

بهبود ویژگی‌های دلنه‌های آلژینات کلسیم به عنوان فرمولاسیون نماتودهای بیمارگر حشرات "

" *Steinernema feltiae* و *Steinernema carpocapsae* *Heterorhabditis bacteriophora*

ریحانه درسویی، جواد کریمی

دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه گیاه پزشکی

### چکیده

گلوله‌های آلژینات کلسیم یکی از مواد مورد استفاده برای فرمولاسیون و نگهداری نماتودهای بیمارگر حشرات به شمار می‌روند. این مطالعه، نرخ بقا، نرخ تولیدمثل و میزان زهرآگینی لاروهای عفونت‌زای نماتود را در طول زمان (۱ تا ۱۸۰ روز پس از فرمولاسیون) ارزیابی کرد. نماتودهای فرموله شده عبارت بودند از *Heterorhabditis bacteriophora*، *Steinernema carpocapsae* و *S. feltiae*. فرمولاسیون در حجم ۳/۰۵ میلی‌لیتر تولید شد که شامل ۲ میلی‌لیتر آلژینات سدیم (۱/۵ و ۱/۷۵ درصد)، ۰/۲ میلی‌لیتر گلیسرین، ۰/۸ میلی‌لیتر سوسپانسیون نماتود در آب استریل (به‌طور تقریبی ۱۵۰۰۰ لارو عفونت‌زای نماتود) و ۵۰ میکرولیتر رنگ خوراکی بود. علاوه بر این ترکیبات، ۰/۱۵ گرم از دو ترکیب جذب‌کننده‌ی آب نیز به سوسپانسیون اضافه شد که انحصاری هستند. سوسپانسیون حاصل در محلول ۳۰ میلی مولار  $\text{CaCl}_2$  (به نسبت 8:2,  $\text{CaCl}_2$ :glycerin) توسط سرنگ چکانده شده تا گلوله‌های آلجینات کلسیم تشکیل شوند. این گلوله‌ها در دو دمای ۸ و ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد داخل پلاستیک زیپ کیپ نگهداری شدند. لاروهای عفونت‌زای مربوط به تیمار شاهد در آب استریل نگهداری شدند. نتایج نشان داد نرخ بقای لاروهای عفونت‌زای نماتود در گلوله‌های تشکیل شده نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود. در حالی که درصد بقا در طول زمان کاهش یافت. نرخ بقا در *H. bacteriophora* در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد نسبت به ۸ درجه‌ی سانتی‌گراد بیشتر بود. در حالی که در نماتود *S. carpocapsae* نرخ بقا در ۸ درجه‌ی سانتی‌گراد بیشتر بود. برای نماتود *S. feltiae* هر دو دما نتایج یکسانی داشت. میزان زهرآگینی نماتودهای بیمارگر حشرات در طول زمان کاهش پیدا نکرد. روش استفاده از گلوله‌های آلژینات کلسیم به این صورت بود که ۱۰ گلوله‌ی آلژینات کلسیم به ۴ میلی‌لیتر آب منتقل شدند. هر گلوله به‌طور تقریبی در طول ۲۴ ساعت ۴۰۰ میکرولیتر آب جذب کرد و حجم آن دو برابر شد. به دنبال افزایش حجم، در گلوله‌ها شکاف‌هایی ایجاد شد که خروج لاروهای عفونت‌زا از داخل گلوله‌ها را تسهیل می‌کرد. گلوله‌های آلجینات کلسیم برای نگهداری نماتودهای بیمارگر حشرات در دمای اتاق به مدت ۳ ماه مناسب هستند. انجام تحقیقات تکمیلی می‌تواند در بهبود عملکرد این فرمولاسیون و کاربرد اقتصادی آن موثر باشد.

**کلمات کلیدی:** آلجینات سدیم، کنترل زیستی، فرمولاسیون لاروهای عفونت‌زای نماتود

# Enhanced Calcium-alginate beads properties as a formulation of entomopathogenic nematodes” *Heterorhabditis bacteriophora*, *Steinernema carpocapse*, *Steinernema feltiae*”

Reyhaneh Darsouei, Javad Karimi\*

Dept. of Plant Protection, School of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

## Abstract

Alginate calcium beads are one of the substrates used to formulate and store the infective juveniles (IJs) of entomopathogenic nematodes (EPNs). This study, surveyed the survival rate, reproduction rate, and infectivity of IJs over the time (1-180 day post-formulation). EPNs species formulated were *Heterorhabditis bacteriophora*, *Steinernema carpocapsae* and *S. feltiae*. The formulation was made in a volume of 3.050 ml that included 2 ml sodium alginate (1.5-1.75%), 0.2 glycerin, 0.8 ml nematode suspension in distilled water (~15000 IJs) and 50 µl eatable color. Moreover, 0.015 grams of two water-absorbent compounds added to the suspension is patent. Suspension was dropped in 30mM CaCl<sub>2</sub> (8:2 CaCl<sub>2</sub>: glycerin) which formed calcium alginate beads. The beads were stored at two temperatures (8 and 25°C). Control treatment was kept in sterile water. The survival rate of IJs at beads formed was more than those control treatment. While survival percentage decreased over time. The survival rate in *H. bacteriophora* at 25°C was more than 8°C. In *S. carpocapse* at 8°C was more than at 25° C and in *S. feltiae* both temperatures were the same. The pathogenicity of EPNs did not decrease over time. The method of using calcium alginate beads is as follows: Ten calcium alginate beads were transferred into the 4 ml sterile water. One bead absorbed ~400 µl water and its volume doubled during 24 hours. As a result of their swelling, the beads took a gap, so the IJs emergence was facilitated. Sodium alginate beads are suitable for keeping nematodes at room temperature for up to 3 months. Conducting additional research can be effective in improving the performance of this formulation and its economic application.

**Key words:** Sodium alginate, Biological control, Infective juvenile formulation