

## PO PRVI NAJDBI ENTOMOPATOGENIH OGORČIC V SLOVENIJI

Žiga LAZNIK<sup>1</sup>, Stanislav TRDAN<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za entomologijo in fitopatologijo,  
Ljubljana

### IZVLEČEK

Entomopatogene ogorčice so talni organizmi, ki živijo v simbiozi z bakterijami. Po vstopu v gostitelje sprostijo ogorčice vanje bakterije, ki žuželke v kratkem času ubijejo s toksini. Uporaba entomopatogenih ogorčic v biotičnem varstvu rastlin pred škodljivimi žuželkami je v svetu dobro znana. Prve raziskave s temi biotičnimi agensi v Sloveniji segajo v leto 2004, ko so v laboratorijskih razmerah začeli preučevati njihovo učinkovitost zoper različne škodljive žuželke. V letu 2006 smo dokazali njihov obstoj v naših tleh in s tem so entomopatogene ogorčice v Sloveniji izgubile status tujerodnih organizmov. Njihova uporaba se bo tako iz laboratorijev lahko prenesla tudi na prosto in v rastlinjake, kot je to že stalnica v številnih drugih državah po svetu. V samem prispevku bomo spoznali bionomijo teh organizmov, prednosti in slabosti njihove uporabe v biotičnem varstvu rastlin, primerjali njihovo učinkovitost zoper rastlinske škodljivce v primerjavi s kemičnimi insekticidi in ovrednotili njihov bodoči pomen pri nas. Namen prispevka je seznaniti domače strokovnjake o uporabni vrednosti entomopatogenih ogorčic kot alternativni kemičnim insekticidom.

**Ključne besede:** entomopatogene ogorčice, simbioza, bakterije, Slovenija, tujerodni organizmi, biotično varstvo

### ABSTRACT

#### AFTER THE FIRST RECORD OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES IN SLOVENIA

Entomopathogenic nematodes (EPNs) are soil organisms that are mutually associated with bacteria. After EPNs enter the host, the symbiotic bacteria are released, causing death of the insect in a very short time. Use of EPNs in biological control against insect pests is well known worldwide. The first laboratory experiments with these agents started in Slovenia in 2004. The aim was to determine their efficacy against different harmful insects. In 2006, we collected some soil samples in which we proved the presence of EPN in our country. For this reason the EPNs lost their status of an exotic organisms in Slovenia. Their use will be able to transmit from the laboratories to the fields and greenhouses, like in many other countries in the world. The article presents the bionomics, advantages and disadvantages of their use in biological control, and comparison of their efficacy with the use of chemicals insecticides. The future role of EPNs in Slovenia will be discussed. The aim of this paper is to acquaint the experts with the use of EPNs as alternative to chemical insecticides.

<sup>1</sup> univ. dipl. inž. agr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

<sup>2</sup> doc., dr. agr. znan., prav tam

**Key words:** entomopathogenic nematodes, symbiosis, bacteria, Slovenia, exotic organism, biological control

## 1 UVOD

Znano je, da imajo entomopatogene ogorčice, ki jih uvrščamo v družini Steinernematidae in Heterorhabditidae, zelo velik potencial v biotičnem varstvu rastlin (Klein, 1990). Njihovo delovanje na številne škodljive žuželke je že dobro preučeno (Kaya in Gaugler, 1993; Ebssa, 2005). Entomopatogene ogorčice so talni organizmi, ki živijo z bakterijami v simbiotsko-mutualističnem odnosu. Njihov pomen v biotičnem varstvu rastlin pred škodljivimi organizmi je bil prvič odkrit v ZDA v tridesetih letih prejšnjega stoletja (Laznik in Trdan, 2007a).

Izjemno odkritje uporabe entomopatogenih ogorčic v biotičnem varstvu rastlin pred škodljivimi žuželkami je bilo zaradi intenzivne rabe kemičnih sredstev za varstvo rastlin pozabljeno vse do šestdesetih let prejšnjega stoletja. Tedaj so v javnost prišle informacije o strupenosti kloriranih ogljikovodikov (značilen zgled je aktivna snov DDT), ki so jih dotlej množično uporabljali (Koppenhöfer in Kaya, 2002). Ideja o biotičnem zatiranju škodljivih žuželk z entomopatogenimi ogorčicami je tako ponovno zaživela.

Kar je bilo še pred tridesetimi leti zgolj laboratorijsko delo, je danes že uporabno v poskusih na poljih. V več kot šestdesetih državah sveta znanstveniki raziskujejo entomopatogene ogorčice in njihove simbiotske bakterije. Na Floridi (ZDA) z omenjenimi ogorčicami vsako leto tretirajo citruse na 25000 ha. Na različnih območjih ZDA entomopatogene ogorčice uporabljajo tudi za zatiranje škodljivcev brusnic, artičok, gojenih gob, jablan, breskev, travne ruše in nekaterih drugih gojenih rastlin (Gaugler, 2002).

Raziskave entomopatogenih ogorčic pa so v mnogih državah sveta omejene le na laboratorijsko delo. Vzrok za to je v dejstvu, da so ogorčice na takšnih območjih še vedno t. i. tujerodni organizmi, saj njihove zastopanosti še niso potrdili v naravnem okolju (Gaugler, 2002). Slovenija se je po odkritju teh biotičnih agensov uvrstila med države, kjer bo uporaba ogorčic, kot načina biotičnega varstva, dovoljena tudi na prostem.

## 2 NAČIN DELOVANJA IN RAZVOJNI KROG ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

Ob prvem odkritju entomopatogenih ogorčic je bila postavljena hipoteza, da ogorčice same povzročijo smrt napadenih žuželk (Gaugler in Kaya, 1990). Leta 1937 je Bovien prvič omenil možnost obstoja simbiotskih bakterij, ki živijo z entomopatogenimi ogorčicami v mutualističnem odnosu. Njegovo hipotezo sta leta 1955 potrdila Dutky in Weiser (Weiser, 1955). Boemare je leta 1982 dokazal, da ogorčice iz rodu *Steinernema* proizvajajo toksične snovi, ki negativno vplivajo na imunski sistem okužene žuželke in lahko že same brez simbiotskih bakterij povzročijo smrt gostitelja. Za entomopatogene ogorčice iz rodu *Heterorhabditis* dosedaj še ni ugotovljeno, da bi bile same sposobne proizvajati toksične snovi, ki bi vplivale na slabšo vitalnost okužene žuželke (Klein, 1990).

O simbiotsko-mutualističnem odnosu med bakterijami in ogorčicami govorimo zato, ker ogorčice nudijo bakterijam bivališče in zaščito, v zameno pa bakterije hitro ubijejo napadene žuželke in s proizvajanjem antibiotikov onemogočijo razvoj tekmovalnih mikroorganizmov, ki bi se sicer hranili v mrtvih osebkih. Bakterije preoblikujejo vsebino gostitelja v hrano, ustrezno za ogorčice in tudi same so hrana za ogorčice (Kaya in Koppenhöfer, 1999).

V razvojnem krogu entomopatogenih ogorčic se pojavijo jajčece, ličinka, ki se navadno štirikrat levi in odrasel osebek. Le ličinke tretjega larvalnega stadija, t.i. infektivne ličinke (IL), lahko napadejo gostitelje. Takšni osebki so prosto živeči in dobro prilagojeni na dolgotrajnejše pomanjkanje hrane (Kaya, 2000). Vsaka infektivna ličinka ima v posebnih veziklih v sprednjem delu črevesa od 200 do 2000 simbiotskih bakterij (Gaugler, 2002).

Infektivne ličinke vstopijo v gostitelje prek naravnih odprtin (dihalne odprtine, ustni aparat, zadnjična odprtina) ali prek kutikule (Eidt in Thurston, 1995). V hemolimfi gostiteljev nato ogorčice sprostitjo zanje značilne simbiotske bakterije. Bakterije se v hemolimfi hitro množijo in proizvajajo toksine ter druge sekundarne metabolite, ki prispevajo k oslabitvi obrambnega mehanizma gostitelja. V približno dveh dneh po vstopu infektivnih ličink v gostitelja le-ta pogine (Gaugler, 2002). V gostitelju torej poteka dvojni razvojni krog, ogorčic in bakterij. Ogorčice prvega rodu preidejo v drugi rod. Po štirikratni levitvi ličink in obdobju odraslega osebka ogorčice preidejo v tretji rod, ki uspeva v gostitelju toliko časa, dokler ima na voljo hrano. Gostitelj je tedaj že mrtev, kajti toksini, ki so jih izločile bakterije ga pred tem že pokončajo (24-72 ur po vstopu ogorčice v gostitelja). Tretji rod ogorčic je zato že saprofitski (Laznik in Trdan, 2007ab).

Bakterije proizvajajo tudi takšne toksine (3,5 dihidroksi-4-izopropilstilben), ki od razpadajočih trupel odvrtačajo druge mikroorganizme (Hui, 2000). Ko je razvojni krog zaključen, ogorčice zapustijo nerazgrajene dele trupel in se vrnejo v tla. V ugodnih razmerah infektivne ličinke iz rodu *Steinernema* zapustijo gostitelja 6. do 11. dan, tiste iz rodu *Heterorhabditis* pa 12. do 14. dan po parazitiranju (Kaya, 2000). Ogorčice za svoj razvoj obvezno potrebujejo prisotnost gostitelja (žuželk) (Griffin *et al.*, 2005), izven njega pa preživijo v tleh zelo kratek čas (Smits, 1996).

### 3 PREGLED DOSEDANJEGA DELA Z ENTOMOPATOGENIMI OGORČICAMI V SLOVENIJI

S prvimi raziskavami entomopatogenih ogorčic v Sloveniji smo začeli v sklopu projekta L4-6477-0481-04 leta 2004. Ker so do leta 2007 EPO veljale v Sloveniji za t. i. tujerodne organizme so bile vse raziskave omejene le na laboratorijske poskuse. Cilj naših raziskav je bil preučiti delovanje različnih vrst ogorčic, pri različnih temperaturah ter koncentracijah suspenzije za številne vrste škodljivih žuželk (Laznik in Trdan, 2007b).

Uporaba entomopatogenih ogorčic v biotičnem varstvu rastlin je bila do pred nekaj leti tradicionalno vezana na zatiranje talnih škodljivcev (Ishibashi in Choi, 1991). Rezultati raziskav v zadnjih dveh desetletjih pa kažejo na njihov potencial tudi pri zatiranju nadzemskih škodljivcev, vendar le pod določenimi pogoji (Head s sod., 2004; Hazir, 2004). Slabša učinkovitost entomopatogenih ogorčic pri zatiranju nadzemskih škodljivcev je predvsem posledica neustrezne (prenizke) vlage (Lello s sod., 1996), izpostavljenosti temperaturnim ekstremom (Grewal *et al.*, 1994a) in ultravijoličnemu sevanju (Gaugler *et al.*, 1992a). Ti dejavniki so namreč ključni za preživetje ogorčic (Smits, 1996). Zato ogorčice slabše delujejo na nadzemske škodljivce na prostem, čeprav predhodni laboratorijski testi pokažejo precej boljšo učinkovitost (Berry, 1993).

V laboratorijskih poskusih smo v Sloveniji tako preučevali učinkovitost ogorčic zoper koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* Say) (Perme, 2005), rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* Westwood) (Perme, 2005), cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* Pergande) (Perme, 2005), surinamskega mokaarja (*Oryzaephilus surinamensis* L.) (Trdan *et al.*, 2006), črnega žitnega žužka (*Sitophilus granarius* L.) (Trdan *et al.*, 2006) ter

kapusovih bolhačev (*Phyllotreta* spp.) (Laznik, 2006). Poskusi so potrdili že prej znana dejstva, da so entomopatogene ogorčice v optimalnih razmerah izredno učinkoviti agensi za zatiranje škodljivih žuželk (Laznik in Trdan, 2007ab).

Ob koncu leta 2006 je potekal poskus z »Galleria baiting method« s katero smo želeli dokazati obstoj entomopatogenih ogorčic tudi v naših tleh. Metoda temelji na vnosu živih ličink voščene vešče (*Galleria melonella*) na vzorec tal (Bedding in Akhurst, 1975). Po nastopu smrti ličink smo mrtve kadavre shranili in dnevno opazovali morebitno izhajanje ogorčic iz njih. Po ugotovitvi zastopanosti smo vzorce poslali na raziskovalno inštitucijo na Madžarsko, kjer so nam kolegi s pomočjo PCR metode identificirali ogorčice.

#### 4 *STEINERNEMA AFFINE*, PRVA NAJDENA ENTOMOPATOGENA OGORČICA PRI NAS

Vrsto *Steinernema affine* Bovien uvrščamo v družino Steinernematidae, gre za predstavnico srednje-dolгих ogorčic (intermedium group) (Bovien, 1937). Živi v simbiozi z bakterijo vrste *Xenorhabdus bovienii* (Poinar, 1988). Prva najdba omenjenega organizma sega v leto 1937, njeno uporabno vrednost v biotičnem varstvu rastlin, pa so odkrili pred nekaj leti (Willmott *et al.*, 2002). Za vrsto je znano, da se rada pojavlja predvsem v tleh, kjer gojimo kapusnice (Nielsen in Philipsen, 2004). Njiva, locirana blizu kraja Staro selo pri Kobaridu, kjer smo potrdili prisotnost omenjene ogorčice, je bila ravno tako posajena s zeljem. Za vrsto *Steinernema affine* je znano, da gre za izredno učinkoviti biotični agens pri zatiranju kapusove muhe (*Delia radicum*) (Willmott *et al.*, 2002; Nielsen in Philipsen, 2004). Od vseh vrtnin v Sloveniji, je največ površin za pridelovanje zelenjave namenjeno prav tej skupini zelenjadnic (24,1% ali 871 ha) (Statistični urad Republike Slovenije, 2005), zaradi tega uporabna vrednost omenjene vrste pri nas dobi še toliko večji pomen.

#### 5 UPORABNA VREDNOST ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

Škodljive dejavnike okolja, ki omejujejo možnost izbire formulacijskih oblik, je mogoče omejiti z nekaterimi dodatki k formulaciji. Ker so škodljivi dejavniki okolja največji pri foliarni aplikaciji, so takšni dodatki v glavnem namenjeni ogorčicam, ki zatirajo nadzemske škodljivce rastlin. Broadbent in Olthof (1995) priporočata dodatek glicerina za preprečitev izsuševanja, Bauer *et al.* (1997) pa dodatek olja Roadspray. Največkrat so lahko dodatki fitotoksični ali negativno vplivajo na infektivne ličinke oziroma služijo kot substrat za rast gliv ali bakterij. Vsak dodatek mora biti zato preverjen na različnih vrstah rastlin in škodljivcev. Schroeder *et al.* (1996) poročajo, da sredstvo za pomivanje posode poveča hitrost prehajanja ogorčic v tla (Koppenhöfer, 2000).

Infektivne ličinke so lahko shranjene v vodni suspenziji pri nizki temperaturi tudi več mesecev. Vendar pa takšen način shranjevanja in transporta ovirajo veliki stroški in težave pri ohranjanju kakovosti ogorčic. Velike potrebe po kisiku, občutljivost nekaterih vrst entomopatogenih ogorčic na nizke temperature in okužbe z mikrobi, so omejujoči dejavniki, ki vplivajo na kakovost ogorčic, shranjenih v vodni suspenziji. Zaradi tega so ogorčice navadno formulirane v netekočih ali delno tekočih medijih (Grewal, 2000a).

V vodni suspenziji so infektivne ličinke lahko shranjene pri temperaturi od 4 do 15°C, odvisno od vrste ogorčic, in sicer od 6 do 12 mesecev ogorčice iz rodu *Steinernema*, in od 3 do 6 mesecev ogorčice iz rodu *Heterorhabditis*. Življenjska doba ogorčic je pri višji temperaturi krajša (Gaugler, 1999).

Danes je na trgu že veliko formulacij z ogorčicami, ki temeljijo na vlažni podlagi, kot je na primer goba (umetna) in vermikulit (Grewal, 1998). Takšne formulacije morajo biti shranjene pri nižji temperaturi, da ostanejo ogorčice dlje vitalne. Za podaljšanje življenjske dobe ogorčic in povečanje odpornosti na ekstremne temperature so bile razvite formulacije, ki vplivajo na manjši metabolizem infektivnih ličink. To je mogoče doseči z zmanjšanjem aktivnosti infektivnih ličink ali z njihovim delnim izsuševanjem (Grewal, 2000b).

Trenutno je najobetavnejša formulacija entomopatogenih ogorčic tista z vodotopnimi granulami, ki združuje dolgo obstojnost ogorčic brez hlajenja (6 mesecev od 4 do 25°C oziroma 2 meseca pri 30°C) in enostavno uporabo. Delno izsušene infektivne ličinke je potrebno po aplikaciji dobro navlažiti. Uporaba formulacij z delno izsušenimi infektivnimi ličinkami je za foliarno aplikacijo nepraktična (Koppenhöfer in Kaya, 2002).

Za nanos ogorčic lahko uporabljamo opremo, ki je namenjena škropljenju s fitofarmaceutskimi sredstvi, gnojenju ali namakanju. V ta namen se uporabljajo ročne, nahrbtnne in traktorske škropilnice, pršilniki in tudi letala. Infektivne ličinke lahko prehajajo prek škropilnih cevi, katerih premer znaša vsaj 100 µm. Prenesejo pritisk do 2070 kPa (Grewal, 1998).

Žuželke, ki delajo izvrtine v rastlinah, lahko zatremo tudi z neposrednim vbrizgavanjem suspenzije entomopatogenih ogorčic v izvrtine ali pa odprtine izvrtin zapremo z gobo, ki je prepojena z infektivnimi ličinkami (Koppenhöfer in Kaya, 2002).

Entomopatogene ogorčice je priporočljivo nanašati v zgodnjih jutranjih ali poznih večernih urah oziroma v oblačnem vremenu, ko ni nevarnosti za njihovo izsušitev, negativnega vpliva ultravijoličnega sevanja ali ekstremnih temperatur (Koppenhöfer in Kaya, 2002).

Entomopatogene ogorčice večinoma uporabljamo za kurativno zatiranje, včasih pa tudi za preventivno zatiranje okoli sadik in semena. Standardna koncentracija nanosa je ena milijarda ogorčic na 0,5 ha zemljišča oziroma 20000 ogorčic na lonček s premerom 30 cm (Lewis, 2000).

## **6 STOPNJA TVEGANJA OB VNOSU ENTOMOPATOGENIH OGORČIC V OKOLJE**

Entomopatogene ogorčice veljajo za izredno varne biotične agense (Ehlers, 2001). Ker je njihovo delovanje specifično, je stopnja tveganja za okolje mnogo manjša od tiste, o kateri govorimo pri uporabi kemičnih sredstev (Ehlers, 1998). Od prve uporabe entomopatogenih ogorčic za zatiranje hrošča vrste *Popillia japonica* v ZDA (Glaser in Farrell, 1935) pa do danes, ni bil dokumentiran noben primer povzročitve škode na okolje, zaradi delovanja teh biotičnih agensov. Uporaba ogorčic je varna za uporabnika. Entomopatogene ogorčice in njihove bakterije niso škodljive za sesalce in rastline (Boemare *et al.*, 1982; Akhurst in Smith, 2002).

V Sloveniji je s Pravilnikom o biotičnem varstvu rastlin (Uradni list RS, št. 45/06) prepovedan vnos tujerodnega organizma v naravno okolje. Sedaj, ko so entomopatogene ogorčice izgubile omenjeni status pri nas, bo mogoča njihova uporaba tudi na prostem, vendar pa le uporaba tistih vrst ogorčic, ki so bile dokazane. Odkritje ene vrste ne posplošuje uporabe vseh vrst, kljub temu, da so številne raziskave v tujini pokazale, da vnos eksotične vrste ogorčic negativno ne vpliva na okolje, lahko pa vnos eksotične vrste zmanjšuje učinkovitost endemičnih vrst ogorčic (Barbercheck in Millar, 2000).

V biotičnem varstvu rastlin se v komercialne namene uporablja omejeno število vrst ogorčic (*Steinernema feltiae*, *S. carpocapsae*, *S. riobrave*, *S. scapterisci*, *Heterorhabditis bacteriophora* in *H. megidis*, *H. marelata*, *H. zealandica*) (Gaugler, 2002).

## 7 ALI SO ENTOMOPATOGENE OGORČICE LAHKO ALTERNATIVA KEMIČNIM SREDSTVOM V VARSTVU RASTLIN?

Dejstvo, da biotični pripravki trenutno zastopajo le 1% svetovnega trga v varstvu rastlin pred boleznimi, škodljivci in pleveli, je znano (Dent, 2003). Kar 80% vseh biotičnih pripravkov temelji na aktivni snovi bakterije *Bacillus thuringiensis* (Bt). Številni analitiki so mnenja, da bi biotični pripravki lahko zamenjali kar 20 % kemičnih sredstev na trgu, vrednem 7 biljonov ameriških dolarjev (Blum, 2002). Žalosti dejstvo, da so obrati, ki se ukvarjajo s proizvodnjo biotičnih pripravkov slabo opremljeni in pripravljani na vstop na tako velik trg in pomemben trg. Še bolj pomemben problem pa se kaže v slabi osveščenosti pridelovalcev in uporabnikov o pomenu biotičnega varstva (Dent, 2003). Nepoznavanje širše javnosti o uporabni vrednosti entomopatogenih ogorčic, kot načina biotičnega varstva rastlin ter mnenje o slabi učinkovitosti takih pripravkov v primerjavi s kemičnimi sredstvi je ključnega pomena za tako omejeno uporabo naravi prijaznih organizmov v varstvu rastlin.

Entomopatogene ogorčice so učinkoviti agensi za zatiranje škodljivcev (Klein, 1990), vendar je njihovo delovanje manj učinkovito od kemičnih pripravkov. Učinkovitost ogorčic v laboratorijih seveda ni primerljiva z učinkovitostjo na prostem, kjer razmere niso optimalne. Nekatere raziskave pa so pokazale, da je ob pravilni aplikaciji entomopatogenih ogorčic stopnja umrljivosti ciljnega škodljivca večja kot pri uporabi kemičnih sredstev (Schroer et al., 2005).

## 8 VIRI

- Akhurst, R., Smith, K. 2002. Regulation and safety. In: R. Gaugler (ed.), entomopathogenic Nematology. CABI Publishing, Oxon, UK. pp.311-332.
- Barbercheck, M. E., Millar, L. C. 2000. Environmental impacts of entomopathogenic nematodes used for biological control in soil. In P.A. Follet and J.J. Duan (eds.), Nontarget Effects of Biological Control., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, NL., 287-308.
- Bauer, M. E., Kaya, H. K., Gaugler, R., Tabashnik, B. 1997. Effects of adjuvants on entomopathogenic nematode persistence and efficacy against *Plutella xylostella*. Biocontrol Science and Technology 7, 513-525.
- Bedding, R. A., Akhurst, R. J. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. Nematologica 21, 109-110.
- Berry, E. C., Lewis, L. C. 1993. "Interactions between nematodes and earthworms: Enhanced dispersal of *Steinernema carpocapsae*". *Journal of Nematology* 25(2): 189-192.
- Blum, B. 2002. Blocked opportunities for bio-control. Pesticide News 57, September 2002.
- Boemare, N.E., Laumond, C., Luciani, J. 1982. Mise en evidence d'une toxicogenese provoquee par le nematode entomophage *Neoplectana carpocapsae* Weiser chez l'insecte *Galleria mellonella* L. *Comptes Rendus des séances de l'Academie des Scences, Paris, Ser. III.* 295, 543-546.
- Bovien, P. 1937. Some type of association between nematodes and insects. *Videnk. Meddr Naturh. Foren.* 101: 1-114.
- Broadbent, A. B., Olthof, Th. H. A. 1995. Foliar application of *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) to control *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) larvae in chrysanthemums. *Environmental Entomology* 24, 431-435.
- Dent, D. 2003. Can biological control replace chemicals? Edited presentation to the Pesticide Challenge conference.

- Ebssa, L. 2005. Efficacy of entomopathogenic nematodes for the control of the western flower thrips *Frankliniella occidentalis*, Ph.D. Thesis, Hannover University: 141 str.
- Ehlers, R.-U. 2001. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. Appl. Microbiol. Biotechnol. 56: 523-633.
- Ehlers, R.-U. 1998. Entomopathogenic nematodes – Save biocontrol agents for sustainable systems. Phytoprotection 79: 94-102.
- Eidt, D.C., Thurston, G.S. 1995. Physical deterrents to infection by entomopathogenic nematodes in wireworms (Coleoptera: Elateridae) and other soil insects. The Canadian Entomologist 127, 423-429.
- Fitosanitarna uprava Republike Slovenije, 2006. <http://www.furs.si> (Uradni list RS, št. 45/06)
- Gaugler R. 1999. Matching nematodes and insect to achieve optimal field performance. V: Optimal use of insectidal nematodes in pest management. Paravarapu S. (ed). New Jersey, Bluberry Cranberry Research and Extension Center: 9-14.
- Gaugler R. 2002. Entomopathogenic Nematology. New Jersey, CABI Publishing: 372 str.
- Gaugler, R., Bednarek, A., Campbell, J.F. 1992a. Ultraviolet inactivation of heterorhabditids and steinernematids. Journal of Invertebrate Pathology 59: 155-160.
- Gaugler R., Kaya H. K. 1990. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. Florida, Boca Raton, CRC Press: 365 str.
- Glaser, R. W., Farrell, C. C. 1935. Field experiments with the Japanese beetle and its nematode parasite. Journal of New York Entomological Society 43: 345.
- Grewal, P. S. Selvan S., Gaugler R. 1994. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: niche breadth for infection, establishment, and reproduction. Journal of Thermal Biology 19: 245-253.
- Grewal P. S. 1998. Formulation of entomopathogenic nematodes for storage and application. Japanese Journal of Nematology, 28: 68-74.
- Grewal P. S. 2000a. Enhanced ambient storage stability of an entomopathogenic nematode through anhydrobiosis. Pest Manegment Science, 56: 401-406.
- Grewal P. S. 2000b. Anhydrobiotic potencial and long-term storage of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae). International Journal for Parasitology, 30: 995-1000.
- Griffin, C. T., Lewis, E., Boemare, N. 2005. 'Biology and behaviour'. In *Nematodes as biocontrol agents*, (eds. P.S. Grewal, R.-U. Ehlers and D.I. Shapiro-Ilan). CABI, Wallingford, pp 47-64.
- Hazir, S., Kaya, H. K., Stock, S. P., Keskin, N. 2004. Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. Turkish Journal of Biology, 27: 181-202.
- Head, J., Lawrence, A. J., Walters, K. F. A. 2004. Efficacy of the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*, against *Bemisia tabaci* in relation to plant species. Journal of Applied Entomology, 128: 543-547.
- Hui, E., Webster, D.J. 2000. Influence of insect larvae and seedling roots on the host-finding ability of *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). Journal of invertebrate Pathology 75: 152-162.
- Ishibashi, N., Choi, D.-R. 1991. Biological control of soil pests by mixed application of entomopathogenic and fungivorous nematodes. Journal of Nematology. 23:(2) 175-181.
- Kaya H.K. 2000. Entomopathogenic nematodes and their prospects for biological control in California. V: California conference on biological control. Hoddle M.S. (ed). Riverside, California: 38-46.
- Kaya, H. K., Gaugler, R. 1993. Entomopathogenic nematodes. Annu. Rev. Entomol. 38: 181-206.
- Kaya K. H., Koppenhöfer A. M. 1999. Biology and ecology of insectidal nematodes. V: Optimal use of insectidal nematodes in pest management. Poravarapu S. (ed). New Jersey, Bluberry Cranberry Research and Extension Center: 1-8.
- Klein, M. G. 1990. Efficacy against soil-inhabiting insect pests. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control (R. Gaugler and H.K. Kaya eds.). CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 195-214.
- Koppenhöfer A. M. 2000. Nematodes. V: Field manual of techniques in invertebrate pathology. Kaya H.K. (ed.). The Netherlands, Kluwer Academic Publishers: 283-301.
- Koppenhöfer, A. M., Kaya, H. K. 2002. Entomopathogenic nematodes and insect pest management. Microbial-biopesticides, 15: 277-305.
- Laznik, Ž., 2006. Laboratorijsko preučevanje učinkovitosti štirih vrst entomopatogenih ogorčic (Rhabditida) za zatiranje kapusovih bolhačev (*Phyllotreta* spp., Coleoptera, Chrysomelidae). Diplomsko delo, Univezitetni študij, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, 75 str.
- Laznik, Ž., Trdan, S. 2007a. Entomopatogene ogorčice, naravni sovražniki nadzemskih škodljivcev kapusnic. Acta agriculturae Slovenica [in press.].

- Laznik, Ž., Trdan, S. 2007b. Entomopatogene in entomofilne ogorčice – naravni sovražniki resarjev (Thysanoptera). Acta agriculturae Slovenica [in press].
- Lello, E. R., Patel, M. N., Mathews, G. A., Wright, D. J. 1996. Application technology for entomopathogenic nematodes against foliar pests. Crop protection 15, 567-574.
- Lewis E. E. 2000. Biology, selection, handling and application of entomopathogenic nematodes. V: Proceedings of Beneficial nematode workshop. Gothro P. (ed.). Oregon: 7-10.
- Nielsen, O., Philipsen, H. 2004. Occurrence of *Steinernema* species in cabbage fields and the effect of inoculated *S. feltiae* on *Delia radicum* and its parasitoids. Agricultural and Forest Entomology 6: 25-30.
- Perme, S. 2005. Ugotavljanje učinkovitosti entomopatogenih ogorčič (Rhabditida) za zatiranje nadzemskih škodljivcev vrtnin. Magistrsko delo, Univ. Ljubl., Bioteh. fak.: 89 str.
- Poinar, G. O. 1988. Redescription of *Neoaplectana affinis* Bovien (Rhabditida: Steinernematidae). Revue de Nematology 11: 143-147.
- Schroeder, P. C., Ferguson, C. C., Shelton, A. M., Wilsey, W. T., Hoffmann, M. P., Petzoldt, C. 1996. Greenhouse and field evaluations of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Heterorhabditidae and Steinernematidae) for control of cabbage maggot (Diptera: Anthomyiidae) on cabbage. Journal of economical entomology 89: 1109-1115.
- Schroer, S., Sulistyanto, D., Ehlers, R. U. 2005. Control of *Plutella xylostella* using polymer-formulated *Steinernema carpocapsae* and *Bacillus thuringiensis* in cabbage fields. Journal of applied nematology 129 (4): 198-204.
- Smits, P. S. 1996. Post-application persistence of entomopathogenic nematodes. Biocontrol Science and Technology 6, 379-387.
- Statistični urad Republike Slovenije 2005. (12.1.2007)  
<http://www.stat.si>
- Trdan, S., Vidrih M., Valič N. 2006. Activity of four entomopathogenic nematode species against young adults of *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) under laboratory conditions. Journal of Plant Diseases and Protection, 113: 168-173.
- Weiser, J. 1955. *Neoaplectana carpocapsae* n. sp. (Anguillulata, Steiner-nematidae) nový Cizopasník housenek obatecejableneho *Carpocapsa pomonella* L. Vestník Cesk. Zool. Společnosti 19: 44-52.
- Willmott, D. M., Hart, A. J., Long, S. J., Richardson, P. N., Chandler, D. 2002. Susceptibility of cabbage root fly *Delia radicum*, in potted cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) to isolates of entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis* spp.) indigenous to the UK. Nematology, 4 (8), 965-970.