهبرد غذایی بشین و منتظر بمان استفاده می

کنند و گشت زن، یعنی آن هایی که به جست و جوی میزبان می پردازند (*S. glaseri*) و یا بینابین (*S. feltiae* and *S. riobrave*)، تقسیم می شوند (کمپل و لوییس 2002). نوع گشت زن *S. glaseri* لارو ها راکشته و در حالی که درون زیتون همانند *S. feltiae* و *S. carpocapsae* باقی می ماند. از این روی حتی گونه های کمین کننده به اندازه کافی حرکت کرده و لارو را الوده می کنند. نتایج مشابه در تست های میدانی *carpocapsae* در برابر *Amyelois transitella* مشاهده شدند که در میوه پسته افتاده در زمستان باقی می ماند (سیگل و همکاران 2004).

در برآورد جمعیت لاروی *B. Oleae* درون زیتونهای افتاده، زیتون های جمع اوری شده در سه تاریخ نمونه برداری دسامبر 2006 دارای بالاترین تعداد لاروهای سه میلی متر و بزرگ تر بودند که به آلودگی و بیماری توسط *S. feltiae* حساس بودند. با این حال، دماها طی این دوره، برای استعمال ایده ال نمی باشد. وقتی که افتادن میوه ها شروع می شود، نسبت زیادی از لارو ها از میوه هایی که هنوز در روی درختان هستند برای شفیره شدن در خاک شروع می شود (کاپتوس و فلچر 1984). این نسبت در مطالعه ما تعیین نشد. از این روی داده ها تنها نشان دهنده بخشی از لارو هایی هستند که اهداف بالقوه در استعمال EPN می باشند. با این وجود، نتایج ما را می توان معرف جمعیت لاروی *B. Oleae* در نظر گرفت که حساس به *S. feltiae* است.

برای تعیین دوره زمانی بهینه طی فصل برای کاربرد و استعمال مزرعه ای گونه های EPN انتخاب شده، برای بررسی اثرات عوامل غیر زنده بر روی بقای EPN و بیماری طی دوره زمانی بالقوه ضروری است. دما یکی از عوامل مهم محدود کننده فعالیت های EPN است (کریفین 1993، کروال و همکاران 1994) زیرا بر نمو (کایا 1977)، رفتار تغذیه (بیرز و پینر 1981)، بیماری (Molyneux, 1986; Saunders and Webster, 1999;))، بقای EPN (Chen et al., 2003) نماتد ها اثر دارد. مقادیر پایین و بالای متوسط طی ژانویه، فوریه و مارس در دسامبر، نوامبر و اکتبر دیده شدند که شامل رژیم های دمایی سه ماهه بودند.

آزمایش بقای لارو های نسل سوم نشان داد لارو های سومین نسل *S. Feltiae* قادر به تحمل دمای پایین بوده و در طی ماه های نوامبر و دسامبر در کالیفرنیا تحت هوای سرد زنده می ماند وقتی که بقای *S. feltiae* در سه دما با دمای حداقل حداکثر 3-6، 12-18 و 10-27 در طی 8 هفته ارزیابی شده و لارو های نسل سوم در سرد ترین دما بالاترین بقا را در انتهای آزمایش نشان داد. اگرچه برای تیمار متوسط در مقایسه با سرد ترین رژیم در

طی سه هفته کم تر بود، لارو های سومین نسل در رژیم اول سرعت بقای بالایی را به طور متوسط برای 5 هفته اول نشان دادند. *S. feltiae* مقاوم به سرما بوده و به دماهای سرد تر سازگار تر است ((Grewal et al., 1994; Wright, 1992; Hazir et al., 2001)). اگرچه دماهای پایین اثر منفی بر تحرک *S. feltiae* دارد، EPN به طور لعال به جست و جوی الوده کردن *B. oleae* در طی 72 ساعت با توجه به دمای بهینه می کند. دما یک عامل مهم در الودگی EPNs ((Griffin, 1993; Hazir et al., 2001)). وقتی لارو های *G. mellonella* در معرض *S. Feltiae* در تیمار های دمایی قرار داده شدند، مرگ و میر لاروی به طور معنی داری در سرد ترین رژیم پایین تر بود. مشابه با نتایج ما، *S. feltiae* موجب الودگی لارو *G. mellonella* در دمای 8 درجه برای 10 روز اولیه انکوباسیون شد (ساندرز و بستر 1999). در مطالعات دیگر، *S. feltiae* موجب آلوده شدن لارو *Delia radicum* بعد از 4 روز در 10 درجه شده و مرگ و میر لارو *G. mellonella* بعد از 5 روز در دمای 8 درجه 50 درصد بود (گریول و همکاران 1994). مرگ و میر های مشابه ناشی از *S. feltiae* در تیمار های متوسط و گرم ترین نشان می دهد که دمای پایین طی ماه نوامبر در مقایسه با اکتبر، اثری بر عفونت *S. feltiae* نداشت.

نتایج نشان می دهد که سرد ترین رژیم موجب الودگی و بیماری نهان شد (براون و همکاران 2002). EPN می تواند از این راهبرد برای بقا تحت شرایط سرد و زمستانه درون میزبان استفاده کند. با این حال، مرگ و میر ناشی از *S. feltiae* بعد از انتقال بارو به دمای 25 درجه پایین بود. از این روی *S. Feltiae* انتظار نمی رود که موجب مرگ و میر قابل توجهی در دامنه دمایی شود. تاخیر در الودگی برای سایر گونه های EPN گزارش شده است. براون و همکاران 2002 نشان داد که 100 درصد لارو *mellonella* که در معرض *S. Carpocapsae* در 5 درصد زنده باقی ماندند، در 72 ساعت پس از انتقال به 25 درجه مرد.

S. feltiae که قبلا به خاک اعمال شده بود، موجب الوده شدن *B. oleae* زیتون ها در خاک شد. یافته های ما نشان می دهد که *S. feltiae* در برابر *B. oleae* افتاده در خاک بعد از استعمال EPN موثر بود و زمانیکه شرایط بهینه وجود داشته باشد، *B. oleae* قادر به بقا خواهد بود. این موجب افزایش انعطاف پذیری در زمان بندی استعمال *S. Feltiae* و تعداد استعمال ها شده و از این روی فرصت را برای طرح های مدیریتی *B. oleae* فراهم کرد. پیشنهاد زمان بهینه بین استعمال EPN و لارو *B. Oleae* افتاده در خاک نیاز به مطالعه بیشتر دارد.

References

- Abbott, W.S., 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18, 265–267.
- Belton, P., Trotter, T.A., Webster, J.M., 1987. *Heterorhabditis heliothidis*: a potential biological control agent of house flies in caged-layer poultry barns. *Journal of Nematology* 19, 263–266.
- Boemare, N., 2002. Biology, taxonomy and systematics of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. In: Gaugler, R. (Ed.), *Entomopathogenic Nematology*. CABI Publishing, Wallingford, pp. 35–56.
- Brown, I.M., Lovett, B.J., Grewal, P.S., Gaugler, R., 2002. Latent infection: a low temperature survival in steinernematid nematodes. *Journal of Thermal Biology* 27, 531–539.
- Byers, J.A., Poinar Jr., G.O., 1982. Location of insect host by nematode, *Neoplectana carpocapsae*, in response to temperature. *Behaviour* 79, 1–10.
- Campbell, J.F., Lewis, E.E., 2002. Entomopathogenic nematode host-search strategies. In: Lewis, E.E., Campbell, J.F., Sukhdeo, M.V.K. (Eds.), *The Behavioral Ecology of Parasites*. CABI Publication, Wallingford, pp. 13–38.
- Chen, S., Li, J., Han, X., Moens, M., 2003. Effect of temperature on the pathogenicity of entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis* spp.) to *Delia radicum*. *BioControl* 48, 713–724.
- Dimou, I., Koutsikopoulos, C., Economopoulos, A.P., Lykakis, J., 2003. Depth of pupation of the wild olive fruit fly, *Bactrocera (Dacus) oleae* (Gmel.) (Dipt., Tephritidae), as affected by soil abiotic factors. *Journal of Applied Entomology* 127, 12–17.
- Fallon, D.J., Solter, L.F., Keena, M., McManus, M., Cate, J.R., Hanks, L.M., 2004. Susceptibility of Asian longhorn beetle, *Anolophora glabripennis* (Motchulsky) (Coleoptera: Cerambycidae) to entomopathogenic nematodes. *Biological Control* 30, 430–438.
- Forst, S., Clarke, D., 2002. Bacteria-nematode symbiosis. In: Gaugler, R. (Ed.), *Entomopathogenic Nematology*. CABI Publishing, Wallingford, pp. 54–77.
- Gazit, Y., Rossler, Y., Glazer, I., 2000. Evaluation of entomopathogenic nematodes for the control of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Biocontrol Science and Technology* 10, 157–164.
- Georgis, R., Köppenhöfer, A.M., Lacey, L.A., Bèlair, G., Duncan, L.W., Grewal, P.S., Samish, M., Tan, L., Torr, P., van Tol, R.W.H.M., 2005. Success and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. *Biological Control* 38, 103–123.
- Grewal, P.S., Köppenhöfer, A.M., Choo, H.Y., 2005. Lawn, turfgrass and pasture applications. In: Grewal, P.S., Ehler, R.-U., Shapiro-Ilan, D.I. (Eds.), *Nematodes As Biocontrol Agents*. CABI Publishing, Wallingford, pp. 115–146.
- Grewal, P.S., Selvan, S., Gaugler, R., 1994. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: niche breath for infection, establishment and reproduction. *Journal of Thermal Biology* 19, 245–253.
- Griffin, C.T., 1993. Temperature responses of entomopathogenic nematodes: implication for the success of biological control programmes. In: Bedding, R., Akhurst, Kaya, H. (Eds.), *Nematodes and the Biological Control of Insect Pests*. CSIRO Publishing, East Melbourne, pp. 115–126.
- Griffin, C.T., Boemare, N.E., Lewis, E.E., 2005. Biology and behavior. In: Grewal, P.S., Ehler, R.-U., Shapiro-Ilan, D.I. (Eds.), *Nematodes As Biocontrol Agents*. CABI Publishing, Wallingford, pp. 47–64.
- Hazir, S., Stock, S.P., Kaya, H.K., Köppenhöfer, A.M., Keskin, N., 2001. Developmental temperature effects on five geographic isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 77, 243–250.
- Ishibashi, N., Kondo, E., 1990. Behavior of infective juveniles. In: Gaugler, R., Kaya, H.K. (Eds.), *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. CRC Press, Boca Raton, pp. 139–150.
- Jagdale, G.B., Casey, M.L., Grewal, P.S., Lindquist, R.K., 2004. Effects of application rate and timing, potting medium and host plant on efficacy of *Steinernema feltiae* against fungus gnat, *Bradysia coprophila*, in floriculture. *Biological Control* 29, 296–305.
- Jess, S., Schweizer, H., Kilpatrick, M., 2005. Mushroom applications. In: Grewal, P.S., Ehler, R.-U., Shapiro-Ilan, D.I. (Eds.), *Nematodes As Biocontrol Agents*. CABI Publishing, Wallingford, pp. 191–213.
- Johnson, M.W., Zalom, F.G., Van Steenwyk, R., Vossen, P., Devarenne, A.K., Daane, K.M., Krueger, W.H., Connell, J.H., Yokoyama, V., Bisabri, B., Caprile, J., Nelson, J., 2006. Olive fruit fly management guidelines for management guidelines for 2006. *UC Plant Protection Quarterly* 16 (3), 1–7.
- Kapatos, E.T., Fletcher, B.S., 1983. An assessment of components of crop loss due to infestation by *Dacus oleae*, in Corfu. *Entomologia Hellenica* 1, 7–16.
- Kapatos, E.T., Fletcher, B.S., 1984. The phenology of the olive fly, *Dacus oleae* (Gmel.) (Diptera, Tephritidae), in Corfu. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* 97, 360–370.
- Kaya, H.K., 1977. Development of the DD-136 strain of *Neoplectana carpocapsae* at constant temperature. *Journal of Nematology* 9, 346–349.
- 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, pp. 281–324.
- Kung, S.P., Gaugler, R., Kaya, H.K., 1991. Effects of soil temperature, moisture, and relative humidity on entomopathogenic nematode persistence. *Journal of Invertebrate Pathology* 57, 242–249.
- LeBeck, L.M., Gaugler, R., Kaya, H.K., Hara, A.H., Johnson, M.W., 1993. Host stage suitability of the leafminer *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) to the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 62, 58–63.
- Lewis, E.E., Campbell, J., Griffin, C., Kaya, H., Peters, A., 2006. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. *Biological Control* 38, 66–79.
- Lewis, E.E., Gaugler, R., Harrison, R., 1993. Response of cruiser and ambusher entomopathogenic nematodes (Steinernematidae) to host volatile cues. *Canadian Journal of Zoology* 71, 765–769.
- Lindgren, J.E., Vail, P.V., 1986. Susceptibility of Mediterranean fruit fly, melon fly, and oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) to the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* in laboratory tests. *Environmental Entomology* 15, 465–468.
- Lindgren, J.E., Wong, T.T., McInnis, D.O., 1990. Response of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) to the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* in field tests in Hawaii. *Environmental Entomology* 19, 383–386.
- Michelakis, S.E., Neuenschwander, P., 1983. Estimates of the crop losses caused by *Dacus Oleae* (Gmel.) (Diptera: Tephritidae) in Crete, Greece. In: Cavalloro, R. (Ed.), *Fruit Flies of Economic Importance*. A. A. Balkema, Rotterdam, pp. 603–611.
- Molyneux, A.S., 1986. *Heterorhabditis* spp. and *Steinernema* (=Neoplectana) spp.: temperature and aspects of behavior and infectivity. *Experimental Parasitology* 62, 169–180.
- Patterson Stark, J.E., Lacey, L.A., 1999. Susceptibility of western cherry fruit fly (Diptera: Tephritidae) to five species of entomopathogenic nematodes in laboratory studies. *Journal of Invertebrate Pathology* 74, 206–208.
- Poinar Jr., G.O., 1990. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: Gaugler, R., Kaya, H.K. (Eds.), *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. CRC Press, Boca Raton, pp. 23–61.
- Rice, R.E., 2000. Bionomics of the olive fruit fly, *Bactrocera (Dacus) oleae*. *UC Plant Protection Quarterly* 10 (3), 1–5.
- Rice, R.E., Phillips, P.A., Stewart-Leslie, J., Sibbet, G.S., 2003. Olive fruit fly populations measured in central and southern California. *California Agriculture* 57 (4), 122–127.
- SAS Institute. 2002–2003. SAS 9.1 for Windows, SAS Institute, Cary, NC.
- Saunders, J.E., Webster, J.M., 1999. Temperature effects on *Heterorhabditis megidis* and *Steinernema carpocapsae* infectivity to *Galleria mellonella*. *Journal of Nematology* 31, 299–304.
- Shapiro-Ilan, D.I., Fuxa, J.R., Lacey, L.A., Onstad, D.W., Kaya, H.K., 2005. Definitions of pathogenicity and virulence in invertebrate pathology. *Journal of Invertebrate Pathology* 88, 1–7.
- Siegel, J., Lacey, L.A., Fritts, R., Higbee, B.S., Noble, P., 2004. Use of steinernematid nematodes for post harvest control of navel orangeworm (Lepidoptera: Pyralidae, *Amyelois transitella*) in fallen pistachios. *Biological Control* 30, 410–417.
- Wright, P.J., 1992. Cool temperature reproduction of steinernematid and heterorhabditid nematodes. *Journal of Invertebrate Pathology* 60, 148–151.
- Yee, W.L., Lacey, L.A., 2003. Stage-specific mortality of *Rhagoletis indifferens* (Diptera: Tephritidae) exposed to three species of *Steinernema* nematodes. *Biological Control* 27, 349–356.