

PARAZITSKI OGORČICI POLŽEV *Phasmarhabditis papillosa* IN *Oscheius myriophilus* – POTENCIALNA BIOTIČNA AGENSA ZA ZATIRANJE ŠPANSKEGA LAZARJA (*Arion vulgaris*)?

Žiga LAZNIK¹, Ivana MAJIĆ², Stanislav TRDAN³

^{1,3} Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana
² Univerza v Osijeku, Fakulteta za agrobiotehniške znanosti, Oddelek za entomologijo in nematologijo, Osijek

IZVLEČEK

Polži predstavljajo gospodarsko pomembne škodljivce v kmetijstvu, saj s svojim hranjenjem poškodujejo dele rastlin in tako posledično vplivajo na zmanjšan pridelek, okrasno in tržno vrednost rastlin ter povečajo tveganje za okužbo z mikroorganizmi. Za zatiranje polžev se uporabljajo razne nekemijske prakse, limacidi na podlagi železovega (III) fosfata in metaldehida ter biotično varstvo s parazitsko ogorčico *Phasmarhabditis hermaphrodita*. Slednja se v ta namen v tujini uporablja že več let, v Sloveniji pa je še vedno na seznamu tujerodnih organizmov, kar prepoveduje njeno uporabo. V letih 2018 in 2021 smo potrdili zastopanost dveh za Slovenijo novih vrst parazitskih ogorčic polžev *Phasmarhabditis papillosa* Schneider Andrassy in *Oscheius myriophilus* (Poinar). V laboratorijskem poskusu smo preučevali učinkovitost ogorčic na hranjenje in smrtnost španskega lazarja (*Arion vulgaris*) pri različnih temperaturah (15, 20 in 25 °C) in pri različnih koncentracijah suspenzije ogorčic (0, 10, 50, 100, 250, 500 IL/polža). Rezultati so obetavni in kažejo na potencial obeh vrst ogorčic pri zatiranju španskega lazarja. Njuna učinkovitost je močno odvisna od koncentracije suspenzije ogorčic, temperature, časa izpostavljenosti polžev ogorčicam in interakcije teh treh dejavnikov. Največji vpliv gre pripisati temperaturi - višja kot je bila (20 °C) prej so polži prenehali s hranjenjem in poginili. Velik poudarek je tudi na interakciji dejavnikov, saj je koncentracija vplivala na polže zgolj pri višji temperaturi (20 °C). Prav tako ni bilo razlik o učinkovitosti ogorčice med najvišjo (500 IL/polža) in najnižjo (10 IL/polža) koncentracijo, pri temperaturi 20 °C. Posebnost okuženih polžev je bila v njihovem zvižanju za 360° okoli svoje osi in v plašču, ki je uplahnil.

Gljučne besede: španski lazar, zatiranje, biotično varstvo, *Phasmarhabditis papillosa*, *Oscheius myriophilus*

ABSTRACT

SLUG PARASITIC NEMATODES *Phasmarhabditis papillosa* AND *Oscheius myriophilus* – A POSSIBLE BIOLOGICAL CONTROL AGENTS AGAINST THE SPANISH SLUG (*Arion vulgaris*)?

¹ doc. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, e-pošta: ziga.laznik@bf.uni-lj.si

² prof. dr. sc., Vladimira Preloga 1, HR-31000 Osijek, Hrvaška

³ prof. dr. Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana

Slugs are economically important pests in agriculture, as their feeding damages parts of plants and consequently affects the reduced yield, ornamental and market value of plants, and increases the risk of infection with microorganisms. Various non-chemical practices, molluscicides based on iron (III) phosphate and metaldehyde, and biological control with the parasitic nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* are used to control slugs. Abroad, the latter has been used for this purpose for several years, but in Slovenia it is still on the list of non-native organisms, which prohibits its use. In 2018 and 2021, we confirmed the presence of two new species of parasitic nematodes for Slovenia, *Phasmarhabditis papillosa* Schneider Andrassy and *Oscheius myriophilus* (Poinar). We evaluated the efficacy of two slug parasitic nematodes on feeding and mortality of the Spanish slug (*Arion vulgaris*) at different temperatures (15, 20, and 25 °C) and at different concentrations of nematode suspension. The results are promising and indicate the potential of both slug parasitic nematodes against the Spanish slug. The temperature shows the biggest impact – the higher the temperature (20 °C) the sooner the slugs stopped feeding and died. There is also a strong emphasis on the interaction of the factors, as the concentration affected the slugs only at a higher temperature (20 °C). At 20 °C there were also no differences in nematode efficacy between the highest (500 IJs/slug) and lowest (10 IJs/slug) concentration. The peculiarity of the infected slug was in their 360° twisting around their axis and in the mantle that collapsed.

Key words: the Spanish slug, control, biological control, *Phasmarhabditis papillosa*, *Oscheius myriophilus*

194

1 UVOD

Nekatere vrste polžev predstavljajo gospodarsko pomembne škodljivce v kmetijstvu. S svojim hranjenjem poškodujejo tako nadzemske kot tudi podzemne dele rastlin, vključno z listi, poganjki, koreninami, gomolji, plodovi, cvetovi in semeni. Poleg zmanjšanja pridelka, povečajo tveganje za okužbo z mikroorganizmi, zmanjšajo okrasno vrednost rastlin in s tem tudi njihovo tržno vrednost (Khoja in sod., 2019). Španski lazar (*Arion vulgaris*) je invazivna vrsta polža, uvrščena med 100 najbolj invazivnih vrst v Evropi (CABI, 2020). V Sloveniji poznamo 10 vrst polžev iz družine Arionidae, od tega je kar 8 vrst gospodarsko pomembnih, med njimi tudi španski lazar (Knapič in Vaupotič, 2015).

Zmanjšanje tveganj poškodb na rastlinah s pomočjo ne-kemijskih praks in okoljsko sprejemljivih limacidov (železov [III] fosfat) je osnovno načelo integriranega zatiranja polžev. Pomembno je, da polžev ne izkoreninimo popolnoma, temveč zgolj omejimo njihovo škodo na ekonomsko sprejemljivo raven. Pri ekološkem kmetovanju predstavlja zatiranje polžev izziv, saj je uporaba limacidov omejena (Laznik in sod., 2020a,b).

V Sloveniji je trenutno registriranih 21 limacidov v obliki prehranskih vab (MKGP, 2020). Pripravki so na podlagi dveh aktivnih snovi, to sta železov (III) fosfat in metaldehid. Železov (III) fosfat je nestrupen za toplokrvne živali in koristno favno v tleh in je zaradi te lastnosti njegova uporaba dovoljena v ekološki pridelavi. Za aktivno snov metaldehid je bilo ugotovljeno tako ne-ciljno delovanje kot prekomerno izpiranje

v podtalnico, zato njegova uporaba ni dovoljena v ekološki pridelavi (Knapič in Vaupotič, 2015).

Alternativo kemičnemu zatiranju polžev predstavlja biotično varstvo s parazitsko ogorčico *Phasmarhabditis hermaphrodita*. Ogorčica parazitira in ubije več vrst polžev (Biobest, 2020). Za biotično varstvo rastlin se uporablja v naslednjih državah EPPO regije: Belgija, Češka, Danska, Francija, Irska, Italija, Nemčija, Nizozemska, Norveška, Švedska, Švica in Velika Britanija (EPPO, 2020c; BPDB, 2021). V Sloveniji se parazitska ogorčica *P. hermaphrodita* za namene biotičnega zatiranja polžev ne sme uporabljati, saj je na seznamu tujerodnih vrst koristnih organizmov (MKGP, 2019).

Parazitski ogorčici *Phasmarhabditis papillosa* (Schneider) in *Oscheius myriophilus* (Poinar) sta sorodni ogorčici vrsti *P. hermaphrodita*. Do danes je zelo malo znanega o njuni učinkovitosti in morebitni uporabnosti v biotičnem varstvu rastlin. Slovenski raziskovalci smo v letih 2018 in 2021 potrdili njuno zastopnost v Sloveniji in začeli preučevati biotični potencial omenjenih vrst pri zatiranju gospodarsko pomembnih vrst polžev, med drugim tudi španskega lazarja (Laznik in sod., 2020c).

2 MATERIALI IN METODE DELA

2.1 Izolacija ogorčic

195

Laznik in sod. (2020c) so s svojo študijo prvi, ki so dokazali zastopnost ogorčic *P. papillosa* in *O. myriophilus* v Sloveniji in prvi, ki opisujejo napad španskega lazarja (*Arion vulgaris*) z omenjenima ogorčicama. Polže smo nabrali med avgustom in oktobrom leta 2018 v Podbrezju, blizu reke Tržiška Bistrica in ribnika Žeje ter v juniju na območju Ljubljane. Polže smo identificirali z uporabo identifikacijskih kart (Rowson in sod., 2014) in jih po protokolu Pieterse in sod. (2017) secirali z namenom izolacije ogorčic. Ogorčice namenjene molekularni identifikaciji smo dali v 80 % etanol, ogorčice namenjene morfološki identifikaciji pa v TAF (2 % trietanolamin, 8 % formalin, destilirana voda). Ogorčice smo ohranjali v laboratorijski kulturi (*in vivo*) na kadavru zamrznjenega španskega lazarja (*Arion vulgaris*) in jih po 10 dneh očistili s centrifugiranjem najprej enkrat v 5 % natrijevem hipokloridu in pozneje dvakrat v destilirani vodi. S tem postopkom smo pridobili čiste vzorce infektivnih ličink (IL) ogorčic in jih hranili v M9 (3 g KH₂PO₄, 6 g Na₂HPO₄, 0,5 g NaCl, 1 g NH₄Cl v 1 L H₂O) pufru pri 4 °C v hladilniku. Morfološko identifikacijo ogorčic smo opravili s pomočjo mikroskopa, molekularno pa s PCR metodo. Genetske in morfološke študije so potrdile, da izolirani vzorci ogorčic pripadajo vrstam *P. papillosa* in *O. myriophilus*. Sekvenci obeh najdenih vrst v Sloveniji sta bili preverjeni v NCBI Genski banki.

2.2 Nastavitev poskusa

Na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete smo nabrali 720 polžev vrste španski lazar (*A. vulgaris*). Le-ti so bili različnih velikosti in starosti, saj smo želeli poskus čimbolj približati naravnim razmeram (Laznik in sod., 2020c). V poskusu smo uporabili parazitski ogorčici *P. papillosa* in *O. myriophilus*. Parazitski ogorčici smo namnožili »*in vivo*«. Postopek temelji na postopkih uporabljenih pri namnoževanju entomopatogenih ogorčic (Laznik in sod., 2020c). Z ogorčicami, ki so bile predhodno najdene v španskem lazarju in shranjene v hladilniku (Laznik in sod., 2020c), smo okužili žive, zdrave polže. Po

določenem času, ko so okuženi polži umrli, smo jih položili na vlažen filtrni papir in pri tem uporabili metodo »*White trap*«. Iz polža začnejo izhajati ogorčice, ki po vlažnem filtrnim papirju prehajajo v destilirano vodo. Tako smo namnožili ogorčice ter dobili svež material za izvajanje poskusa. Sledila je faza čiščenja ogorčic, pri kateri smo izvedli centrifugiranje in uporabili 5 % natrijev hipoklorat (Laznik in sod., 2020c). Temu je sledila še druga in tretja faza čiščenja, pri čemer smo za čiščenje uporabili destilirano vodo. Z omenjenim postopkom smo pridobili infektivne ličinke. Suspenzijo smo nato z metodo pipetiranja v kombinaciji z razredčevanjem pripravili do željenih koncentracij (0, 10, 50, 100, 250, 500 IL/polža), ki smo jih uporabili v poskusu.

Poskus je potekal v steklenih petrijevkah ($\varnothing = 9\text{cm}$), kamor smo dali košček sveže solate (vir hrane) in košček papirnate brisače, pomočene v vodo (vir vode). Petrijevke smo ustrezno označili in polže tretirali z 1 mL izbrane koncentracije. Polže smo postavili v gojitveno komoro (tip: RK-900 CH, proizvajalec Kambič laboratorijska oprema d.o.o., Semič). Poskus je potekal pri treh temperaturah; 15, 20 in 25 °C ter 75 % relativni zračni vlagi. Vsako obravnavanje je bilo ponovljeno 20 krat. Pri obravnavanju 0 IL/polža (kontrola) smo polže tretirali z 1 mL navadne vode. Poskus je trajal 28 dni, vsak dan smo pregledali in beležili podatke o sposobnosti hranjenja in smrtnosti polžev, vsak drugi dan zamenjali solato in po potrebi tudi vir vode.

2.3 Statistična analiza

Petrijevke smo iz komore vzeli po vsakem dnevu in preverili umrljivost in sposobnost prehranjevanja polžev glede na različna obravnavanja (0, 10, 50, 100, 250, 500 IL/polža). Zaradi lažje in bolj pregledne obdelave podatkov smo se odločili, da bomo v analizo vključili le podatke po 0, 7, 14, 21 in 28 dneh po nastavitvi poskusa. Vrednosti smo primerjali z uporabo analize multifaktorske variance (ANOVA). Tipični vedenjski odzivi lazarjev med poskusom so bili razvrščeni glede na štiri možne dogodke (Preglednica 1). Številke, uporabljene za indeksiranje dogodkov, so bile uporabljene za količinsko določitev analize. Za izvedbo analize podatkov so bile te vrednosti indeksa uporabljene kot vrednosti spremenljivke odziva "dogodek". Na primer, če je polž v poskusu pojedel list, je bila vrednost dogodka 100 (Preglednica 1). Za oceno razlik v vedenjskem odzivu na različna obravnavanja (0, 10, 50, 100, 250, 500 IL/polža) je bila izvedena dvosmerna analiza variance (ANOVA). Pred analizo smo vsako spremenljivko testirali (vrsta, obravnavanje, temperatura) na homogenost variance in vrednosti. Za analizo razlik med povprečjem posameznih sredstev za tretiranje smo uporabili Duncanov test ($\alpha=0,05$). Celotna statistična analiza je bila izvedena s pomočjo programa Statgraphics Plus za Windows 4.0 (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc., Rockville, Maryland, USA). Grafe smo naredili z računalniškim orodjem MS Office Excel 2010. Dobljene vrednosti smo prikazali kot povprečje \pm standardna napaka.

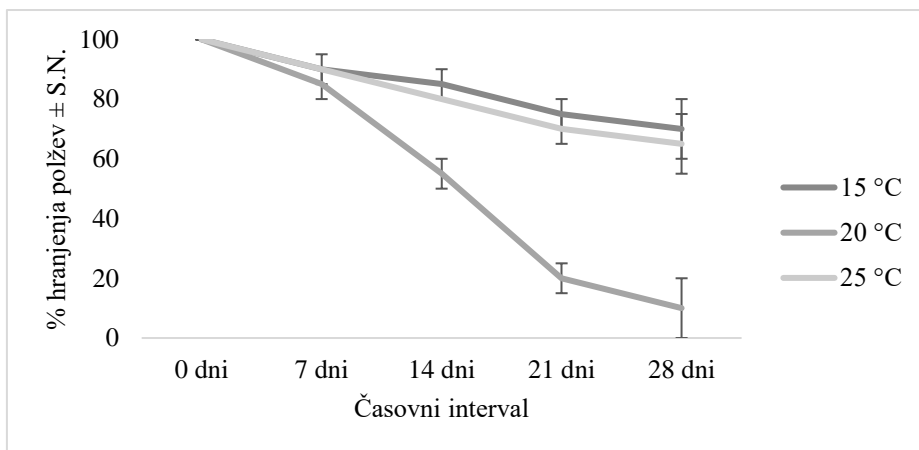
Preglednica 1: Vrednotenje dogodkov

Opis dogodka	Indeks dogodka (%)
Polž je živ.	0
Polž je mrtev.	100
Polž je jedel.	100
Polž ni jedel.	0

3 REZULTATI

3.1 *Phasmarhabditis papillosa*

Rezultati poskusa so pokazali, da okužba španskega lazarja z ogorčico vrste *P. papillosa* vpliva na njegovo stopnjo hranjenja. Kot je razvidno iz slike 1, se je hranjenje polžev zmanjšalo že prvi teden po okužbi. Najboljši rezultati so bili doseženi pri temperaturi 20 °C, kjer se je s solato po dveh tednih hranilo le še 55 % okuženih polžev, po enem mesecu pa zgolj še 10 % (slika 1). Koncentracija suspenzije ogorčic ni vplivala na stopnjo hranjenja polžev.

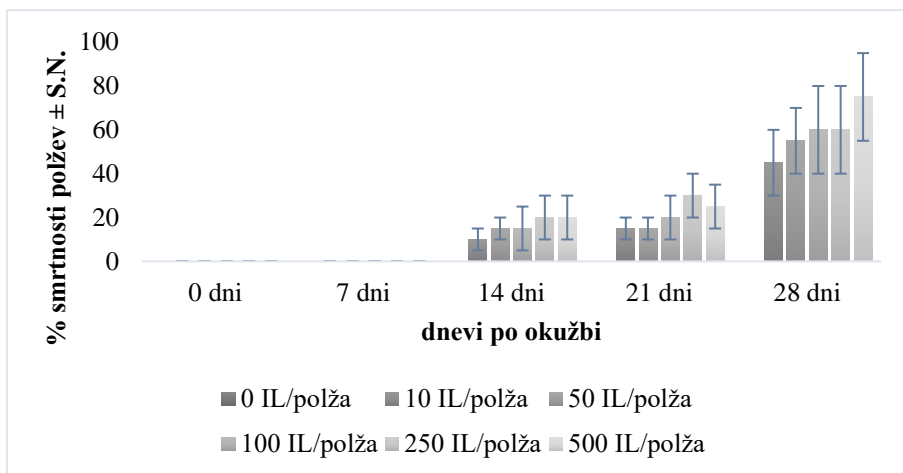


Slika 1: Vpliv na hranjenje po okužbi španskega lazarja z ogorčico *P. papillosa*.

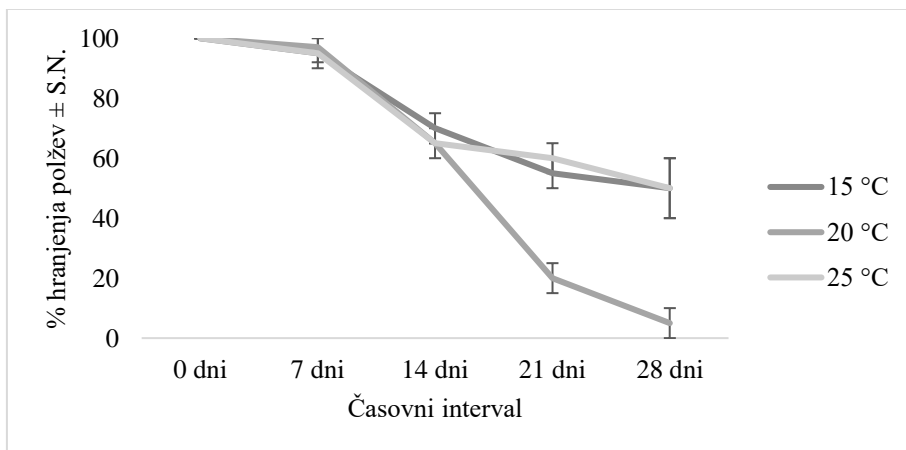
Smrtnost polžev po okužbi z ogorčico vrste *P. papillosa* je pogojena s temperaturo. Pri temperaturah 15 in 25 °C nismo ugotovili smrtnosti polžev v poskusu. Pri temperaturi 20 °C smo smrtnost polžev zabeležili dva tedna po okužbi z ogorčicami. Po enem mesecu je poginilo v povprečju več kot 50 % okuženih polžev z ogorčico *P. papillosa* (slika 2). Koncentracija suspenzije ogorčic ni vplivala na smrtnost polžev.

3.2 *Oscheius myriophilus*

Rezultati poskusa so pokazali, da okužba španskega lazarja z ogorčico vrste *O. myriophilus* vpliva na njegovo stopnjo hranjenja. Kot je razvidno iz slike 3, se je hranjenje polžev zmanjšalo že prvi teden po okužbi. Najboljši rezultati so bili doseženi pri temperaturi 20 °C, kjer se je s solato po dveh tednih hranilo le še 40 % okuženih polžev, po enem mesecu pa zgolj še 10 % (slika 3). Koncentracija suspenzije ogorčic ni vplivala na stopnjo hranjenja polžev.

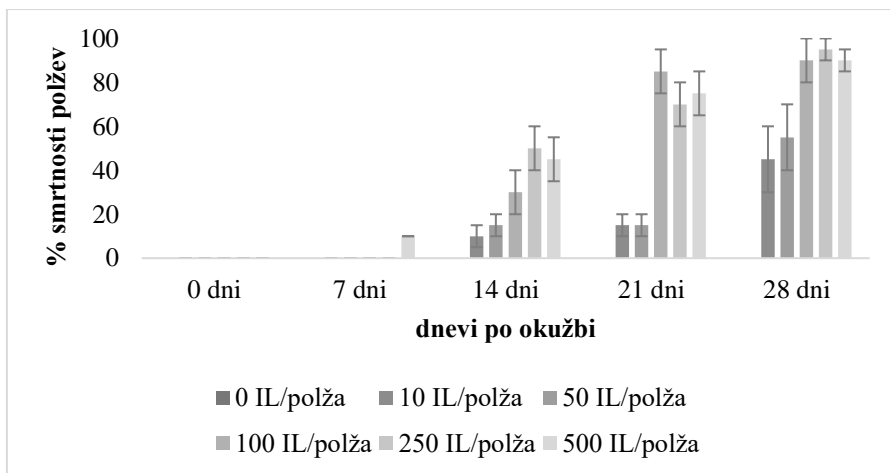


Slika 2: Vpliv na smrtnost španskega lazarja po okužbi z ogorčico *P. papillosa*.



Slika 3: Vpliv na hranjenje po okužbi španskega lazarja z ogorčico *O. myriophilus*.

Smrtnost polžev po okužbi z ogorčico vrste *O. myriophilus* je pogojena s temperaturo. Pri temperaturah 15 in 25 °C nismo ugotovili smrtnosti polžev v poskusu. Pri temperaturi 20 °C smo smrtnost polžev zabeležili že prvi teden po okužbi z ogorčicami. Po enem mesecu je poginilo v povprečju več kot 75 % okuženih polžev z ogorčico *O. myriophilus* (slika 4). Koncentracija suspenzije ogorčic je vplivala na smrtnost polžev. Najboljšo učinkovitost so pokazale koncentracije 100, 250 in 500 IL/polža.



Slika 4: Vpliv na smrtnost španskega lazarja po okužbi z ogorčico *O. myriophilus*.

4 DISKUSIJA

199

Biotično varstvo s parazitsko ogorčico *Phasmarhabditis hermaphrodita* predstavlja alternativo kemičnemu zatiranju. V tujini se za biotično varstvo *P. hermaphrodita* uporablja že dlje časa, v Sloveniji pa je omenjena vrsta ogorčice na seznamu tujerodnih vrst organizmov in se je na prostem zakonsko ne sme uporabljati za namene biotičnega varstva (MKGP, 2019). Pravilnik o biotičnem varstvu rastlin v Sloveniji dovoljuje za namene biotičnega varstva le uporabo domorodnih vrst koristnih organizmov. V letih 2018 in 2021 so slovenski raziskovalci potrdili zastopanost dveh parazitskih ogorčic v Sloveniji - *Phasmarhabditis papillosa* in *Oscheius myriophilus* (Laznik in sod., 2020c). O obeh vrstah je zelo malega znano, kako vplivata na inhibicijo hranjenja in smrtnost polžev. Glede na navedbe avtorjev (Glen in sod., 2000; Grewal in sod., 2001) ima na učinkovitost ogorčic, torej na inhibicijo hranjenja in posledično smrtnost polžev, velik vpliv temperatura in koncentracija suspenzije ogorčic. Tako smo predvidevali, da prej omenjeni vrsti ogorčic nista izjemi in smo preučevali učinkovitost njenega delovanja pri različnih temperaturah (15, 20 in 25 °C) in pri različnih koncentracijah suspenzije ogorčic (0, 10, 50, 100, 250, 500 IL/polža). Ciljna vrsta, ki smo jo zatirali v poskusu je bila španski lazar.

V naši raziskavi smo ugotovili, da so na smrtnost polžev vplivali različni dejavniki; koncentracija suspenzije ogorčic, temperatura, čas in interakcija teh treh dejavnikov. Rezultati raziskave so pokazali visoko stopnjo smrtnosti španskega lazarja pri 20 °C. Po enem mesecu je poginilo v povprečju več kot 50 % okuženih polžev z ogorčico *P. papillosa* in 75 % okuženih polžev z ogorčico *O. myriophilus*. Izredno velik poudarek je na interakciji dejavnikov, saj so le-ti močno vplivali drug na drugega in posledično na smrtnost polžev. Pri temperaturi 20 °C koncentracija ogorčic vpliva na smrtnost polžev, pri nižji (15 °C) in višji temperaturi pa tega vpliva ni.

Wilson in sod. (1993) opisujejo otekanje plašča kot značilen znak okužbe. V naši raziskavi je plašč okuženih polžev uplahnil, prav tako so se polži zvijali za 360° okoli svoje osi in prenehali s hranjenjem. Slednje je po mnenju Glen in sod. (2000) bistveni uspeh ogorčice v biotičnem varstvu. Iz raziskave je razvidno, da imata obe vrsti ogorčic potencial v zatiranju lazarjev. Potrebne so nadaljnje raziskave, predvsem terenske, da bi raziskali, kako bi ogorčice učinkovale v zunanjih pogojih, ko dnevne temperature nihajo. Prav tako je potrebno raziskati vpliv ogorčic na druge koristne organizme in živali, ter način aplikacije.

5 ZAHVALA

Delo je potekalo v okviru projektov J4-3090, P4-0431 in BI-HR/20-21-035 (bilateralno znanstveno-raziskovalno sodelovanje med Slovenijo in Hrvaško), ki jih financira Agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije. Del te raziskave je bil financiran v okviru programa Strokovne naloge s področja varstva rastlin, ki ga financira Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano Fitosanitarne uprave RS. Posebna zahvala gre Nini Škufca Turk, Evi Košak, Evi Metelko in Jaki Rupniku za tehnično pomoč.

6 LITERATURA

- Biobest. 2020. Phasmarhabditits-System.
<http://www.biobestgroup.com/en/biobest/products/biological-pest-control-4463/beneficial-nematodes-4487/phasmarhabditis-system-4624/> (22. apr. 2020)
- BPDB. 2020. *Phasmarhabditis hermaphrodita*.
<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/bpdb/Reports/1990.htm#none> (13. feb. 2021)
- EPPO PM 6/3. Safe use of biological control, list of biological control agents widely used in the EPPO region. 2020c: 25 str.
- Glen D. M., Wilson M. J., Brain P., Stroud G. 2000. Feeding Activity and Survival of Slugs *Deroceras reticulatum*, Exposed to the Rhabditid Nematode, *Phasmarhabditis hermaphrodita*: A Model of Dose Response. *Biological Control*, 17: 73-81
- Grewal P. S., Grewal S. K., Taylor R. A. J., Hammond R. B. 2001. Application of molluscicidal nematodes to slug shelters: a novel approach to economic biological control of slugs. *Biological Control*, 22: 72-80
- Khoja S., Eltayef K. M., Baxter I., Bull J. C., Loveridge E. J., Butt T. 2019. Fungal volatile organic compounds show promise as potent molluscicides. *Pest Management Science*, 75, 12: 3392-3404
- Knapič V., Vaupotič M. 2015. Pristop k obvladovanju prereznožitve golih polžev iz rodu *Arion*. 12. Slovensko posvetovanje o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo. Ptuj, 3. - 4. marec 2015. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 94-102
- Laznik Ž., Bohinc T., Franin K., Majič I., Trdan S. 2020a. Efficacy of invasive alien plants in controlling Arionidae slugs. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 18, 1: e1001. DOI: 10.5424/sjar/2020181-15542: 13 str.
- Laznik Ž., Majič I., Horvat A., Trdan S. 2020b. Contact Efficacy of Different Wood Ashes against Spanish Slug, *Arion vulgaris* (Gastropoda: Arionidae). *Applied Sciences-Basel*, 10, 23: 8564. DOI: 10.3390/app10238564
- Laznik Ž., Majič I., Trdan S., Malan A. P., Pieterse A., Ross J. L. 2020c. Is *Phasmarhabditis papillosa* (Nematoda: Rhabditidae) a possible biological control agent against the Spanish slug, *Arion vulgaris* (Gastropoda: Arionidae)? *Nematology*, 0: 1-9
- MKGP. 2019. Seznam tujerodnih vrst organizmov za biotično varstvo rastlin.
- MKGP. 2020. Seznam registriranih fitofarmacevtskih sredstev na dan 23.11.2020.
- Pieterse A., Tiedt L. R., Malan A. P., Ross J. L. 2017. First record of *Phasmarhabditis papillosa* (Nematoda: Rhabditidae) in South Africa, and its virulence against the invasive slug, *Deroceras panormitanum*. *Nematology*, 19: 1035-1050

- Rowson B., Anderson R., Turner J. A., Symondson W. O. C. 2014. The Slugs of Britain and Ireland: Undetected and Undescribed Species Increase a Well-Studied, Economically Important Fauna by More Than 20 %. PLoS ONE, 9, 3: e91907. DOI: 10.1371/journal.pone.0091907
- Wilson M. J., Glen D. M., George S. K. 1993. The Rhabditid Nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* as a Potential Biological Control Agent for Slugs. Biocontrol Science and Technology, 3: 503-511