

Wzajemne powiązania pomiędzy nicieniami owadobójczymi, owadami i bakteriami oraz ich wykorzystanie w praktyce

Entomopathogenic nematodes, insects, bacteria and their relationship used in practice

Jolanta Kowalska

Zakład Metod Biologicznych i Kwarantanny, Instytut Ochrony Roślin, ul. Miczurina 20, 60-318 Poznań
E-mail: J.Kowalska@ior.poznan.pl

ABSTRACT. In the paper are presented entomopathogenic nematodes (EPN) as a vector of bacteria killing insects. Many abiotic and biotic factors influence the survival and the virulence of mentioned organisms. These biological agents of control are used in practice over twenty years. Knowledge about the relationships between EPN-insect-bacteria allow to increase efficacy of treatment used in order to limiting populations of pests. The paper presents a short review of literature data of titled subjects.

Key words. *Heterorhabditis* spp., insects, *Photorhabdus* spp., *Steinernema* spp., *Xenorhabdus* spp.

Powiązania pomiędzy nicieniami a owadami są w przyrodzie powszechne, a ich zakres obejmuje różne formy przejściowe od forezy do pasożytnictwa. Zidentyfikowano 23 rodziny nicieni będące pasożytami owadów [1]. Siedem z nich może być potencjalnie wykorzystanych w biologicznym zwalczaniu szkodników. Są to Mermithidae i Tetradonematidae (rząd: Mermithida), Allantonematidae, Phaenopsitylenchidae i Sphaeruliidae (rząd: Tylenchida), Heterorhabditidae i Steinernematidae (rząd: Rhabditida). Z powodu problemów z masową produkcją oraz ograniczoną wirulencją większość gatunków z tych grup nie znalazła jednak zastosowania w powszechnej praktyce; jedynie w pieczarkarniach, szklarniach oraz w uprawach otwartych (zwalczanie szkodników glebowych) nicienie owadobójcze znalazły swoje zastosowanie w biologicznym zwalczaniu. W tym celu stosowane są głównie gatunki nicieni reprezentujące rząd Rhabditida (rodziny: Heterorhabditidae, Steinernematidae, Allantonematidae). Gatunek *Phasmarhabditis hermaphrodita* stosowany jest do zwalczania ślimaków, a *Thripinema nicklewoodi* testowany jest do zwalczania wciornastka zachodniego, *Deladenus*

siricidicola do zwalczania szkodliwych błonkówek z rzędu trzpiennik. Gatunki należące do rodziny Mermithida wykorzystywane są do zwalczania karaczanów i komarów.

Rodziny Steinernematidae i Heterorhabditidae obejmują gatunki nicieni saprofagicznych przenoszących w swoim jelicie specyficzne bakterie symbiotyczne, które po przedostaniu się do jamy ciała owada i przełamaniu obrony immunologicznej powodują jego śmierć. W takim systemie nicienie są więc tylko wektorami owadobójczych bakterii. Pośrednio doprowadzają jednak do śmierci żywiciela i, żerując na rozmnożonych bakteriach, rozwijają następne pokolenia.

Historia zastosowania nicieni owadobójczych w zwalczaniu owadów datuje się od pionierskich badań R.W. Glasera i jego współpracowników [2]. Późniejsze intensywne stosowanie środków chemicznych spowodowało badania nad wykorzystaniem nicieni owadobójczych w ochronie roślin. W drugiej połowie XX wieku ponownie wzrosło zainteresowanie tymi organizmami. Bioinsektycydy zawierające nicienie owadobójcze stały się ważną grupą biologicznych środków zwalczania szkodników.

W Europie dostępnych jest ok. 60 preparatów zawierających larwy inwazyjne nicieni owadobójczych [3]. Przeznaczone są one głównie do zwalczania ziemiórek (Sciaridae) w pieczarkarniach i szklarniach, opuchlaka truskawkowca (*Otiorhynchus sulcatus* L.) oraz pędraków chrabąszczowatych.

Nicienie owadobójcze mają wiele cech korzystnych, które czynią z nich doskonałe czynniki biologicznego zwalczania. Są przy tym bezpieczne dla środowiska, gdyż wprowadzanie nie powoduje istotnych, ujemnych następstw dla organizmów stałocieplnych lub zasiedlających glebę [4, 5].

Nicienie mogą zarażać wiele grup i gatunków owadów, a ich skuteczność jest ograniczona ich preferencjami ekologicznymi oraz ich żywicieli — owadów [6]. W warunkach laboratoryjnych stwierdzono, że ponad 250 gatunków owadów z 10 rzędów jest wrażliwych na nicienie z rodzaju *Steinernema* i *Heterorhabditis*. W warunkach terenowych wysoką skuteczność nicieni uzyskano jednak tylko w odniesieniu do nielicznych gatunków szkodników, m.in. w zwalczaniu ziemiórek [7, 8], przy ograniczaniu chrząszczy (np. stonki ziemniaczanej) [9], oprzędzików [10], chowacza czterozębego [11], poskrzypki cebulowej [12], opuchlaków [13, 14]. W grupie motyli obserwowano wysokie zarażenie gąsienic bielinka kapustnika, piętnówki kapustnicy [15] i piędzika przedzimka [16]. Również wysoką wrażliwość na nicienie wykazały larwy muchówek, np. połyśnicy marchwianki [17, 18] i śmietek [19], a także owady żerujące w magazynach i przechowalniach [9] oraz w szklarniach, np. wciornastek zachodni [20]. Stwierdzono, że poszczególne gatunki owadobójczych nicieni prezentują specyficzne preferencje przy wyborze przyszłych żywicieli. Na przykład *Steinernema kushidai* przejawia tendencję do zarażania głównie larw Scarabaeidae [21], podczas gdy bardzo słabo zaraża inne grupy szkodników glebowych, a jeśli to nastąpi, to nie jest w stanie rozpocząć w ich ciele reprodukcji. *S. scapterisci* preferuje natomiast owady z rzędu Orthoptera [22] wykazując bardzo niską infekcyjność w stosunku do wrażliwych na większość nicieni larw *Galleria mellonella* L.

Larwy inwazyjne (J3) Steinernematidae i Heterorhabditidae przenoszą w swoim jelicie bakterie symbiotyczne, odpowiednio z rodzaju *Xenorhabdus* lub *Photorhabdus* [23, 24]. Wszystkie dotychczasowe izolaty z nicieni pochodzących ze stanowisk naturalnych potwierdziły obecność tych bakterii. Czasami stwierdzano występowanie innych bakterii, ale

okazywały się one jedynie zanieczyszczeniami [25]. Jak dotąd, wszystkie bakterie izolowane z *Heterorhabditis* spp. zostały oznaczone jako *P. temperata* lub *P. asymbiotica* [26]. Bakterie z rodzaju *Xenorhabdus* związane są natomiast z nicieniami z rodzaju *Steinernema*. W tej grupie opisano do tej pory *X. boviensis*, *X. poinarii*, *X. beddingii*, *X. nematophila* i *X. japonica* [27]. Z larw inwazyjnych *Heterorhabditis* sp. czasami izolowano również bakterie *Ochrobactrum* spp. [28] i *Providencia rettgeri* [29]. Gatunki te stanowiły jednak tylko zanieczyszczenie występujące pomiędzy oskórkiem larwy J3, a pozostającą na ciele nicienia ostatnią wylinką.

Jedynym stadium rozwojowym nicieni z rodziny Steinernematidae i Heterorhabditidae, które może żyć poza owadem, jest ich trzecie stadium larwalne, zwane larwą inwazyjną. Larwy te przystosowane są do zmieniających się warunków środowiska zewnętrznego. Posiadają specyficzny, wielowarstwowy oskórek, zamknięty otwór gębowy oraz zasklepione jelito [30, 31]. Ich ciało wypełniają granule tłuszczowe, będące rezerwuarem substancji zapasowych zapewniającym im przedłużoną żywotność bez konieczności pobierania pokarmu z zewnątrz [32]. Po zlokalizowaniu owada w glebie larwy inwazyjne wnikają do jego ciała poprzez naturalne otwory (Steinernematidae), lub w niektórych przypadkach przez oskórek (Heterorhabditidae) [33]. Po uwolnieniu bakterii symbiotycznych i pokonaniu reakcji obronnej, w jamie ciała owada następuje szybki postęp bakteriozy, prowadzący w ciągu 10–48 godzin do śmierci zarażonego owada [34, 35]. W tak zmienionym organizmie owada nicienie rozpoczynają swój rozwój saprobiotyczny, odżywiając się bakteriami rozmnażającymi się na tkankach martwego owada. Pełen cykl rozwojowy nicieni trwa od 7–10 (Steinernematidae) do 15 dni (Heterorhabditidae) [36]. Po odbyciu jednego lub więcej cykli rozwojowych i wyczerpaniu dostępnych substancji pokarmowych ciało martwego owada opuszczają larwy inwazyjne nowej generacji. W przypadku zaistnienia niekorzystnych warunków, np. przesuszenia gleby lub niskiej temperatury, migracja larw zostaje wstrzymana nawet do 50 dni [37]. U większości gatunków nicieni larwy inwazyjne są zdolne rozpocząć aktywne poszukiwanie nowego żywiciela bezpośrednio po wyjściu z martwego owada.

Zdolność szybkiego reagowania nicieni na obecność owada w glebie ma bezpośredni wpływ na skuteczność infekcji. Zidentyfikowano wiele czynników wpływających na zdolność odnalezienia

owada przez nicienie owadobójcze. Obserwowano silne reakcje nicieni na wzrastający gradient CO₂ [38, 39], temperatury [40] oraz na obecność treści jelitowej owada lub jego odchodów [41]. Również obecność w środowisku korzeni roślin oraz bakterii symbiotycznych nicieni powodowała znaczne zmiany w zachowaniu się badanych larw inwazyjnych [42, 43].

Wiele owadów zasiedlających środowisko glebowe prezentuje zachowania utrudniające ich odnalezienie przez larwy inwazyjne. Na przykład wysoki współczynnik defekacji larw żukowatych zmniejsza możliwość ich zarażenia poprzez odbyty, termity natomiast budują ściany oddzielające je od zarażonych choć żywych jeszcze współmieszkańców [44]. Owady posiadają również naturalne struktury (np. błona perytroficzna w jelicie środkowym owadów, sita chitynowe w przetchlinkach lub filtry w otworze gębowym), które utrudniają nicieniom wniknięcie do jamy ciała.

W wyniku rozpoznania obcego ciała (tj. larwy inwazyjnej nicienia i bakterii) w ciele owada następuje zwykle reakcja odpornościowa. Po wniknięciu do wnętrza żywiciela i uwolnieniu bakterii symbiotycznych następuje odpowiedź układu odpornościowego owada. Polega ona na interakcji czynników humoralnych i komórkowych [45]. Aby zainaktywować ciało obce lub patogena system obronny owada ma do dyspozycji wszystkie klasy hemocytów, które tworzą otoczkę wokół ciał obcych [34]. Przełamywanie obrony owada następuje w wyniku wspólnego działania nicieni i bakterii. Wspólnie produkują one enzymy dezaktywujące białka owadzie o właściwościach bakteriobójczych i bakterioostatycznych, które uwalniane są w trakcie reakcji humoralnej. W ten sposób bakterie bez przeszkód mogą zacząć produkować toksyny zabijające owada [46] oraz substancje podobne do antybiotyków uniemożliwiające zasiedlenie martwych tkanek owada przez konkurencyjne patogeny [47].

Niektórzy badacze [48] zauważyli silną reakcję immunologiczną pędraków *Popillia japonica* Newman prowadzącą od inkapsulacji do melanizacji nicieni. Nicienie owadobójcze zdolne są jednak do uniknięcia rozpoznania ich przez system obronny owada jako czynników nieswoistych, ale mechanizm tego zjawiska nie został jeszcze dokładnie poznany. Prawdopodobnie jest on związany ze specyficznymi cechami białek oskórka nicieni, które tłumią reakcję humoralną pędraków *P. japonica* i niszczą hemocyty [49]. Dodatkowo stwierdzono, że

larwy *S. glaseri*, które początkowo zostały inkapsulowane w pędrakach *P. japonica*, zdolne są uwolnić się i rozwijać dalej [50]. Stwierdzono również, że larwy inwazyjne *Heterorhabditis* spp. unikają inkapsulacji w ciele larwach koziółkowatych poprzez zrzucenie oskórka larwy J3 w trakcie penetracji [51].

Optymalny rozwój większości gatunków nicieni owadobójczych przebiega w temperaturze 20–25°C [52], choć aktywność larw inwazyjnych jest zróżnicowana w szerokim zakresie temperatur 12–32°C [53]. Niska temperatura gleby silnie ogranicza możliwość zastosowania nicieni owadobójczych, ich zdolność przemieszczania się i patogeniczność również ujemnie wpływają na aktywność ich bakterii symbiotycznych [54].

Populacje nicieni owadobójczych są narażone na działanie wielu organizmów współwystępujących z nimi w glebie. Należą do nich pasożytnicze i drapieżne grzyby i nicienie, roztocze, owady i bakterie. Dokładny przegląd tych zagadnień przedstawiono w szerszym opracowaniu pod redakcją Gauglera [25]. Stwierdzono, że naturalni wrogowie nicieni zdolni są obniżyć liczebność larw inwazyjnych, a wykazały to szczegółowe doświadczenia laboratoryjne, gdyż w glebie sterylizowanej obserwowano dłuższą żywotność larw w porównaniu z glebą niesterylizowaną [55, 56]. Do najważniejszych czynników patogenicznych dla owadobójczych nicieni należą jednak grzyby pasożytnicze, które są szeroko rozpowszechnione w glebie. Można je sklasyfikować w dwóch grupach: (1) grzyby zasiedlające nicienie przez strzępki (hyphae) [57] oraz (2) grzyby infekujące przez spory przylegające do oskórka nicieni [58].

Aktualną systematykę grzybów pasożytujących na nicieniach przedstawił Barron [59], a ich przedstawiciele należą do wszystkich klas. Najwięcej znanych gatunków należy do klasy grzybów niedoskonałych — Deuteromycota, spośród których można wymienić *Cylindrocarpon destructans*, *Hirsutella rhossiliensis*, *Paecilomyces lilacinus*, *P. nostocoides*, *Pochonia chlamydosporia*, *Verticillium leptobactrum* i *V. suchlasporium*. Niektóre grzyby patogeniczne wykazują wąską specyficzność, inne posiadają szeroki krąg żywicieli.

Z *S. glaseri* wyizolowano grzyby drapieżne z gatunków *Arthrobotrys oligospora*, *A. bacyloides*, *Monacrosporium ellipso sporum* i *M. cionopagum* [60]. Ich szkodliwość przejawia się m.in. w znaczącym zmniejszeniu zdolności penetracji larw inwa-

zyjnych do gąsienic owadów [61]. Roztocze i skoczogonki, żywiąc się nicieniami również mogą silnie zredukować ich populację. Stwierdzono, że roztocze z rodzaju *Macrocheles* żerują na *S. carpocapsae* [1], a Epsky i wsp. [62] wykazali, że w warunkach laboratoryjnych roztocze z rodziny Mesostigmatae zdolne są do całkowitego wyniszczenia *S. carpocapsae*.

Stosunkowo rzadko izolowano z nicieni owadobójczych mikrosporydia [63]. Veremtchuk i Issi [64] dowiedli, że *Nosema menuili* i *Pleistophora schubergeri* mogą być patogeniczne dla nicieni.

Choć powszechnie nie są znane bakterie powodujące choroby u owadobójczych nicieni, to jednak ostatnie badania potwierdziły ich występowanie. Wyizolowano przetrwalniki bakterii *Paenibacillus* sp., które przytwierdzone były do oskórka larwy inwazyjnej *Heterorhabditis* sp. opuszczającej martwą gąsienicę *G. mellonella* [65].

Nicienie owadobójcze mogą mieć pośredni wpływ na inne organizmy glebowe. Liczne badania laboratoryjne i szklarniowe wskazują, że zalewowe stosowanie nicieni owadobójczych może ograniczać populacje nicieni fitopatogennych [66], np. *S. carpocapsae* i *S. riobrave* proponowane są jako nematocyd przeciwko mątwikom, do stosowania na trawnikach. Obniżenie liczebności populacji mątwików (nicieni fitopatogennych) było tłumaczone ich współzawodnictwem z nicieniami owadobójczymi. Ostatnie badania tej kwestii wskazują na allelopacyjne interakcje zachodzące między nicieniami fitopatogennymi i owadobójczymi [67].

Nicienie owadobójcze mogą powodować krótkotrwałe lub długotrwałe epizootcje w populacjach żywicieli [6]. Epizootcje takie rozwijają się zwykle wtedy, kiedy populacja żywicieli osiągnie bardzo wysokie zagęszczenie. W wyniku masowych infekcji następuje załamanie liczebności owadów.

W warunkach naturalnych nicienie napotykać na opór środowiska limitujący ich aktywność [68, 69]. Obecność zwalczanego szkodnika oraz innych owadów zasiedlających glebę, ich zachowanie i kondycja również wpływa na aktywność nicieni, a przez to na efektywność zabiegu zwalczającego szkodnika.

Literatura

- [1] Poinar G. Jr. 1979. Nematodes for Biological Control of Insects. CRC Press, Boca Raton, Florida: 277.
- [2] Glaser R. 1932. Studies on *Neoplectana glaseri*, a nematode parasite of the Japanese beetle (*Popilia japonica*). Circular of New Jersey Department of Agriculture 211: 34.
- [3] Ehlers R.-U. 1996. Current and future use of nematodes in biocontrol: practice and commercial aspects with regard to regulatory policy issues. *Biocontrol Science and Technology* 6: 303–316.
- [4] Akhurst R. 1990. Safety on non-target invertebrates of nematodes of economically important pests. In: *Safety of Microbial Insecticides*. (Eds. M. Laird, L. Lacey, E. Davidson). CRC Press, Boca Raton: 233–240.
- [5] Boemare N., Laumond C., Mauleon H. 1996. The entomopathogenic nematode — bacterium complex: biology, life cycle and vertebrate safety. *Biocontrol Science and Technology* 6: 333–345.
- [6] Peters A. 1996. The natural host *Steinernema* and *Heterorhabditis* spp. and their impact on insect populations. *Biocontrol Science and Technology* 6: 389–402.
- [7] Tomalak M. 1994. Selective breeding of *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Nematoda: Steinernematidae) for improved efficacy in control of a mushroom fly, *Lycoriella solani* Winnertz (Diptera: Sciaridae). *Biocontrol Science and Technology* 4: 187–198.
- [8] Richardson P., Grewal P. 1991. Comparative assessment of biological (Nematoda: *Steinernema feltiae*) and chemical methods of control for the mushroom fly *Lycoriella auripila* (Diptera: Sciaridae). *Biocontrol Science and Technology* 1: 217–228.
- [9] Sandner H. 1990. Pasożyty w służbie człowieka. PWN Warszawa: 67–127.
- [10] Jaworska M., Ropek D. 1994. Influence of host — plant on the susceptibility of *Sitona lineatus* L. to *Steinernema carpocapsae* (Weiser). *Journal of Invertebrate Pathology* 64: 96–99.
- [11] Jaworska M. 1992. Influence of the *Steinernema feltiae* (Filipjev) and *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) on the larvae of cabbage stem weevil — *Ceutorhynchus quadridens* (Penz). Materiały Konferencji Naukowej PAN Skierniewice: 63–67.
- [12] Jaworska M., Dudek B. 1992. Susceptibility of *Liloceris merdigera* to entomopathogenic nematodes. Materiały Konferencji Naukowej PAN Skierniewice: 68–73.
- [13] Kakouli-Duarte T., Hague N.G.M. 1999. Infection, development and reproduction of the entomopathogenic nematode *Steinernema arenarium* in the black vine weevil *Otiorynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Nematology* 1: 149–156.
- [14] Richardson P., Long S., Hay D., Welch D. 1998. Evaluation of cold-active entomopathogenic nematodes in the biological control of vine weevil in strawberries. *Nematologica* 44: 567–568.
- [15] Stanuszek S. 1974. *Neoplectana feltiae pieredarum* n. ecotype (Nematoda: Rhabditoidea) — a parasite of *Pieris brassicae* L. and *Mamestra brassicae* L. in Poland. Morphology and biology. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 154: 361–391.
- [16] Tomalak M. 2003. Biocontrol potential of entomo-

- pathogenic nematodes against winter moths (*Operophtera brumata* and *O. fagata*) (Lepidoptera: Geometridae) infesting urban trees. *Biocontrol Science and Technology* 13: 517–527.
- [17] Jaworska M. 1995. Entomopathogenic nematodes for control of carrot fly (*Psila rosacae* F.). *Entomoneematologia* II: 1–9.
- [18] Coosemans J. 1998. Activity of *Steinernema carpocapsae* against larvae and pupae of the carrot fly, *Psila rosae*. *Nematologica* 44: 475.
- [19] Jaworska M. 1993. Wpływ owadobójczych nicieni z rodziny *Heterorhabditidae* i *Steinernematidae* na śmietkę kapuścianą *Delia brassicae* (Hoffmannsegg) (Diptera, Anthomyiidae) i jej wrogów naturalnych. *Polskie Pismo Entomologiczne* 62: 243–254.
- [20] Tomalak M. 1994. Genetic improvement of *Steinernema feltiae* for integrated control of the Western Flower Thrips, *Frankliniella occidentalis*. IOBC/WPRS Bull. 17: 17–20.
- [21] Mamiya Y. 1989. Comparison of infectivity of *Steinernema kushidai* (Nematoda: Steinernematidae) and other steinernematid and heterorhabditid nematodes for three different insects. *Applied Entomology and Zoology* 24: 302–308.
- [22] Grewal P., Gaugler R., Kaya H., Wusaty M. 1993. Infectivity of the entomopathogenic nematode *Steinernema scaapterisci* (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 62: 22–28.
- [23] Poinar G. Jr. 1966. The presence of *Achromobacter nematophilus* Poinar and Thomas in the infective stage of a *Neoplectana* sp. (Nematoda: Steinernematidae). *Nematologica* 12: 105–108.
- [24] Davies K., Gauge D. 1998. Identification of the entomopathogenic nematode bacterial symbiont *Xenorhabdus* species. *Nematologica* 44: 478.
- [25] Gaugler R. (Ed.). 2002. Entomopathogenic nematology. CABI International.
- [26] Akhurst R., Boemare N. 2001. The *Xenorhabdus* genus. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Eds. N. Krieg, J. Staley, D. Brenner). 2nd ed. Williams and Wilkins Baltimore. 2: 128–136.
- [27] Akhurst R., Boemare N. 1988. A numerical taxonomic study of the genus *Xenorhabdus* (Enterobacteriaceae) and proposed elevation of the subspecies of *X. nematophilus* to species. *Journal of General and Applied Microbiology* 134: 1835–1845.
- [28] Babic I., Fisher-Le Saux E., Giraud E., Boemare N. 2000. Occurrence of natural dixenic associations between the symbiont *Photorhabdus luminescens* and bacteria related to *Ochrobactrum* spp. In tropical entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis* spp. *Microbiology* 146: 709–718.
- [29] Jackson T., Wang H., Nugent M., Griffin C., Burnell A., Dowds B. 1995. Isolation of insect pathogenic bacteria, *Providencia rettgeri*, from *Heterorhabditis* spp. *Journal of Applied Microbiology* 78: 237–244.
- [30] Campbell R., Gaugler R. 1991. Role of the sheath in desiccation tolerance of two entomopathogenic nematodes. *Nematologica* 37: 324–332.
- [31] Endo B., Nickle W. 1994. Ultrastructure of the buccal cavity region and oesophagus of the insect parasitic nematode, *Heterorhabditis bacteriophora*. *Nematologica* 40: 379–398.
- [32] Poinar G. 1990. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. (Eds. R. Gaugler, H. Kaya) CRC Press, Boca Raton: 23–61.
- [33] Wang Y., Gaugler R. 1988. Host and penetration site location by entomopathogenic nematodes against Japanese beetle larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 72: 313–318.
- [34] Jarosz J. 1996. Strategie obrony przeciwzakaźnej i sposoby ucieczki entomopatogenów spod kontroli immunologicznej owadów. *Wiadomości Parazytologiczne* 42: 3–27.
- [35] Peters A. 1998. Encapsulation of entomopathogenic nematodes. In: *COST 819, Pathogenicity of entomopathogenic nematodes versus insect defence mechanism. Impact on selection virulent strain*. (Eds. N. Simoes, N. Boemare, R-U. Ehlers). Report EU 17776 EN: 173–180.
- [36] Kaya H., Stock P. 1997. Techniques in insect nematology. In: *Manual of Techniques in Insect Pathology*. (Ed. L. Lacey). Academic Press, San Diego, London, Boston: 287–296.
- [37] Brown J., Gaugler R. 1997. Temperature and humidity influence emergence and survival of entomopathogenic nematodes. *Nematologica* 43: 363–375.
- [38] Gaugler R. 1988. Ecological consideration in the biological control of soil-inhibiting insect pests with entomopathogenic nematodes. *Agriculture Ecosystem & Environment* 24: 351–360.
- [39] Lewis E., Grewal P., Gaugler R. 1995. Hierarchical order of host cues in parasite foraging strategies. *Parasitology* 110: 207–213.
- [40] Burman M., Pye A. 1980. *Neoplectana carpocapsae*: movement of nematode population on a thermal gradient. *Experimental Parasitology* 49: 258–265.
- [41] Grewal P., Gaugler R., Selvan S. 1993. Host recognition by entomopathogenic nematodes: behavioral response to contact with host faeces. *Journal of Chemical Ecology* 19: 1219–1231.
- [42] Pye A., Burman M. 1981. *Neoplectana carpocapsae*: Nematode accumulation on chemical and bacterial gradients. *Experimental Parasitology* 51: 13–20.
- [43] Hui E., Webster J. 2000. Influence of insect larvae and seedling roots on the host-finding behavior of *Steinernema feltiae*. Proceedings of 24th International Nematology Symposium, Dundee — Scotland: 52.
- [44] Gaugler R., Wang Y., Campbell J. 1994. Aggressive and evasive behaviors in *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae: defenses against entomopathogenic nematode attack. *Journal of Invertebrate Pathology* 64: 193–199.

- [45] Dunphy G., Thurston G. 1990. Insect immunity. In: *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. (Eds. R. Gaugler, H. Kaya). CRC Press, Boca Raton: 195–214.
- [46] Bowen D., Rocheleau T., Blackburn M., Andreev O., Golubeva E., Bhartia R. 1998. Insecticidal toxins from the bacterium *Photorhabdus luminescens*. *Science* 80: 2129–2132.
- [47] Georgis R., Kelly J. 1997. Novel pesticidal substances from the entomopathogenic nematode-bacterium complex. In: *Phytochemicals for Pest Control*. (P. Hedin, E. Hollingworth, E. Masler, J. Miyamoto, D. Thompson) ACS Symposium Series No. 658. American Chemical Society Washington: 134–143.
- [48] Cui L., Gaugler R., Wang Y. 1993. Penetration of steinernematids (Nematoda: Steinernematidae) into Japanese Beetle larvae, *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 62: 73–78.
- [49] Wang Y., Gaugler R. 1998. *Steinernema glaseri* surface coat protein suppresses the immune response of *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae. *Biological Control* 14: 45–50.
- [50] Wang Y., Campbell J., Gaugler R. 1994. Infection of entomopathogenic nematodes *Steinernema glaseri* and *Heterorhabditis bacteriophora* against *Popillia japonica* larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 66: 178–184.
- [51] Peters A., Gouge D., Ehlers R.-U., Hague N.G.M. 1997. Avoidance of encapsulation by *Heterorhabditis* spp. Infecting larvae of *Tipula oleracea*. *Journal of Invertebrate Pathology* 70: 161–164.
- [52] Griffin C. 1993. Temperature responses of entomopathogenic nematodes: implications for the success of biological control programmes. In: *Nematodes and the Biological Control of Insects*. (Eds. R. Bedding, R. Akhurst, H. Kaya) CSIRO, East Melbourne: 115–126.
- [53] Boff M., Zoon F., Smits P. 2001. Orientation of *Heterorhabditis megidis* to insect hosts and plants roots in a Y — tube sand olfactometer. *Entomologia Experimentalis Applicata* 92: 1–11.
- [54] Griffin C., Downes M. 1991. Low temperature activity in *Heterorhabditis* sp. (Nematoda: Heterorhabditidae). *Nematologica* 37: 83–91.
- [55] Ishibashi N., Kondo E. 1986. *Steinernema feltiae* (DD-136) and *S. glaseri* : persistence in soil and bark compost and their influence on native nematodes. *Journal of Nematology* 18: 310–316.
- [56] Ishibashi N., Kondo E. 1987. Dynamics of entomogenous nematode *Steinernema feltiae* applied to soil with and without nematicide treatment. *Journal of Nematology* 31: 553.
- [57] Koppenhöfer A., Jaffee B., Muldoon A., Strong D., Kaya H. 1996. Effect of nematode-trapping fungi on an entomopathogenic nematode originating from the same field site in California. *Journal of Invertebrate Pathology* 68: 246–252.
- [58] Jaffee B., Tedford E., Muldoon A. 1993. Tests for density-dependent parasitism of nematodes by nematodes-trapping and endoparasitic fungi. *Biological Control* 3: 329–336.
- [59] Barron G. 1977. Nematode-Destroying Fungi. CBP Ltd.: 140.
- [60] Jaffee B., Tedford E., Muldoon A. 1992. Trap production by nematophagous fungi grown from parasitized nematodes. *Phytopathology* 82: 615–620.
- [61] Koppenhöfer A., Jaffee B., Muldoon A., Strong D., 1997. Suppression of an entomopathogenic nematode by the nematode-trapping fungi *Geniculifera paucispora* and *Monacrosporium endermatum* as affected by the fungus *Arthrobotrys oligospora*. *Mycologia* 89: 220–227.
- [62] Epsky N., Valter D., Capinera J. 1988. Potential role of nematophagous microarthropods as biotic mortality factors of entomopathogenic nematodes. *Journal of Economic Entomology* 81: 821–825.
- [63] Poinar G. Jr., Hess R. 1988. Protozoan diseases. In: *Diseases of Nematodes*. (Eds. G. Poinar, H-B. Janson) CRC Press, Boca Raton, Florida, 1: 103–131.
- [64] Veremtchuk G., Issi I. 1970. On the development of the microsporidian of insects in the entomopathogenic nematodes, *Neoplectana agriotis*. *Parazitologiya* 4: 3–7.
- [65] Marti O., Timper P. 1999. Phoretic relationship between *Bacillus* sp. and the entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis*. *Journal of Nematology* 31: 553.
- [66] Bird A., Bird J. 1986. Observation on the use of insect parasitic nematodes as a means of biological control of root-knot nematodes. *International Journal for Parasitology* 16: 511–516.
- [67] Grewal P., Lewis E., Venkatchari S. 1999. Allelopathy: a possible mechanism of suppression of plant-parasitic nematodes by entomopathogenic nematodes. *Nematology* 1: 734–743.
- [68] Bednarek A. 1990. Ekologiczne uwarunkowania aktywności biologicznej nicieni entomofilnych w środowisku glebowym agrocenoz. Rozprawy Naukowe i Monografie, SGGW-AR Warszawa: 31–70.
- [69] Kaya H. 1990. Soil ecology. In: *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. (Eds. R. Gaugler, H. Kaya) CRC Press, Boca Raton: 93–111.

Wpłynęło 19 stycznia 2006,
Zaakceptowano 7 marca 2006