تأثير درجات الحرارة المرتفعة في حيوية النيماتودا الممرضة للحشرات *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar مخبرياً

محمد هشام الزينب

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة حلب، حلب، سورية، البريد الإلكتروني: Dr_alzainab@yahoo.com

الملخص

الزينب، محمد هشام. 2013. تأثير درجات الحرارة المرتفعة في حيوية النيماتودا الممرضة للحشرات *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar مخبرياً. مجلة وقاية النبات العربية، 31(3): 269-274.

تم في هذه الدراسة اختبار تأثير درجات الحرارة المرتفعة في حيوية أربعة سلالات H1، H3، H4 و H5 من النيماتودا الممرضة للحشرات *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar معزولة من ترب سورية، وتم تحديد درجات الحرارة القاتلة لـ 50% و90% من يرقات الطور المعدي تحت الشروط المخبرية في معهد وقاية النبات بجامعة كيل بألمانيا عام 2009. أظهرت النتائج بأن هناك تبايناً بين السلالات المختبرة من حيث تحملها لدرجات الحرارة المرتفعة القاتلة لـ 50% من يرقات النيماتودا، وتراوحت ما بين 36.83 °س للسلالة H1 و37.20 °س للسلالة H4 للمعاملات غير المهيئة حرارياً، كما تراوحت درجات الحرارة المرتفعة القاتلة لـ 50% من يرقات النيماتودا ما بين 37.90 °س للسلالة H1 و38.47 °س للسلالة H4 للمعاملات المهيئة حرارياً. وتراوحت درجات الحرارة القاتلة لـ 90% من يرقات النيماتودا ما بين 38.07 °س للسلالة H1 و38.36 °س للسلالة H5 للمعاملات غير المهيئة حرارياً، و38.97 °س للسلالة H1 و 40.26 °س للسلالة H5 للمعاملات المهيئة حرارياً. كما بينت النتائج زيادة في درجة تحمل الحرارة عند تهيئة اليرقات حرارياً بمقدار 1.14°س و1.38 °س عند نسبة الموت 50% و90% للسلالات المختبرة، على التوالي.

كلمات مفتاحية: النيماتودا الممرضة للحشرات، تحمل الحرارة، *Heterorhabditis bacteriophora*.

المقدمة

تعد النيماتودا الممرضة للحشرات entomopathogenic nematodes والتابعة للعائلة Heterorhabditidae (Rhabditidomorpha) من أهم الأعداء الحيوية لبعض الحشرات الاقتصادية المنتشرة على الخضار وأشجار الفاكهة ونباتات الزينة (13). سُجلت النيماتودا *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar في معظم دول العالم، وهي إحدى أهم الأنواع المدروسة من بين النيماتودا الممرضة للحشرات (21). يعدّ استخدام النيماتودا المُمْرضة للحشرات من الطرائق الحيوية الحديثة، وهي آمنة الاستخدام لمكافحة الحشرات، وغير ضارة بالبيئة (8)، والممكن إنتاجها بكميات وافرة واقتصادية في البيئات السائلة (7)، الأمر الذي أتاح منذ فترة ليست ببعيدة من إنتاجها بشكل تجاري في البيئات السائلة (3). يعد الطور اليرقي الثالث الطور المعدي infective juvenile (IJ) ويسمى أيضاً بطور الاستمرارية auer juvenile (DJ)، ويمكن أن يثابر في التربة لفترة زمنية طويلة (11). إن هذه النيماتودا متعايشة مع البكتريا *Photorhabdus luminescens* Poinar and Thomas، السالبة لغرام Gram-negative والمنتمية للعائلة Enterobacteriaceae (6). يحمل الطور المعدي 200-2000 خلية بكتيرية متعايشة في الجزء الأمامي من أمعاء اليرقة (4، 10). بعد دخول يرقات النيماتودا جسم الحشرة تتحرر الخلايا البكتيرية إلى دم العائل، وتفرز توكسينات وعضيات أخرى (2، 5) تعطل بدورها العمليات الاستقلابية للحشرة مما يؤدي إلى قتلها خلال يومين من الإصابة (20). تتكاثر هذه البكتريا أثناء تتطفلها ضمن العائل، وبذلك تجعل ظروف التغذية (الغذاء الرئيس للنيماتودا) مناسبة لتطور النيماتودا وتكاثرها والذي لا يمكن حدوثه بغياب البكتريا (15). تتغذى النيماتودا على الخلايا البكتيرية، ثم تتحول إلى ديدان بالغة تتوالد بكرياً، ولأجيال عدَّة ضمن جثة العائل، وتعطي نسلاً جديداً تحتفظ بيرقاته المعدية بالخلايا البكتيرية في القسم الأمامي من أمعائها. تغادر يرقات النيماتوداالناتجة من الأجيال المتعاقبة جثة الحشرة وتبحث عن عائل جديد (4، 7). تتأثر حياة النيماتودا الممرضة للحشرات وكفاءتها في التطفل وقتل الحشرات بالظروف البيئية المحيطة وغير المناسبة، مما يجعل من تأهيل السلالات الطبيعية وتحسينها أمراً مهماً كي تتحمل الظروف البيئية غير المناسبة (14). لقد تمت دراسة

الاصطفاء الطبيعي كمرحلة أولى للتحسين الوراثي للسلالات الطبيعية بهدف الحصول على تلك الخصائص التي تنقل وراثياً للأجيال مثل تحمّل درجات الحرارة (12، 15)، والجفاف (22)، مع الاحتفاظ بمقدرتها على قتل الحشرات، وذلك كشرط أساسي من أجل استخدامها على المستوى التجاري (18). وقد أشارت دراسات سابقة إلى إمكانية زيادة مقدرة النيماتودا على تحمّل درجات الحرارة من خلال الاصطفاء الطبيعي، إذ تبين بأن عامل التوريث في تحمّل درجات الحرارة المرتفعة بلغ 68%، إلا أن عامل التوريث لتحمّل البرودة كان أقل، ولم يتجاوز نسبة 38% عند *H. bacteriophora* (9). وتبين بأن تحمُّل الطور المعدي من هذه النيماتودا لدرجات الحرارة يتأثر من ناحية أولى بالمورثات وأيضاً بالعوامل البيئية، إذ تعد الحرارة عاملاً بيئياً مهماً محدداً لبقاء النيماتودا الممرضة للحشرات على قيد الحياة (9)، وأيضاً مؤثراً في كفاءتها في قتل الحشرات (18).

هدف هذا البحث إلى دراسة تأثير درجات الحرارة المرتفعة في حيوية أربع سلالات من النيماتودا الممرضة للحشرات *H. bacteriophora* معزولة من ترب سورية H1، H3، H4، H5، وتحديد درجات الحرارة القاتلة لـ 50% و90% من يرقات الطور المعدي تحت الظروف المخبرية.

مواد البحث وطرائقه

نفذت الدراسة في قسم التقانة الحيوية وأمراض النبات في معهد وقاية النبات بجامعة كيل، ألمانيا، خلال العام 2009. استخدمت للدراسة أربع سلالات طبيعية سورية H1، H3، H4 وH5 من النيماتودا الممرضة للحشرات *H. bacteriophora* عزلت من ترب مختلفة من حقول اللوزيات في محافظة حمص خلال شهري نيسان/أبريل وأيار/مايو لعام 2009 (تم الحصول على الطور المعدي للعزلات السابقة من مركز بحوث ودراسات المكافحة الحيوية بكلية الزراعة في جامعة دمشق).

تم دراسة معاملتين لتأثير درجات الحرارة؛ لم تتم تهيئة يرقات الطور المعدي للحرارة في المعاملة الأولى، وتم تهيئة اليرقات حرارياً في المعاملة الثانية.

تحضير يرقات الطور المعدي من سلالات النيماتودا الممرضة للحشرات

تمت تنمية يرقات الطور المعدي لسلالات النيماتودا المختبرة، السابقة الذكر، وإكثارها مخبرياً، باستخدام الطور اليرقي الأخير لدودة شمع العسل (.*Galleria millonella* (L، العائل المثالي للنيماتودا (18). استخدمت لذلك أطباق بتري بقطر 10 سم، وضع في قاعدة كل منها ورقة ترشيح. تم إضافة 1 مل من معلق للنيماتودا يحتوي على 1000±50 يرقة من الطور المعدي لسلالات النيماتودا المختبرة لكل طبق. ومن ثم وضعت عشرة يرقات حية من الطور اليرقي الأخير لدودة شمع العسل في كل طبق. أغلقت الأطباق بالبارافيلم، وحفظت في غرفة مظلمة (حاضنة) عند 25±1°س لمدة ثلاثة أيام. أخذت يرقات دودة شمع العسل الميتة، ووضعت على ورقة ترشيح رطبة ضمن المصيدة المائية التي تحتوي على محلول Ringer والمكون من 0.9 غ كلوريد الصوديوم، 0.42 غ كلوريد البوتاسيوم، 0.37 غ كلوريد الكالسيوم و0.2 غ بيكربونات الصوديوم لكل ليتر من الماء المقطر (16). وضعت المصائد المائية في الحاضنة ذاتها لمدة خمسة عشر يوماً حيث غادرت يرقات الطور المعدي خلال تلك الفترة جثة الحشرة إلى محلول Ringers (17). اعتبرت جميع اليرقات المعدية للأجيال المتعاقبة التي تم الحصول عليها من الحشرات الميتة ذاتها مجتمعاً واحداً (مجتمع الدفعة الأولى من الأجيال. تم تصفية المعلق اليرقي للنيماتودا باستخدام منخل قطر فتحاته 20 ميكروناً، ونقلت يرقات النيماتودا كمياً إلى محلول Ringers وحفظت عند 15°س، إذ تم اختبارها خلال اسبوع من الجمع. أعيدت عملية تنمية قسم من يرقات الطور المعدي لسلالات النيماتودا المختبرة وتم إكثارها لثلاث مرات للحصول على دفعات للأجيال المتعاقبة أي الدفعة الأولى، الدفعة الثانية والدفعة الثالثة. واعتبر كل دفعة منها مكرراً عند دراسة التباين بين الأجيال حسب الطرائق المتبعة (9).

اختبار تأثير الحرارة المرتفعة في نسبة موت يرقات النيماتودا

استخدم لهذه الغاية جهاز خاص مولد للحرارة المتدرجة (Temperature gradient generator). الجهاز مزود بصفيحة ألمنيوم ذات قطبين أحدهما ينتهي بحمام مائي ذو درجة حرارة منخفضة مقارنة بالآخر الذي ينتهي بحمام مائي ذو درجة حرارة مرتفعة (تعاير الحرارة المتدرجة حسب الحرارة المطلوبة للدراسة). زوِّد الجهاز بأطباق بلاستيكية يرتبط بكل منها سلك كهربائي يربطها بالحاسب لتحديد متوسط درجة الحرارة في كل طبق خلال فترة التجربة. وضع في كل طبق 5 مل ماء، ووضعت الأطباق على لوح الألمنيوم في الجهاز. وبعد 30 دقيقة من معايرة الجهاز على درجة الحرارة المطلوبة (35–40°س). تم إضافة 1مل من معلق للنيماتودا يحتوي 500±50 يرقة نيماتودا، وتركت لمدة ساعتين. تم في نهاية الفترة الزمنية تصفية المعلق اليرقي للنيماتودا باستخدام منخل قطر فتحاته 20 ميكرون، ونقلت يرقات النيماتودا كمياً

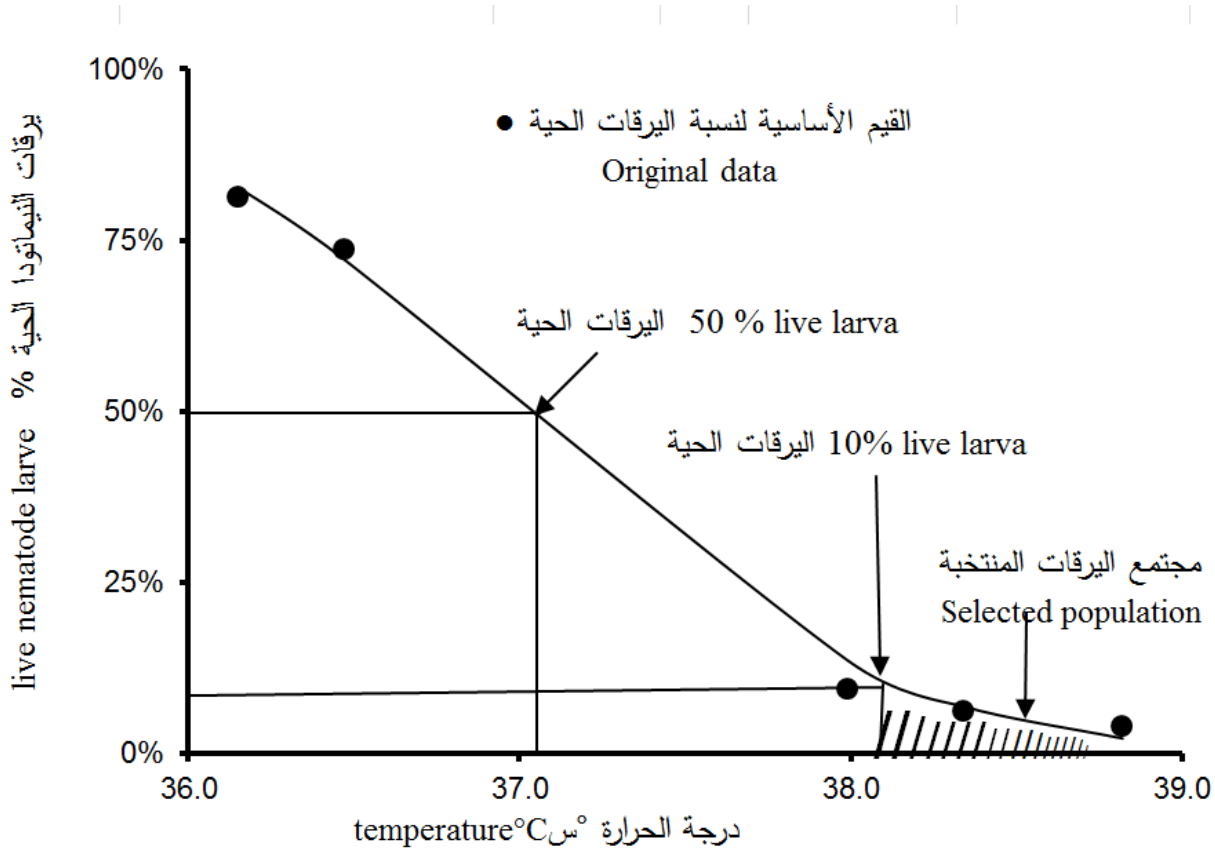
إلى محلول Ringers وحفظت في الحاضنة عند 25±1°س ولمدة 24 ساعة. بعدها تم عدّ اليرقات الحية واليرقات الميتة في كل طبق. تم تسجيل متوسط درجة الحرارة لكل طبق من الأطباق الخمسة المستخدمة في الجهاز خلال فترة تعرض اليرقات للحرارة، وسجلت درجات الحرارة في الحقل الخاص بها في برنامج الحاسوب.

تم اختبار معاملتين، في المعاملة الأولى اختبرت السلالات السابقة دون عملية التهيئة للحرارة، وفي المعاملة الثانية (المهيأة حرارياً)، فقد تم تهيئتها من خلال تعريض يرقات الطور المعدي ضمن أطباق بتري تحتوي ماء الصنبور عند 33°س لمدة 3 ساعات ضمن حاضنة، ثم أعيد حفظها لمدة 24 ساعة في محلول Ringers عند 25±1° س، وذلك قبل تعريضها لدرجات الحرارة المتدرجة كما ذكر سابقاً.

تحديد درجة الحرارة القاتلة لـ 50% و90% من يرقات الطور المعدي

تم رسم المنحنى الطبيعي للموت باستخدام الحاسوب ضمن برنامج Excel وفق نموذج رياضي معتمد في معهد وقاية النبات بجامعة كيل بألمانيا (19)، لتحديد درجة الحرارة اللازمة لقتل 50% أو لـ 90% من يرقات الطور المعدي لكل من سلالات النيماتودا المختبرة. ويعتمد رسم المنحنى الطبيعي للموت تبعاً لعدد اليرقات الحية واليرقات الميتة في كل طبق عند كل درجة حرارة (شكل 1). رسمت المنحنيات البيانية لكافة المكررات. وسجلت متوسطات درجات الحرارة القاتلة لـ 50% والقاتلة لـ 90% لكل سلالات النيماتودا المختبرة.

كررت التجربة ثلاث مرات لثلاث دفعات متعاقبة من أجيال النيماتودا الناتجة عن كل سلالة وفق تصميم كامل العشوائية، وحللت النتائج إحصائياً وفقاً لبرنامج ANOVA وتم حساب المتوسطات وقيمة أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى احتمال 5% بين المعاملات، وذلك باستخدام برنامج GenStat 15.



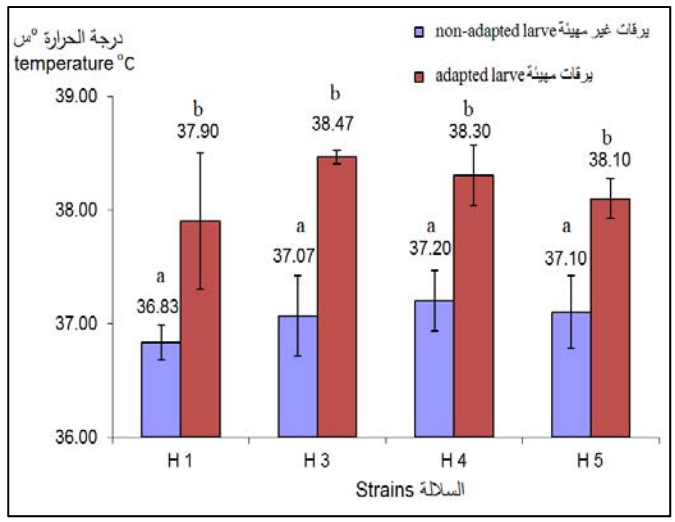
شكل 1. شكل المنحنى الطبيعي لنسبة اليرقات الميتة للنيماتودا *Heterorhabdites bacteriophora* .

Figure 1. Cumulative normal distribution showing the rate of dead larvae of *Heterorhabdites bacteriophora*.

النتائج والمناقشة

تأثير الحرارة المرتفعة في نسبة موت 50% من يرقات النيماتودا

أظهرت النتائج (شكل 2) بأن هناك فروق غير معنوية (P= 0.45، CV=0.9، LSD= 0.56) بين السلالات المختبرة من حيث تحملها لدرجات الحرارة المرتفعة القاتلة لـ 50% من يرقات النيماتودا. وتراوحت درجات الحرارة القاتلة لـ 50% من يرقات سلالات النيماتودا المختبرة ما بين 36.83 °س للسلالة H1 و37.20 °س للسلالة H4 للمعاملات غير المهيأة حرارياً (وسطياً37.05 °س)، ولم يكن هناك أية فروق معنوية بين كافة السلالات المختبرة. كما تراوحت درجات الحرارة المرتفعة القاتلة لـ 50% من يرقات النيماتودا ما بين 37.90 °س للسلالة H1 و38.47 °س للسلالة H4 للمعاملات المهيئة حرارياً التي تم تعريضها لمدة 3 ساعات لحرارة 33 °س (وسطياً 38.19°س)، ولم تظهر أية فروق معنوية ما بين السلالات المختبرة.



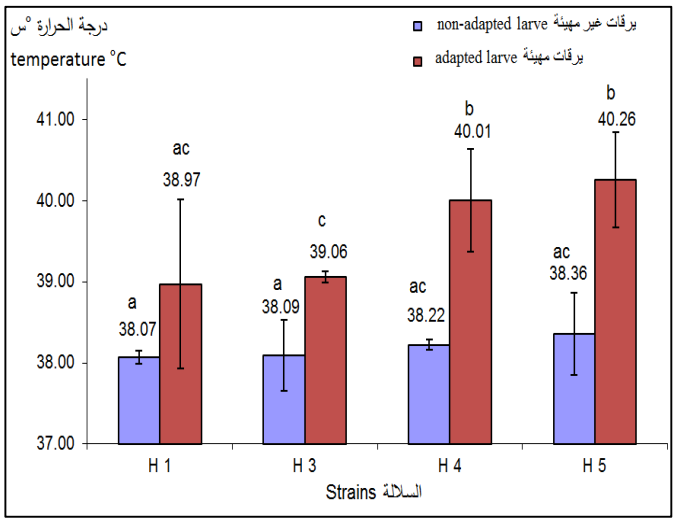
شكل 2. درجة الحرارة القاتلة لـ 50% من يرقات النيماتودا *H. bacteriophora*

Figure 2. Lethal temperature to 50% nematode (*H. bacteriophora*) larvae**.**

من ناحية ثانية، أظهرت النتائج (شكل 2) بأن هناك فروقاً معنوية واضحة لكافة السلالات المختبرة للمعاملات المهيئة مقارنة بالمعاملات غير المهيئة حرارياً (P =0.001، CV=0.9، LSD= 0.28). إذ تم زيادة درجة التحمل للحرارة ما بين 1°س و 1.40°س (وسطياً 1.14°س) للسلالات المختبرة.

تأثير الحرارة المرتفعة في نسبة موت 90% من يرقات النيماتودا

أظهرت النتائج (شكل 3) بأن هناك فروق غير معنوية (P= 0.15، CV=1.4، LSD= 0.96) بين السلالات المختبرة من حيث تحملها لدرجات الحرارة المرتفعة القاتلة لـ 90% من يرقات النيماتودا. وتراوحت درجات الحرارة القاتلة لـ 90% من يرقات سلالات النيماتودا ما بين 38.07°س للسلالة H1 و38.36°س للسلالة H5 للمعاملات غير المهيأة حرارياً (وسطياً38.19 °س)، ولم تكن هناك أية فروق معنوية بين كافة السلالات المختبرة. كما تراوحت درجات الحرارة المرتفعة القاتلة لـ 90% من يرقات النيماتودا ما بين 38.97°س للسلالة H1 و40.26°س للسلالة H5 للمعاملات المهيأة حرارياً (وسطياً 39.57°س) التي تم تعريضها لمدة 3 ساعات لحرارة 33 °س والتي أظهرت فروقاً معنوية فيما بينها (P= 0.001، CV=1.4، LSD= 0.48). من ناحية ثانية، ظهرت فروق معنوية واضحة للسلالتين H5 و H4 مقارنة بالسلالتين H3 و H1 واللتين لم تظهرا فروقاً معنوية فيما بينها. كما أظهرت النتائج (شكل 3) بأن هناك فروق معنوية واضحة لكافة السلالات المختبرة للمعاملات المهيأة حرارياً مقارنة بالمعاملات غير المهيأة باستثناء السلالة H1. بلغت الزيادة في درجة التحمل للحرارة بفضل التهيئة ما بين 0.9°س و 1.90°س (وسطياً 1.38°س) للسلالات المختبرة.



شكل 3. درجة الحرارة القاتلة لـ 90% من يرقات النيماتودا *H. bacteriophora*.

Figure 3. Lethal Temperature to 90% nematode (*H. bacteriophora*) larvae.

من ناحية ثانية يجب الإشارة بأنه لم تظهر أية فروق معنوية في نسبة موت اليرقات المعدية عند تعرضها للتهيئة عند 33 °س مقارنة بالظروف المثالية 25 °س.

تطابقت نتائج هذه الدراسة مع دراسات سابقة أكدت بأن عملية التهيئة تسهم إلى حد ما برفع درجة تحمل يرقات الطور المعدي لدرجات الحرارة والبقاء على قيد الحياة (9) مع احتفاظها بكفاءتها على

قتل الحشرات كما هو الحال عند غير المهيأة للسلالات الهجينة أو العزلات الطبيعية نفسها (18)، وهذا يدل على أن التغيرات التي تحدث نتيجة الارتفاع التدريجي لدرجات الحرارة في موسم نمو المحصول ربما يؤدي إلى زيادة مقدرة تحمل النيماتودا الممرضة للحشرات لارتفاع درجات الحرارة مع احتفاظها بمقدرتها على قتل الحشرات. ويمكن إعتماد هذه النتائج لاختبار تحمل العزلات الطبيعية والسلالات الهجينة لدرجات الحرارة المرتفعة ومدى تحملها لذلك ضمن ظروف الحقل لاختيار الأفضل منها وبخاصة عند ثبات كفاءتها في قتل الحشرات ضمن كثافات ابتدائية معينة.

أبدت السلالتان H4 و H5 تحملاً أكثر للحرارة في حال تم تهيئتهما حرارياً مقارنة بالسلالتين H3 و H1 عند نسبة موت 90% من يرقاتهما. هذا وقد أظهرت نتائج دراسات سابقة بأن السلالة H3 هي الأكثر كفاءة في قتل الحشرات عند كثافة عدوى ابتدائية منخفضة، وأيضاً تفوقت في نسبة قتل الحشرات بعد تعرضها للبرودة مقارنة بباقي السلالات المختبرة (1). ويستخلص من ذلك إمكانية إجراء التهجين بين السلالة H3 مع السلالتين H4 أو H5، أو غيرها من السلالات التي تحمل خصائص بيولوجية جيدة مثل تحمل الحرارة المرتفعة أو المنخفضة أو الجفاف، مع الاحتفاظ بنسبة القتل الجيدة للحشرات.

بينت نتائج هذه الدراسة وجود اختلافات معنوية بين بعض السلالات المختبرة لتحمل درجات الحرارة المرتفعة للمعاملات المهيأة حرارياً وذلك بمستويي موت 50% و90% باستثناء السلالة H1 عند مستوى 90%. إن نتائج هذه الدراسة تتطابق مع دراسات سابقة بينت وجود اختلافات معنوية بين سلالات وأنواع *Heterorhabditis* spp. لتحمل درجات الحرارة، سواء تم تهيئتها لذلك أو لم تكن مهيئة لتحمل الحرارة، وهذا ممكن حدوثة عند النوع *H. bacteriophora*، للسلالات الطبيعية أو الهجينة (9).

تعد عملية تهيئة اليرقات من العوامل المساعدة في زيادة تحمل درجات الحرارة إذ يتم تعريض يرقات النيماتودا لدرجات الحرارة المرتفعة تدريجياً لمعرفة مدى مقاومتها لدرجات الحرارة المرتفعة. فقد تمكن Ehlers وآخرون (9) من رفع درجة تحمل يرقات النيماتودا للحرارة من 38.5°س إلى 39.2°س (متوسط السلالات المختبرة) خلال أربعة مراحل للانتخاب الطبيعي مع احتفاظها بمقدرتها على إصابة الحشرات. وبذات الطريقة تمكن Mukuka وآخرون انتخاب سلالات من النيماتودا تتحمل درجات من الحرارة المرتفعة بلغت 42°س بعد عدة دفعات للأجيال المتعاقبة مقارنة بالدفعة الأولى التي لم تتحمل أكثر من 36° س (19). وبوقت لاحق تم اختبار كفاءتها في قتل حشرات التجربة بعد تعرضها للإجهادات البيئية من الحرارة المرتفعة، وتم مقارنتها بسلالة تنتج تجارياً وكانت الأخيرة أقل كفاءةً من السلالات الهجينة التي تم انتخابها (18).

يستخلص من هذه الدراسة بأن دراسة الخصائص البيولوجية لعزلات وسلالات النيماتودا والمتعلقة بتحمل الحرارة والجفاف، مع الاحتفاظ بمقدرتها على قتل الحشرات ضرورية من أجل عمليات التهجين للحصول على سلالات ذات خصائص جيدة قبل إكثارها مخبرياً وتطبيقها في الحقل.

شكر وتقدير

يتقدم الباحث بجزيل الشكر والتقدير إلى Ralf-Udo Ehlers من قسم التقانة الحيوية وأمراض النبات في معهد وقاية النبات بجامعة كيل، ألمانيا، لتقديم الخبرة العلمية والأجهزه المخبرية ومستلزمات البحث، كما نشكر الدكتور خالد العسس من كلية الزراعة بجامعة دمشق للمساهمة في ارسال العينات لمعهد وقاية النبات بجامعة كيل، ألمانيا.

Abstract

M.H. Al-Zainab. 2013. Effect of high temperatures on the activity of entomopathogenic nematodes *Heterorhabdites bacteriophora in Vitro*. Arab Journal of Plant Protection, 31(3): 269-274.

An experiment was carried out in order to investigate the *in-vitro* effect of high temperatures on the biology of four strains (H1, H3, H4 and H5) of the entomopathogenic nematode *Heterorhabdites bacteriophora* isolated from Syrian soil. The lethal temperatures to 50% and 90% of the third stage larvae (infective juveniles) were determined at the Institute of Plant Protection, University of Kiel, Germany. Results showed that there was some variability among the different strains in terms of tolerance to high temperatures. Lethal temperature to 50% of the nematode larvae ranged between 36.83 °C for strain H1 and 37.20 °C for strain H4 not preconditioned for heat treatment, and ranged between 37.90 °C for strain H1 and 38.47 °C for H4 strain when preconditioned for heat treatment. On the other hand, results also showed that temperatures lethal to 90% of the nematode larvae ranged between 38.07 °C for strain H1 and 38.36 °C for strain H5 when exposed to non-preconditioned heat treatment, and 38.97 °C for strain H1 and 40.26 °C for strain H5 when preconditioned for heat treatments. The preconditioning for heat significantly increased the degree of heat stress tolerance compared with non–preconditioning. There were increases in tolerance with increased temperature by 1.14 °C and 1.38 °C for 50% and 90% mortality of the strains tested, respectively.

Keywords: Entomopathogenic nematodes, heat stress, *Heterorhabditis bacteriophora.*

***Corresponding author:** M.H. Al-Zainab, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Aleppo University, Aleppo, Syria, Email: Dr_alzainab@yahoo.com*

المراجع

1. **الزينب، محمد هشام**. 2011. تأثير مستويات مختلفة من النيماتودا الممرضة للحشرات *Heterorhabdites bacteriophora* في نسبة قتل يرقات خنفساء الطحين الصفراء *Tenebrio molitor*. مجلة بحوث جامعة حلب، سلسلة العلوم الزراعية، 88: (قيد النشر).
2. **Bowen, D., T.A. Rocheleau, M. Blackburn, O. Andreev, E. Golubeva, R. Bhartia and R.H. French-Constant.** 1988. Insecticidal toxins from bacterium *Photorhabdus luminescens.* Science, 280: 2129-2132.
3. **Ciche T.A.** 2007. The biology and genome of *Heterorhabditis bacteriophora*. In: The *C. elegans* Research Community (ed.). Wormbook htpp://www.wormbook.org.
4. **Ciche, T.A., C. Darby, R.U. Ehlers, S. Forst and H.B. Goodrich.** 2006. Dangerous liaisons: The symbiosis of entomopathogenic nematodes and bacteria. Biological Control, 38: 22-46.
5. **Dunphy, G.B. and J.M. Webster**. 1988. Lipopolysac-charides of *Xenorhabdus nematophilus* (Enterobacteriaceae) and their haemocyte toxicity in non-immune *Galleria mellonella* (Insecta: Lepidoptera) larvae. Journal of General Microbiology, 134: 1017-1028.
6. **Ehlers**, **R.U., U. Wyss and E. Stackebrandt**. 1988. 16 S RNA cataloguing and the phylogenetic position of the genus *Xenorhabdus*. Systematic Applied Microbiology, 10: 121-125.
7. **Ehlers**, **R.U**. 2001. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. Applied Microbiology Biotechnology, 5: 623-633.
8. **Ehlers**, **R.U**. 2003. Biocontrol nematodes. Pages 177-220. In: Environmental Impacts of Microbial Insecticides. H.M.T. Hokkanenn and A.E. Hajek (eds.). Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
9. **Ehlers**, **R.U., J. Oestergarrd, S. Hollmer, M. Wingen and O. Strauch**. 2005. Genetic selection for heat tolerance and low temperature activity of the entomopathogenic nematode-bacterium complex *Heterorhabditis bacteriophora-Photorhabdus luminescens.* Biological Control, 50: 699-716.
10. **Endo, B.Y. and W.R. Nickle**. **1994.** Ultrastructure of the buccal cavity region and oesophagus of the insect parasitic nematode, *Heterorhabdites bacterophora*. Nematologica, 40: 379-398.
11. **Fuchs, R**. 1915. Die Naturgeschichte der Nematoden und einiger anderer Parasiten. The Zoological Journal, Abt Syst Ökol Gögr Tiere. 38.

تاريخ الاستلام: 2011/10/17؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2012/7/16

References

12. **Glazer, I**. 2002. Survival biology. Pages 169-187. In: Entomopathogenic Nematology. R. Gaugler (ed.). CAB International, Walling- ford, UK.
13. **Grewal, P.S., R.U. Ehlers and D.I. Shaprio**. 2005. Nematodes as Biological Agents. CAB International, Wallin-gford, UK, 356 pp.
14. **Grewal, P.S., S**. **Selvan and R. Gaugler.** 1994. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: Niche breath for infection, establishment and reproduction. Journal of Thermal Biology, 19: 245-253.
15. **Han, R. and R.U. Ehlers**. 2000. Pathogenicity, development and reproduction of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* under axenic *in vivo* conditions. Journal of Invertebrata Pathology, 75: 55-58.
16. **Johnigk, S.A.** 1999. Frequently used standard methods in entomopathogenic nematode-bacterium research. Department of Biotechnology and Biological control, Institute for Phytopathology, Christian-Albrechts-University Kiel, Germany. 15 pp.
17. **Kaya, H.K. and S.P. Stock.** 1997. Techniques in insect nematology. Pages 282-324. In: Manual of Techniques in Insect Pathology. L.A. Lacey (ed.). Academic Press, San Diego.
18. **Mukuka, J., O**. **Strauch**, **M.H. Al Zainab and R.U**. **Ehlers**. 2010. Effect of temperature and desiccation stress on infectivity of stress tolerant hybrid strains of *Heterorhabditis bacteriophora*. Russian Journal of Nematology, 18: 111-116.
19. **Mukuka, J., O Strauch, C. Hoppe and R.U. Ehlers**. 2010. Major improvement of heat and desiccation tolerance in *Heterorhabditis bacteriophora* through cross-breeding of tolerant strains and successive genetic selection. Biological Control, 55: 511-521.
20. **Simons, N. and J.S. Rosa**. 1996. Pathogenicity and host specificity of entomopathogenic nematodes. Biocontrol Science Technology, 6: 403-412.
21. **Stock, S.P. and D.J. Hunt**. 2005. Morphology and systematics of nematodes used in biocontrol. Pages 3-43. In: Nematodes as Biological Agents. P.S. Grewal, R.U. Ehlers and D.I. Shaprio (eds.). CAB International, Wallingford, UK.
22. **Strauch, O., J. Oestergarrd, S. Hollmer and R.U. Ehlers**. 2004. Genetic improvement of the desiccation tolerance of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* through selective breeding. Biological Control, 31: 218-226.

Received: October 17, 2011; Accepted: July 16, 2012