

ANDRZEJ T. SKWIERCZ, ANITA ZAPAŁOWSKA

Nicienie entomopatogenne w lasach i szkółkach leśnych

Entomopathogenic nematodes in the soil of forests and nurseries

ABSTRACT

Skwierz A. T., Zapałowska A. 2018. Nicienie entomopatogenne w lasach i szkółkach leśnych. Sylwan 162 (12): 1018-1028.

There are many serious pests in forest nurseries, which can be killed by entomopathogenic nematodes (EPNs) applied to soil. The paper presents a method of biological control, which is appropriate for destroying harmful insects, and is an alternative to chemicals-based approach. Both, the rules and technical conditions concerning the application of biological preparations for insects control are discussed. Facing the problem of excessive chemicalization, especially in the forest nurseries, the authors, in accordance with EU Directives, reviewed the opportunities for biological methods of forest crops protection against seven of the most harmful species of insects. Selection of EPNs for control of a particular pest insect is based on several factors that include the nematode's host range, host finding or foraging strategy, tolerance of environmental factors and their effects on survival and efficacy (temperature, moisture, soil type, exposure to ultraviolet light, salinity). The most critical factors are moisture, temperature, pathogenicity for the targeted insect, and foraging strategy. Entomopathogenic Nematodes for Control of Insect Pests from the genera *Steinernematidae* and *Heterorhabditidae* cooperating with mutualistic bacteria were described accurately in this paper. They are capable of killing a broad range of insects. Applied to the soil, they can persist long in the environment and moreover they improve the soil quality. However, along with all the benefits, disadvantages of presented method were also discussed. Namely the abiotic conditions, technique, and limitations of their effectiveness. We presented a list of commercially produced EPNs, which are currently in use in Poland. We also reviewed the World's literature on the successful use of EPNs and discussed aspects of their commercialization. The wider use of biological preparations containing EPNs should be implemented in the near future.

KEY WORDS

EPNs, *Steinernema*, *Heterorhabditis*, biological pest control, insects

ADDRESSES

Andrzej T. Skwierz ⁽¹⁾

Anita Zapałowska ⁽²⁾ – e-mail: azapalowska@ur.edu.pl

⁽¹⁾ Katedra Entomologii, Fitopatologii i Diagnostyki Molekularnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski; ul. Prawocheńskiego 17, 10-720 Olsztyn

⁽²⁾ Katedra Bioenergetyki i Analizy Żywności, Uniwersytet Rzeszowski; ul. Zelwerowicza 4, 35-601 Rzeszów

Wstęp

Poziom świadomości społeczeństwa związany ze stopniem zanieczyszczenia środowiska, szkodliwością pestycydów oraz wzrostem cen, kosztów i nakładów ich stosowania coraz mocniej sty-

muluje produkcję biologicznych środków ochrony roślin. Parlament Europejski przyjął 15 lutego 2017 roku rezolucję w sprawie pestycydów pochodzenia biologicznego, podkreślając konieczność zwiększenia dostępności w Unii pestycydów niskiego ryzyka, w tym środków ochrony roślin pochodzenia biologicznego. Zrozumiały jest więc dynamiczny rozwój badań nad możliwością wykorzystania entomofauny i nematofauny pożytecznej dla człowieka oraz produkcji roślinnej. W Polsce już od dawna trwają aktywne badania nad opracowaniem integrowanych programów ochrony roślin [Lipa, Pruszyński 2010; Kowalska 2017]. Skuteczność opracowanych i stosowanych biopreparatów opiera się na działaniu żywych organizmów służących zwalczaniu szkodników. Do tego celu wykorzystywane są pasożytnicze lub drapieżne owady oraz nicienie zawierające patogeny pochodzenia bakteryjnego, wirusowego i grzybowego. Od dawna podejmowane są próby ich hodowli na skalę komercyjną. Należy podkreślić, że w Europie byliśmy jednym z pierwszych krajów produkujących nicienie owadobójcze w formie preparatu handlowego. Popularny wówczas biopreparat Owinema zawierający entomopatogenne nicienie (EPNs) *Steinernema feltiae* był stosowany w zwalczaniu ziemiówek w pieczarkarniach [Tomalak 1995; Kucharska i in. 2015]. Obecnie jego handlowymi odpowiednikami na polskim rynku są B-Green, Steinernema-System, Kraussei-System, Carpocapsae-System i Phasmarhabditis-System.

Ważnym aspektem jest możliwość wykorzystania EPNs do ograniczenia gwałtownego w ostatnich latach wzrostu populacji kleszczy, wszołwów i latających kleszczy przenoszących wiele groźnych dla ludzi chorób, jak borelioza czy zapalenie mózgu. W Polsce nie odnotowano dotąd publikacji o badaniach nad nicieniami entomopatogennymi dla kleszczy. Pierwsze wystąpienie sygnalizujące istnienie takich możliwości pochodzi z wykładu autorów prezentowanego opracowania na zebraniu Gdańskiego Oddziału Parazytologicznego w Instytucie Chorób Tropikalnych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego w Gdyni [Skwiercz i in. 2017]. W literaturze światowej problem został zauważony w latach 90. ubiegłego wieku w Izraelu, USA i Słowacji [Samish, Glazer 1992, 2001; Samish, Rehacek 1999; Samish i in. 2000, 2004].

Regulacje prawne

Obrót środkami ochrony roślin i ich stosowanie podlegają od wielu lat ścisłemu nadzorowi. W Polsce realizacja tego zadania jest statutowym obowiązkiem Państwowej Inspekcji Ochrony Roślin i Nasiennictwa (PIORiN). Dla celów rejestracji środki ochrony roślin są szczegółowo badane przez odpowiednie jednostki, a następnie oceniane, głównie pod kątem bezpieczeństwa dla ludzi i środowiska. Środki ochrony roślin rejestrowane są dla konkretnego zastosowania, ściśle określonego w instrukcji. Wprowadzane do obrotu nie mogą mieć szkodliwego wpływu na zdrowie ludzi, zwierząt i stan środowiska naturalnego. Zabronione jest stosowanie substancji wykazujących działanie mutagenne, rakotwórcze, toksyczne oraz powodujących zaburzenia endokrynologiczne. Głównym źródłem informacji jest etykieta, a jej treść jest ustalana w oparciu o wyniki badań. Wykaz preparatów dopuszczonych do stosowania zamieszczony jest na stronie Instytutu Ochrony Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego w Poznaniu, który zgodnie z krajowymi przepisami jest zobowiązany do jego zatwierdzenia i aktualizacji. Wprowadzenie do obrotu środków ochrony roślin możliwe jest dopiero po ich rejestracji, czyli wydaniu oficjalnego zezwolenia przez Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Rejestrację środków ochrony roślin w Polsce regulują Rozporządzenie... [2009] i Ustawa... [2013]. Pestycydy biologiczne są zakwalifikowane do środków ochrony roślin niskiego ryzyka, gdyż nie zawierają substancji niebezpiecznych ani nie wymagają stosowania szczególnych środków ostrożności. Procedura, która dopuszcza je do obrotu, jest uproszczona. Są zatwierdzane w trybie szybkim, z ograniczeniem do minimum liczby doświadczeń. Zgodnie z obowiązującymi przepisami procesowi rejestracji podlegają tylko wirusy

i mikroorganizmy (tj. bakterie i grzyby) oraz niektóre substancje pochodzenia roślinnego i zwierzęcego. Taką grupą bezpiecznych czynników biologicznych są makroorganizmy. Nie podlegają one wymogom rejestracyjnym Unii Europejskiej, gdyż nie zostały objęte unijną definicją środka ochrony roślin. Biopreparaty na bazie nicieni zaliczane są do bezpiecznych środków zwalczania szkodników [Poinar 1986]. W większości państw Unii Europejskiej ta grupa jest regulowana przepisami wewnętrznymi i podlega niezależnemu oraz uproszczonemu procesowi rejestracji. Makroorganizmy, a więc i preparaty zawierające drapieżne nicienie ograniczające liczebność szkodników w agrocenozach, od 2004 roku nie podlegają w Polsce rejestracji [Tomalak 2007].

EPNs jako czynnik biologiczny w zwalczaniu szkodników leśnych

Nicienie Steinernematidae i Heterorhabditae są szeroko rozpowszechnione jako środki kontroli biologicznej do zwalczania szkodników owadów [Bedding 2006; Kaya i in. 2006]. Prawie 24 gatunki Heterorhabditae i 66 gatunków Steinernematidae jest znanych na całym świecie. Podczas gdy próby stosowania ich w rolnictwie były już wcześniej podejmowane, ich potencjał jako środka kontroli biologicznej w zwalczaniu szkodników leśnych jest realizowany od niedawna [Shapiro-Ilan i in. 2006; Kulkarni 2014]. Nicienie są uważane za jeden z najliczniejszych typów królestwa zwierząt [Hugot i in. 2001; Andrassy 2005]. W Europie stwierdzono obecność 817 gatunków [Andrassy 2007], w tym 260 w Polsce [Winiszewska 2008]. Wśród nich wyróżnia się gatunki bakteriożerne, grzybożerne i drapieżne. Nicienie zasiedlające glebę odgrywają istotną rolę w procesie jej mineralizacji. Część gatunków to pasożyty roślin i grzybów, które dzięki specyficznej strukturze, zwanej sztyletem, mogą odżywiać się zawartością komórek roślinnych. W glebach różnych typów szeroko rozpowszechnione są nicienie żyjące się bakteriami. Owadobójcze nicienie, obok wirusów, bakterii, grzybów oraz wyciągów z roślin, należą do najważniejszych czynników biologicznych. EPNs w postaci gotowych biopreparatów służą do biologicznej kontroli zwalczania szkodników zarówno w uprawach rolnych, jak i leśnych. Na świecie wykorzystywanych jest kilkadziesiąt zarejestrowanych biopreparatów opartych na bazie różnych gatunków i szczepów nicieni entomopatogenicznych oraz ich mutualistycznych bakterii *Xenorhabdus* i *Photorhabdus* [Ehlers 1996; Tomalak 2005]. Wprowadzono je do obrotu handlowego w wielu krajach Europy. Wykorzystywane w Polsce biopreparaty zawierające nicienie Steinernematidae i Heterorhabditae przedstawia tabela.

W ochronie roślin przed muchówkami glebowymi w uprawach pod osłonami szczególnie zastosowanie znalazł gatunek *Steinernema feltiae*. Żywicielami preferowanymi przez nicienie *S. scapterisci* są chrząszcze z rodziny Scarabaeidae, natomiast gatunek *S. kushidaii* wykorzystywany jest do zwalczania owadów z rzędu Orthoptera. Nicienie *Heterorhabditis bacteriophora* i *H. megidis* wykazują zwiększoną wrażliwość na pędraki chrząszczy z rodziny żukowatych oraz na larwy opuchlaków z rodziny ryjkowcowatych. Biopreparaty oparte na *H. megidis* (Larvanem) i *S. feltiae* (Entonem) produkowane przez firmę Koppert Biological System z Holandii są polecane do walki biologicznej z drutowcami *Agriotes lineatus* w uprawach polowych. Stadium przetrwalnikowe nicieni (larwa infekcyjna) umożliwia wielomiesięczne przeżycie gatunku w glebie, poza ciałem gospodarza. To stadium wykorzystywane jest w biopreparatach. Gatunki z rodzin Steinernematidae i Heterorhabditae wykazują obszerny krąg żywicieli [Poinar 1990]. W Polsce używane są do produkcji biopreparatów uzupełniających tradycyjne metody ochrony roślin [Bednarek 1990; Dzięgielewska, Kiepas-Kokot 2004; Tomalak 2006, 2007; Dzięgielewska 2008; Tomalak, Sosnowska 2008; Dzięgielewska, Erlichowski 2010]. Układ z bakteriami *Xenorhabdus* i *Photorhabdus* pozwala na efektywne zasiedlenie kolejnych żywicieli. Nicienie wnikają w larwę owada przez jego naturalne otwory, uwalniając i szybko namnażając bakterie, powodując ogólne zakażenie i śmierć,

Tabela.

Biopestycydy oparte na pasożytniczych nicieniach entomopatogenicznych wykorzystywane w Polsce
 Biopesticides based on parasitic entomopathogenic nematodes used in Poland

Szkodniki Pests	Biopestycyd Biopesticide	Gatunek nicieni Nematode species
Opuchlak (<i>Otiorynchus sulcatus</i>)	LARVANEM	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>
Ryjkwcowate (Curculionidae)	B-GREEN	<i>H. megidis</i>
	Heterorhabditis-System	
Opuchlak (<i>Otiorynchus</i> spp.)	Nemasys hm Exhibitline hm	<i>H. megidis</i>
Ziemiorłkowate (Sciaridae syn. Lycoriidae)	Entonem	<i>Steinernema feltiae</i>
Wciornastki (<i>Thysanoptera</i>)		
Wciornastek zachodni (<i>Frankliniella occidentalis</i>)	Steinernema-System	<i>S. feltiae</i>
	SCIA-RID	
<i>Liriomyza</i> spp.	Nemasys F Exhibitline sf	<i>S. feltiae</i>
Gąsienica (<i>Eruca</i>)		
Turkuć podjadek (<i>Gryllotalpa gryllotalpa</i>)	Capsanem	<i>S. carpocapsae</i>
Koziulkowate (Tipulidae)	Exhibitline sc	<i>S. carpocapsae</i>
Larwy opuchlaków <i>Otiorynchus</i> spp.	Nemasys L Exhibitline srb	<i>S. krausei</i>

która następuje zwykle w ciągu 24 godzin. Powstają tysiące larw inwazyjnych nowego pokolenia, które po opuszczeniu martwych owadów dokonują kolejnych infekcji. W optymalnej temperaturze, zbliżonej do 20°C, cykl rozwojowy nicieni trwa około 7 dni. Występuje w nim stadium jaja, cztery stadia larwalne i postać dorosła. Tylko larwa infekcyjna 3 stadium, która aktywnie poszukuje gospodarza, jest zdolna do życia w podłożu i może zachować żywotność w glebie przez wiele miesięcy, nie pobierając pokarmu. EPNs znalazły powszechne zastosowanie w zwalczaniu szkodników upraw warzywnych, można je też wykorzystywać w leśnictwie do zwalczania szkodliwych muchówek, wciornastków, chrząszczy, motyli i rośliniarek. Ich skuteczność zwiększa się przy stosowaniu wraz ze środkiem chemicznym. Sprawdzają się w zwalczaniu chrabąszcza majowego (*Melolontha melolontha*) i chrabąszcza kasztanowca (*M. hippocastani*) – największego problemu w szkółkach i uprawach leśnych w Polsce [Kowalska 2001a, b]. Szczególnie niebezpieczne są pędraki 3-4-letnie, które żerując, uszkadzają system korzeniowy siewek i sadzonek prawie wszystkich gatunków drzew i krzewów.

Przeprowadzono wiele badań laboratoryjnych i terenowych nad efektywnością działania biopreparatów zawierających EPNs w stosunku do różnych gatunków owadów [Zimmermann 1992; Kaya, Gaugler 1993; Ehlers 1996; Lacey i in. 1996; Vlug 1996; Kowalska 2003; Kowalska, Jakubowska 2006; Lipa, Pruszyński 2010; Tumialis i in. 2013]. Badania prowadzone w Instytucie Ochrony Roślin – Państwowym Instytucie Badawczym w Poznaniu wykazały, że młode larwy takich owadów jak szeliniak sosnowiec (*Hylobius abietis*), hurmak olchowiec (*Agelastica alni*), jętrewka długoczułka (*Phylloocta laticollis*), szubarga pięciokropka (*Phytodecta quinquepunctata*), osnuja czerwonołowa (*Acantholyda erythrocephala*) i susówka dębowa (*Altica quercetorum*) są bardzo wrażliwe na działanie preparatów biologicznych opartych na bakterii *Bacillus thuringiensis* subspecies *tenebrionis*, a przelegujące w glebie poczwarki są łatwo infekowane przez nicienie owadobójcze z rodzajów *Steinernema* i *Heterorhabditis*. Badania dotyczące biologicznych metod ograniczania liczebności szkodliwych gatunków bezkręgowców z zastosowaniem EPNs oraz opra-

cowania przemysłowych metod produkcji takich biopreparatów prowadzone są w Laboratorium Biokontroli, Produkcji i Aplikacji EPN Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego. Podejmowane są tam próby opracowania skutecznego biopreparatu do zwalczania szrotówka kasztanowcowiaczka (*Cameraria ohridella*), uważanego za szkodnika kasztanowców i za gatunek inwazyjny [Kreft i in. 2012].

Szeliniak sosnowiec wyrządza największe szkody gospodarcze w lasach świerkowych i sosnowych na terenie całej Polski. Występuje w młodnikach i szkółkach drzew iglastych. Możliwości chemicznego zwalczania tego szkodnika są ograniczone. Dorosłe osobniki osiągają długość 6-15 mm. Pozbawione odnóży larwy dorastają do 12-15 mm. Najczęściej porażane przez szeliniaka sosnowca gatunki to sosna wejmutka i świerk pospolity, choć szkodnika obserwuje się również na modrzewiach, jodłach i daglezi. Chrząższe żerują na szyjkach korzeniowych oraz pędach młodych drzew. Zjadają korę, przegryzając się aż do łyka, które również staje się ich pożywieniem. Najchętniej atakują siewki i sadzonki, ale zagrożone są wszystkie drzewa mające mniej niż 5 lat. Larwy uszkadzają korzenie młodych roślin, drążąc korytarze pod korą. W efekcie działalności tych szkodników drzewka przestają rosnąć i obumierają. W sezonie wegetacyjnym rozwija się najczęściej jedna generacja szkodnika. Zimujące stadia to zarówno larwy, jak i owady doskonałe. Jesienią szeliniaki zagrzebują się w ściółce u podstawy pni drzew iglastych. Ich aktywność rozpoczyna się w kwietniu. Chrząższe opuszczają kryjówki i rozpoczynają intensywny żer, trwający około 4 tygodni. Rójka zaczyna się w maju i trwa do września. Każda samica składa w korzeniach młodego drzewa do 60 jaj. Larwy wylęgają się po upływie 2-3 tygodni. Szkodniki z pierwszych wylęgów przepoczwarzają się jeszcze w tym samym sezonie, więc kolejna gradacja szeliniaka sosnowca przypada na sierpień i wrzesień. Długość życia dojrzałej formy szkodnika wynosi 2-3 lata. EPNs są stosowane, gdy szeliniak sosnowy osiąga stadium larwy i poczwarki późnego stadium [Dillon i in. 2006, 2007].

Hurmak olchowiec jest pospolity na obszarze całego kraju, szczególnie w miejscach wilgotnych – wzdłuż cieków i zbiorników wodnych. Żeruje głównie na olszy. Chrząższe zimują w glebie lub w ściółce. Środowisko to opuszczają na przełomie kwietnia i maja, aby rozpocząć intensywnie żerowanie na rozwijających się liściach. Pod koniec maja, po kopulacji, samice rozpoczynają składanie jaj na spodniej stronie blaszki liściowej, w złożach po kilkadziesiąt sztuk. Wylęgające się larwy żerują gromadnie, wygryzając miękisz i szkieletując liście. Rozwój larwy trwa około 3 tygodni. Przepoczwarzenie następuje w glebie lub w ściółce w pierwszej połowie lipca. Wylęgające się po około 2 tygodniach młode chrząższe powracają na liście, gdzie kontynuują żerowanie aż do jesieni. W wielu rejonach gatunek ten wykazuje tendencję do corocznych masowych pojawów. Szczególnie niebezpieczny jest dla młodych olszy. Jego żerowanie może prowadzić do gołożeń, przedwczesnego zasychania liści i zamierania opanowanych drzew.

Jętrewka długoczułka występuje na osice i topoli włoskiej oraz na wierzbie na terenie całego kraju. Zimuje w ściółce lub pod korą martwych drzew. Żerowanie rozpoczyna wiosną, atakując najpierw pączki, później zaś rozwinięte liście. Jaja składane są na początku czerwca w partiach po kilkanaście sztuk. Początkowo młode larwy żerują grupowo na spodniej stronie liści, potem zaczynają żerować indywidualnie. Wygryzają miękisz, pozostawiając górną warstwę oskórka liścia w całości. Dorosłe larwy przedostają się do gleby, gdzie odbywają przepoczwarzenie. Młode chrząższe opuszczają glebę po około 2 tygodniach i podejmują intensywny żer na liściach. Jesienią przestają żerować, lecz nadal można je obserwować w dużych skupiskach na górnej stronie liści osiki. Zwykle występuje jedno pokolenie w ciągu roku, lecz w cieplejsze lata może rozwinąć się również drugie. Zarówno intensywne żerowanie chrząższy, jak i masowo pojawiających się larw prowadzi do charakterystycznego brązowienia liści oraz ich przedwczesnego

opadu. Uszkodzenia te znacznie obniżają walory estetyczne drzew. Niektóre gatunki jętrewek są szkodnikami upraw wikliny i topoli (*Ph. viminalis*, *Ph. vulgatissima*).

Zsubarga pięciokropka żeruje na drzewach czeremchy (*Prunus padus*, *P. serotina*) oraz jadrzęcia pospolitego (*Sorbus aucuparia*). Jest pospolita na obszarze całego kraju. Zimuje od kwietnia do maja. Wychodzące po około 2-3 tygodniach (na przełomie czerwca i lipca) chrząszcze nowego pokolenia żerują przez pewien okres na liściach i znikają, kryjąc się w ściółce lub pod korą martwych drzew, gdzie zimują. Zasadniają drzewa wczesną wiosną, wraz z rozwojem liści. Jest to gatunek żyworodny. Młode larwy pojawiają się w kwietniu i na początku maja. Przez cały okres rozwoju żerują indywidualnie, lecz często po kilka na jednym liściu. Wygryzają dziury w blaszce liściowej. Dorosłe larwy spadają do gleby, gdzie odbywają przepoczwarczenie. Żerowanie larw, często występujących masowo, prowadzi do charakterystycznej perforacji liści, co w przypadku opanowania całych koron skutkuje огоłowieniem drzew.

Osnuja czerwogłowa występuje w całym kraju, głównie na sośnie pospolitej. W parkach i ogrodach atakowane są często ozdobne odmiany sosny wejmutki (*P. strobus*), himalajskiej (*P. wallichiana*) oraz czarnej (*P. nigra*). W Polsce masowo występuje zwykle lokalnie, atakując młodsze drzewostany sosnowe na ubogich siedliskach boru suchego. Rójka tego owada trwa od marca do maja. Po zapłodnieniu samica rozpoczyna składanie jaj na ubiegłorocznych igłach sosny. Jaja przyklejane są do igły w szeregu od kilku do kilkunastu sztuk w jednym złożu. Rozwijające się larwy żerują gromadnie, tworząc wspólne oprzędy. Na początku zjadają igły starsze, później również młode, tegoroczne. Rozwój larw trwa około 3 tygodni. Dorosłe larwy schodzą lub spadają do gleby, gdzie na głębokości kilku centymetrów przelegują przez okres zimy. Przepoczwarczenie następuje wczesną wiosną następnego roku. Część osobników w stadium dorosłej larwy (tzw. eonimfy lub pronimfy) może jednak pozostawać w glebie przez kolejny rok lub dwa lata. Stosunkowo krótki, lecz bardzo intensywny okres żerowania larw może prowadzić do częściowego lub całkowitego zniszczenia igliwia na całych gałęziach. Uszkodzenia te są szczególnie niebezpieczne dla młodych drzewek oraz cennych osobników w kolekcjach parkowych i ogrodach przydomowych. Korony stają się przerzedzone, co znacznie obniża walory estetyczne opanowanych drzew. Długi okres przelegiwania larw szkodnika w glebie stwarza zagrożenie ponownym atakiem nawet przez kolejne trzy sezony.

Susówka dębowa występuje w lasach liściastych i mieszanych oraz parkach. Jest pospolita prawie w całym kraju. Jej roślinami pokarmowymi są głównie dęby, ale pojawia się też na olszy, leszczynie i brzozie. Jest obecna na obszarze całego kraju, w niektóre lata nawet bardzo licznie. Chrząszcze zimują w ściółce lub w szczelinach kory. Na drzewach pojawiają się w maju. Ich intensywne żerowanie prowadzi do powstania na liściach rozległych powierzchni pokrytych licznymi drobnymi otworami. Po kopulacji samice składają jaja na spodniej stronie liści w złożach po kilkanaście sztuk. Wylęgające się po około 2 tygodniach larwy żerują na początku gromadnie, a w późniejszych stadiach pojedynczo, wygryzając miękisz liści i pozostawiając nieuszkodzone żyłki. W ten sposób zeszkietowane liście brunatnieją i przedwcześnie zasychają. W lipcu dorosłe larwy schodzą do gleby, gdzie odbywają przepoczwarczenie. Po około dwóch tygodniach wychodzą młode chrząszcze, które żerują na liściach do jesieni. Najbardziej niebezpieczne są masowe pojawy susówki w szkółkach leśnych. W lasach i parkach miejskich powoduje ona przedwczesne masowe brązowienie i zasychanie liści, co istotnie obniża walory estetyczne drzew.

Szrotówek kasztanowcowiaczek (*Cameraria ohridella*) należący do Lepidoptera powoduje rozległe uszkodzenia kasztanowców [Kosibowicz 2005; Dzięgielewska i in. 2010]. Jego żerowanie skutkuje znacznymi szkodami (głównie późnoletnie brązowienie liści, mające negatywny wpływ na wygląd zaatakowanego drzewa). W wyniku działalności szkodnika waga nasion oraz

zdolność fotosyntetyczna i reprodukcyjna mogą zostać zredukowane. Larwy żerują, tworząc miny w liściach kasztanowca, powodując tym samym zniszczenie liści i hamując rozwój drzewa. Porażone liście pokrywają się niewielkimi, brązowymi plamami, które powiększając się, nadają drzewu nienaturalny, jesienny wygląd. Wraz ze zwiększaniem się porażonej powierzchni liść usycha i opada. Nowe liście wypuszczone przez drzewo są ponownie atakowane. Cykl infekcji może być powtórzony kilkukrotnie podczas sezonu wegetacyjnego. Drzewa opalone przez szrotówkę tworzą jesienią nowe kwiaty, które jednak w warunkach klimatycznych Polski nie mają szans na wydanie owoców. Powtórne kwitnienie osłabia drzewa, wskutek czego często przemarzają.

Wykorzystanie entomofagów w połączeniu z zastosowaniem selektywnych pestycydów dało początek koncepcji integrowanej ochrony roślin i pozostaje nadal trwałym oraz ważnym elementem obecnych programów ochrony roślin. Badania wykroczyły znacznie poza bezpośrednie zastosowanie EPNs jako pojedynczych środków kontrolnych do zwalczania szkodników owadzych. Najlepiej udokumentowane w doświadczeniach laboratoryjnych, szklarniowych i polowych wśród kombinacji syntezy są interakcje między nicieniami a neonicotynoidowymi insektycydami, szczególnie imidaclopridem, który najczęściej wchodził w interakcję synergistyczną w połączeniu z *S. glaseri*, *H. bacteriophora*, *H. marelatus* i *H. megidis* [Koppenhöfer i in. 2000a, b, 2002; Koppenhöfer, Fuzy 2008].

Szkodliwość EPNs dla kleszczy i wszołów

Z badań prowadzonych w Izraelu i USA wynika, że EPNs są skuteczne w zwalczaniu kleszczy [Samish, Glazer 1992, 2001; Zhioua i in. 1995; Samish i in. 2000, 2004] oraz owadów [Samish, Rehacek 1999] przenoszących groźne dla ludzi i zwierząt choroby wirusowe i bakteryjne. Tematyka zwalczania kleszczy stanowi w Polsce impuls do rozwoju badań ze względu na gwałtownie rosnące zachorowania na boreliozę, odkleszczowe zapalenie mózgu i szereg innych chorób przenoszonych głównie przez te pajęczaki.

Technika ochrony upraw leśnych

Do aplikowania biopreparatów stosuje się tę samą aparaturę, która jest wykorzystywana przy używaniu chemicznych środków ochrony roślin. Zaletą stosowania żywych organizmów jest ich bezpieczeństwo dla ludzi wynikające z braku kumulacji w glebie i na roślinach substancji szkodliwych dla środowiska i zdrowia ludzkiego. Rozprzestrzenianie organizmów sztucznie wyhodowanych wykonywane jest w sposób masowy tam, gdzie szkodniki rozmnożyły się do poziomu zagrażającego opłacalności upraw lub gdy istnieje zagrożenie, że taki poziom mogą osiągnąć. EPNs można z powodzeniem rozmnażać *in vitro*. Metody rozprzestrzeniania organizmów sztucznie wyhodowanych są zróżnicowane, ze względu na ich różnorodność gatunkową i środowisko działania. Mogą być one uwalniane z pojemników, rozsypywane, mieszane z cieczą, rozpylane lub rozlewane. Jednym ze sposobów ich aplikacji jest rozpylanie wraz z cieczą za pomocą opryskiwaczy [Poinar 1986; Mason i in. 1999; Nilsson i in. 1999; Orzechowski i in. 2001; Tomalak 2003; Wright i in. 2005; Shapiro-Ilan i in. 2006]. Wprowadzane do gleby mogą rozwijać populację w nowych środowiskach do czasu osiągnięcia równowagi pomiędzy ich owadziemi żywicielami (a także w stosunku do kleszczy), co stanowi dodatkowy aspekt probiotyczny w glebie.

Dyskusja

Jednym z głównych czynników ograniczających stosowanie nicieni *Heterorhabditis*, które w wielu przypadkach są bardziej efektywne niż nicienie *Steinernema*, jest ich mała żywotność [Mali-

nowski 2010]. W przeciwieństwie do *Steinernema* nicienie *Heterorhabditis* nie mogą być hodowane bez symbiotycznych bakterii *Photorhabdus luminescens*, które stanowią źródło pokarmu niezbędne do ich rozwoju i reprodukcji. W wielu przypadkach skuteczność biologicznych środków ochrony roślin jest niestety mniejsza od środków chemicznych. Preparaty biologiczne aplikowane są do gleby, która charakteryzuje się dużą złożonością różnego rodzaju oddziaływań (w tym antagonistycznych) oraz ogromną konkurencją o energię i składniki odżywcze pomiędzy drobnoustrojami glebowymi. Gleba jest środowiskiem o dużej zmienności czynników abiotycznych (wilgotność, temperatura, odczyn pH, zabiegi agrotechniczne), które bardzo istotnie wpływają na przeżywalność i skuteczność organizmów wprowadzanych do gleby [Martyniuk 2011; Dzięgielewska, Skwiercz 2018]. Biologiczne środki chętniej stosowane są w kontrolowanych i mniej złożonych warunkach (jak szklarnie) niż w uprawach polowych czy też leśnych. Niemniej jednak kierunek związany z rozwojem proekologicznych metod uprawy roślin wyznacza zapotrzebowanie na biopreparaty stosowane również w leśnictwie, zaś najwyższy priorytet winno uzyskać zastosowanie biologicznych preparatów w szkółkach leśnych przy produkcji sadzonek wolnych od owadów szkodników, a jednocześnie zawierających w strefie korzeniowej EPNs ochraniające rośliny na młodnikach.

EPNs jako środek kontroli biologicznej charakteryzują się szybką skutecznością zwalczania szkodników, wydajnymi technikami masowej hodowli, wysokim poziomem wirulencji, zdolnością do produkcji *in vitro*, zgodnością z wieloma pestycydami chemicznymi i szeroką różnorodnością genetyczną. Z przeprowadzonych dotychczas badań wynika, że *S. feltiae* jest gatunkiem najlepiej przystosowanym do zróżnicowanych warunków środowiskowych mającym szeroki krąg żywicieli [Dzięgielewska i in. 2010, 2012]. Przewaga EPNs nad chemicznymi insektycydami wynika z tego, że nie zanieczyszczają środowiska, umożliwiają równowagę naturalnych organizmów glebowych i są nieszkodliwe dla ludzi, zwierząt i roślin. Niestety, wrażliwość EPNs na ekstremalne czynniki środowiska stanowi przeszkodę w wykorzystaniu ich pełnego potencjału jako biologicznego czynnika kontroli szkodliwych owadów. Szczególnie niebezpieczne dla nicieni z rodzaju *Steinernema* i *Heterorhabditis* są wysokie temperatury, susze i promieniowanie słoneczne, które powodują spadek ich żywotności i nieskuteczność w warunkach terenowych [Kaya, Gaugler 1993]. Entomopatogenne nicienie, zwłaszcza *H. bacteriophora*, stają się nieskuteczne, gdy temperatura gleby spada poniżej 20°C [Georgis, Gaugler 1991]. Planując zabiegi biologiczne z wykorzystaniem EPNs, trzeba uwzględnić szereg czynników wpływających na skuteczność biopreparatów, takich jak warunki meteorologiczne, odpowiednia wilgotność gleby czy stopień zagęszczenia szkodników w glebie. Należy także pamiętać, że działanie preparatów biologicznych wymaga czasu i nie można oczekiwać natychmiastowych efektów. Dodatkowo inwazyjne larwy nicieni starzeją się w trakcie przechowywania biopreparatów. W związku z tym preparaty zawierające EPNs, szczególnie z rodzaju *Heterorhabditis*, mają krótki okres magazynowania, w czasie którego nicienie tracą aktywność. Wyraża się to spadkiem rezerw energii i utratą ich żywotności [Malinowski 2010].

Należy podkreślić, że aby metody biologiczne wykorzystujące EPNs były skuteczne, powinny być dostosowane do konkretnych warunków ekologicznych. Produkty te muszą skutecznie konkurować z innymi niechemicznymi technologiami, zarówno pod względem kosztów, jak i łatwości użycia. Badania nad biopreparatami do zwalczania szkodników owadów powinny skupiać się przede wszystkim na poprawie ich trwałości, technik przechowywania i użytkowania, jak również na zmniejszeniu potrzeby częstego ich stosowania. Priorytetem powinna być wysoka jakość oraz umiejętność właściwego ich stosowania.

Wnioski

- ✦ Nicienie entomopatogenne (EPNs) są składnikiem biopreparatów wykorzystywanych do zwalczania szkodliwych owadów w rolnictwie i ogrodnictwie. Powinny być stosowane w ochronie upraw leśnych przed owadami, które uszkadzają liście i nasiona, redukując zdolności fotosyntetyczne i reprodukcyjne różnych gatunków drzew.
- ✦ EPNs powinny być namnażane do stosowania w danej strefie klimatycznej, gdyż ich potencjał bakteriologiczny ma charakter lokalny – działanie bakterii jest specyficzne dla owadów danego środowiska.
- ✦ Ze względu na poważne zagrożenie chorobami odkleszczowymi celowe jest rozpoczęcie badań nad szkodliwością EPNs z rodzin Steinernematidae, Heterorhabditidae i Mermithidae dla pajęczaków przenoszących groźne choroby zwierząt leśnych i ludzi pracujących w lesie.

Literatura

- Andrassy I. 2005. Free-living Nematodes of Hungary (*Nematoda errantia*). I. Pedozoologia. W: Csuzdi C. S., Mahunka S. [red.]. Pedozoologia Hungarica. 3. Hungarian Natural History Museum and Systematic Zoology Research Group of the Hungarian Academy of Science, Budapest.
- Andrassy I. 2007. Free-living Nematodes of Hungary (*Nematoda errantia*). II. Pedozoologia Hungarica, Taxonomix Zoogeographic and faunistic studies on the soil animals. 4. Hungarian Natural History Museum and Systematic Zoology Research Group of the Hungarian Academy of Science, Budapest.
- Bedding R. A. 2006. Entomopathogenic Nematodes From Discovery to Application. *Biopestic. Int.* 2 (2): 87-119.
- Bednarek A. 1990. Ekologiczne uwarunkowania aktywności biologicznej nicieni entomofilnych w środowisku glebowym agrocenoz. *Rozpr. Nauk. Monogr. SGGW-AR* Warszawa. 31-70.
- Dillon A., Ward D., Downes M. J., Griffin C. T. 2006. Suppression of the large pine weevil, *Hyllobius abietis* (Coleoptera: Curculionidae) by entomopathogenic nematodes with different foraging strategies. *Biological Control* 38: 217-226.
- Dillon A., Ward D., Downes M. J., Griffin C. T. 2007. Optimizing application of entomopathogenic nematodes to manage large pine weevil, *Hyllobius abietis* L. (Coleoptera: Curculionidae) populations developing in pine stumps *Pinus sylvestris*. *Biological Control* 40: 253-263.
- Dzięgielewska M. 2008. Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae, Heterorhabditidae) as a natural factor of environmental resistance in urban conditions. *Proceedings of ECOpole 2* (2): 433-435.
- Dzięgielewska M., Erlichowski T. 2010. Wykorzystanie nicieni owadobójczych do biologicznego zwalczania szkodników glebowych w uprawach rolniczych. *Ziemiak Polski* 4.
- Dzięgielewska M., Kiepas Kokot A. 2004. Występowanie nicieni owadobójczych w glebach na terenach przemysłowych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 501: 95-101.
- Dzięgielewska M., Myśków B., Adamska I., Czerniawska B. 2010. Sezonowa dynamika aktywności nicieni owadobójczych Steinernematidae i Heterorhabditidae w glebie w wybranych zieleńcach Szczecina. *Proceedings of ECOpole 4* (2): 351-356.
- Dzięgielewska M., Myśków B., Adamska I., Czerniawska B. 2012. Seasonal dynamics of the activity of entomopathological nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) in selected greens of Szczecin. *Ecol Chem Eng A*. 19 (6): 601-607. DOI: 10.2428/ecea.2012.19 (06) 061.
- Dzięgielewska M., Skwiercz A. T. 2018. Influence of select abiotic factors on the occurrence of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae, Heterorhabditidae). *Polish Journal of Soil Science* 51 (1): 11-21.
- Ehlers R. U. 1996. Current and Future Use of Nematodes in Biocontrol: Practice and Commercial Aspects with Regard to Regulatory Policy Issues. – *Biocontrol Sci Technol.* 6: 303-316.
- Georgis R., Gaugler R. 1991. Predictability in biological control using entomopathogenic nematodes. *Journal of Economic Entomology* 84 (3): 713-720.
- Hugot J. P., Baujard P., Morand S. 2001. Biodiversity in helminths and nematodes as a field of study: an overview. *Nematology* 3: 199-208.
- Kaya H. K., Aguilera M. M., Alumai A., Choo H. Y., de la Torre M., Fodor A., Ganguly S., Hazir S., Lakatos T., Pye A., Wilson M., Yamanaka S., Yang H., Ehlers R. U. 2006. Status of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria from selected countries or regions of the world. *Biol. Cont.* 38: 134-155.
- Kaya H. K., Gaugler R. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology* 38: 181-206.
- Koppenhöfer A. M., Brown I. M., Gaugler R., Grewal P. S., Kaya H. K., Klein M. G. 2000a. Synergism of entomopathogenic nematodes and imidacloprid against white grubs: Greenhouse and field evaluation. *Biological Control* 19 (3): 245-251.

- Koppenhöfer A. M., Cowles R. S., Cowles E. A., Fuzy E. M., Baumgartner L. 2002. Comparison of neonicotinoid insecticides as synergists for entomopathogenic nematodes. *Biological Control* 24 (1): 90-97.
- Koppenhöfer A. M., Fuzy E. M. 2008. Effects of the anthranilic diamide insecticide, chlorantraniliprole, on *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) efficacy against and reproduction in white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae). *Biological Control* 45 (1): 93-102.
- Koppenhöfer A. M., Wilson M. G., Brown I., Kaya H. K., Gaugler R. 2000b. Biological control agents for white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) in anticipation of the establishment of the Japanese beetle in California. *Journal of Economic Entomology* 93 (1): 71-80.
- Kosibowicz M. 2005. Szrotówek kasztanowcowiaczek *Cameraria ohridella* Deschka & Dymić (*Lepidoptera gracillariidae*) – nowy inwazyjny szkodnik kasztanowca białego *Aesculus hippocastanum* L. w Polsce – biologia i metody zwalczania. *Leś. Pr. Bad.* 2: 121-134.
- Kowalska J. 2001a. Próba zastosowania nicieni owadobójczych oraz metody integrowanej w zwalczaniu pędraków chrabąszcza majowego *Melolontha melolontha* L. w uprawie leśnej. *Sylwan* 145 (2): 89-95.
- Kowalska J. 2001b. Chrabąszczowate – zagrożenie i możliwości zwalczania. *Sylwan* 145 (7): 97-105.
- Kowalska J. 2003. Śmiertelność pędraków *Phyllopertha horticola* przy łącznym stosowaniu *Heterorhabditis megidis* i diazynonu. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 43 (2): 735-738.
- Kowalska J. 2017. Status of Entomopathogenic Nematodes in Integrated Pest Management Strategies in Poland. W: Abd-Elgawad M. M. M., Askary T. H., Coupland J. [red.]. *Biocontrol Agents: Entomopathogenic and Slug Parasitic Nematodes*.
- Kowalska J., Jakubowska M. 2006. Ocena wrażliwości *Agrotis exclamationis* L. na wybrane gatunki nicieni owadobójczych. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 46 (2): 349-351.
- Kreft A., Kaźmierczak W., Sierpinska A., Skrzypek H., Skrabucha A., Dytała M., Dźwierzynska M. 2012. Charakterystyka nicieni wyizolowanych z pędraków chrabąszcza *Melolontha* sp. (Coleoptera: Scarabidae). *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 52 (4): 1093-1097.
- Kucharska K., Kucharski D., Zajdel B. 2015. Bakterie *Xenorhabdus* i *Photorhabdus*, nicienie entomopatogeniczne i owady – funkcjonowanie w złożonym układzie symbiont-pasożyt-żywiciel. *Post. Mikrobiol.* 54 (2): 154-164.
- Kulkarni N. 2014. Status of potential of biocontrol component for integrated management of forest insect pests in India. W: Koul O., Dhaliwal G. S., Khokar S., Singh R. [red.]. *Biopesticides in Sustainable Agriculture*. Science Publisher, New Delhi (India). 389-419.
- Lacey L., Amaral J. J., Klein M. G., Simoes N. J., Martines A., Mendes C. 1996. Microbial control of the Japanese beetle, *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) on Teiceira island (Azores, Portugal): the role of operational research. *Proc. of VIth Intern. Colloq. on Invert. Pathol. and Microbial Control*. 28 Aug. - 2 Sept. 1994. Montpellier, France. I: 409-415.
- Lipa J. J., Pruszyński S. 2010. Stan wykorzystania metod biologicznych w ochronie roślin w Polsce i na świecie. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 50 (3): 1033-1043.
- Malinowski H. 2010. Niechemiczne metody szkótek i upraw leśnych przed owadami uszkadzającymi systemy korzeniowe drzew i krzewów. Instytut Badawczy Leśnictwa, Warszawa.
- Malinowski H. 2011. Możliwości ochrony lasu przed owadami uszkadzającymi systemy korzeniowe metodą biologiczną z wykorzystaniem entomopatogennych nicieni. *Sylwan* 155 (2): 104-111.
- Martyniuk H. 2011. Skuteczne i nieskuteczne preparaty mikrobiologiczne stosowane w ochronie i uprawie roślin oraz rzetelne i nierzetelne metody ich oceny. *Post. Mikrobiol.* 50 (4): 321-328.
- Mason J. M., Matthews G. A., Wright D. J. 1999. Evaluation of spinning disc technology for the application of entomopathogenic nematodes against foliar pest. *Journal of Invertebrate Pathology* 73: 283-288.
- Nilsson U., Gripwall E. 1999. Influence of application technique on the viability of the biological control agents *Verticillium lecanii* and *Steinernema feltiae*. *Crop Protection* 18 (1): 53-59.
- Orzechowski Z., Prywer J., Zarzycki R. 2001. *Mechanika płynów w inżynierii środowiska*. WNT, Warszawa.
- Poinar G. O. 1986. *Entomopathogenic nematodes*. W: Franz J. M. [red.]. *Biological Plant and Health Protection*. Fischler. Verlag. Stuttgart.
- Poinar G. O. 1990. *Taxonomy and Biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae*. W: Gaugler R., Kaya H. K. [red.]. *Entomopathogenic nematodes in biological control*. CRC Press Inc., Boca Ration, Florida. 23-58.
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 31 marca 2014 r. w sprawie warunków stosowania środków ochrony roślin. 2014. *Dz. U. poz.* 510.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady 1107/2009 z dnia 21 października 2009 r. dotyczące wprowadzania do obrotu środków ochrony roślin i uchylające dyrektywy Rady 79/117/EWG i 91/414/EWG. 2009. *Dz. U. UE L* 309.
- Samish M., Alekseev F., Glazer I. 2000. Mortality rate of adult ticks due to infection by entomophagetic nematodes. *J. Parasitol. Bio One* 86 (4): 679-684.
- Samish M., Ginsberg H., Glazer I. 2004. Biological control of ticks. *J. Parasitol.* 83: 815-818.
- Samish M., Glazer J. 1992. Infectivity of Entomopathogenic Nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditidae*) to Female Ticks of *Boophilus annulatus* (Arachnida, Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 29 (4): 614-618.

- Samish M., Glazer I. 2001. Entomopathogenic nematodes for the biocontrol of ticks. *Trends of Parasitology* 17 (8): 368-371.
- Samish M., Rehacek J. 1999. Pathogens and Predators of Ticks and Their Potential in Biological Control. *Annu. Rev. Entomol.* 44: 159-182.
- Shapiro-Ilan D. I., Gouge D. H., Piggott S. J., Fife J. P. 2006. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control *Biological Control*. 38: 124-133.
- Skwierz A. T., Zapałowska A., Piersiak A. 2017. Niczenie entomofilne jako element kontroli biologicznej kleszczy. Referat na sesji Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego w Instytucie Chorób Tropikalnych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. 16 maja 2017 r., Gdynia.
- Tomalak M. 1995. Biocontrol potential of new, genetically altered strains of an entomopathogenic nematode entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*. *European Journal of Plant Pathology* 620.
- Tomalak M. 2003. Biocontrol potential of entomopathogenic nematodes against winter moths (*Operophtera brumata* and *O. fagata*) (Lepidoptera: Geometridae) infesting urban trees. *Biocontrol Science and Technology* 13: 517-527.
- Tomalak M. 2005. Rolnictwo ekologiczne nowym wyzwaniem dla biologicznych metod ochrony roślin. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 45 (1): 496-504.
- Tomalak M. 2006. Potencjał nicieni owadobójczych w biologicznym zwalczaniu szkodliwych błonkówek atakujących drzewa owocowe i parkowe. *Postępy w Ochronie Roślin* 46 (1): 249-255.
- Tomalak M. 2007. Rejestracja Biologicznych Środków Ochrony Roślin w Europie – Nowe Perspektywy. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 47 (4).
- Tomalak M., Sosnowska D. 2008. Organizmy pożyteczne w środowisku rolniczym. Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy w Poznaniu. Totem, Inowrocław.
- Tumialis D., Skrzecz I., Mazurkiewicz A., Pezowicz E., Góral K. 2013. Wrażliwość larw *Hyllobius abietis* (L.) na rodzime gatunki i szczepy nicieni entomopatogenicznych. *Sylvan* 157 (10): 769-774.
- Ustawa z dnia 8 marca 2013 r. o środkach ochrony roślin. 2013. Dz. U. poz. 455.
- Vlug H. J. 1996. Occurrence and biocontrol of grass grubs, especially of *Melolontha melolontha*. *IOBC/WPRS Bulletin* 19 (2): 35-36.
- Winiszewska G. 2008. Niczenie (Nematoda). Tylenchida. W: Bogdanowicz W., Chudzicka E., Pilipiuk I., Skibińska E. [red.]. *Fauna Polski – charakterystyka i wykaz gatunków*. T. 3. Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Warszawa. 446, 472-478.
- Wright D. J., Peters A., Schroer S., Fife J. P. 2005. Application technology. *Nematodes as Biocontrol Agents*. Grewal, Echlers, Shapiro-Ilan. CABI Publishing, CAB International Wallingford Oxfordshire OX10 8DE UK. 91-106.
- Zhioua E., Le Brun R. A., Ginsberg H. S., Aeschlimann A. 1995. Pathogenicity of *Steinernema carpocapsae* and *S. glaseri* (Nematoda, Steinernematidae) to *Ixodes scapularis* (Acari, Ixodidae). *Journal of Medical Entomology* 32: 900-950.
- Zimmermann G. 1992. Use of pathogen in scarab pest management. W: Jackson I. A., Glare T. R. [red.]. *Intercept*, Andover. 99-208.