

Agrovoc descriptors: plant nematodes, parasites, hosts, pests of plants, biological control, slugs, noxious molluscs, identification, taxonomy, biological control organisms, pest control

Agris category code: H10

Parazitske ogorčice polžev

Žiga LAZNIK¹, Stanislav TRDAN²

Delo je prispelo 3. novembra 2008, sprejeto 3. aprila 2009.

Received November 3, 2008; accepted April 3, 2009.

IZVLEČEK

V prispevku je predstavljen pomen, način delovanja in razvojni krog parazitskih ogorčic polžev, ki so lahko pomembni naravni sovražniki polžev slinarjev (Limacidae) in lazarjev (Arionidae). Polži so na različnih območjih sveta gospodarsko pomembni škodljivci gojenih rastlin, uporaba parazitske ogorčice *Phasmarhabditis hermaphrodita* pa predstavlja za njihovo zatiranje eno od najpomembnejših alternativ kemičnim limacidom. V biotičnem varstvu rastlin so parazitske ogorčice polžev manj preučene kot entomopatogene ogorčice, vendar so bile v zadnjih dveh desetletjih izvedene številne raziskave, s katerimi želijo raziskovalci natančneje preučiti njihov pomen.

Ključne besede: parazitske ogorčice polžev, *Phasmarhabditis hermaphrodita*, biotično varstvo

ABSTRACT

SLUG-PARASITIC NEMATODES

Importance, mode of action and developmental cycle of slug-parasitic nematodes, which can be important biological control agents of slugs from Limacidae and Arionidae families – are presented in the paper. In different parts of the world slugs are economically important pest of cultivated plants, while the use of slug-parasitic nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* is one of the most important alternative for chemical limicides. Until now slug-parasitic nematodes were less investigated as biological control agents compared to entomopathogenic nematodes. In last twenty years many researches had been done with the aim to study their importance more accurately.

Key words: slug-parasitic nematodes, *Phasmarhabditis hermaphrodita*, biological control Glomeromycota, RFLP, t-RFLP, TGGE, DGGE, PLFA

1 UVOD

Mehkužci ali moluski, kamor uvrščamo polže, so nečlenaste živali, katerih telo je deljeno na mišičasto nogo ter drobovnjak, ki ga največkrat pokriva apnenčasta lupina. Med mehkužce uvrščamo polže (tudi gole), školjke in glavonožce. Polži (Gastropoda) so mehkužci z nesimetrično zgradbo telesa. So največja in tudi v vseh pogledih najbolj raznolika skupina mehkužcev, saj živijo tako v morju, sladkih vodah kot tudi na kopnem. Polže na grobo delimo na tiste z hišico (veliki polži – Helicidae) in na tiste, ki hišice nimajo (lazarji – Arionidae) (Velkovrh, 2003).

Številne vrste polžev so znani gospodarsko pomembni škodljivci v kmetijstvu (Ohlendorf, 1999; Barker, 2001). Parazitirati jih morejo različne vrste ogorčic (Mengert, 1953; Morand *et al.*, 2003; Grewal *et al.*, 2003a), vendar pa se je doslej v biotičnem varstvu rastlin pred polži uveljavila le vrsta *Phasmarhabditis hermaphrodita* (Schneider) (Wilson in Grewal, 2005). V

Avstraliji so v povojih poskusi uporabe nekaterih drugih vrst ogorčic (Rhabditida in Cephalobida) za zatiranje polžev (Charwat in Davies, 1999; Charwat *et al.*, 2000), vendar je še prezgodaj, da bi lahko iz rezultatov teh raziskav potegnili nove smernice v biotičnem zatiranju polžev z ogorčicami.

Vrsto *P. hermaphrodita* je mogoče v Veliki Britaniji dobiti na tržišču kot biotični pripravek Nemaslug® že od leta 1994. Od tam se je prodaja pripravkov z imenovano vrsto ogorčice kot aktivno snovjo do danes razsirila v številne druge Evropske države (Wilson in Grewal, 2005). Parazitske ogorčice polžev so v primerjavi z entomopatogenimi ogorčicami (EPO) mnogo manj preučene, zelo malo pa je znanega o njihovi bionomiji, širjenju, kot tudi o njihovi povezavi z bakterijami in različnimi gostitelji (Wilson in Grewal, 2005).

¹ Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana, e-mail: ziga.laznik@bf.uni-lj.si

² Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana, e-mail: stanislav.trdan@bf.uni-lj.si

2 ZGODOVINA PREDSTAVNIKOV IZ RODU *PHASMARHABDITIS*

Vrsta *P. hermaphrodita* je bila prvič opisana že leta 1859, ko je Schneider ogorčico našel v polžu *Arion ater* (L.). Prva najdba EPO sicer datira šele v leto 1923, vendar so se številni raziskovalci zaradi manj specifičnega delovanja raje odločili za preučevanje te skupine ogorčic. Te so zato danes mnogo bolj preučene kot parazitske ogorčice polžev (Wilson in Grewal, 2005).

Leta 1900 (Maupas) je sledila prva raziskava o razvoju in razmnoževanju vrste *P. hermaphodita*. Za to vrsto so potrdili protandrij (hitrejši razvoj moških spolnih organov, kar pripelje do samooploditve in pojava hermafroditov – avtogramija) in dejstvo, da se v razvojnem krogu ogorčice samice pojavljajo bolj številno kot samci (razmerje 715:1). Leta 1953 je Mengert postavil hipotezo, da se vrsta *P. hermaphrodita* pojavlja le v kopenskih polžih. Vsi zgoraj našteti avtorji

so sicer sklepali, da je vrsta *P. hermaphrodita* v njenem razvoju povezana s polži, vendar ni nihče postavil hipoteze o parazitiranju (Wilson in Grewal, 2005).

Mengert (1953) je sklepal, da lahko tri sorodne vrste ogorčic, *Phasmarhabditis hermaphrodita*, *P. neopapillosa* (Mengert in Osche) in *P. papillosa* (Schneider), živijo v polžih v stadiju dormantnih ličink (angl. dauer juveniles) dokler gostitelj ne umre; vendar pa da same ne povzročijo smrti polžev (izključuje parazitizem). Leta 1993 je Wilson patentiral uporabo ogorčic iz rodu *Phasmarhabditis* (vrsta *P. hermaphrodita*) za zatiranje gospodarsko pomembnih polžev. Pripravek so patentirali pod uradnim imenom Nemaslug® (Wilson in Grewal, 2005). Po patentiranju tega pripravka so sledili številni poskusi, vendar se njihovo število še zdaleč ne more primerjati s tistim, ki ga raziskovalci širom sveta izvajajo z EPO.

3 TAKSONOMSKA SORODNOST

V obdobju 1950-1990 je bilo objavljenih le nekaj raziskav, ki so obravnavale taksonomijo parazitskih ogorčic polžev (Osche, 1954; Andrassy, 1983). Leta 1983 (Andrassy) je izšel obširen pregledni članek o podredu Rhabditina, v katerem je avtor predlagal vključitev novega rodu *Phasmarhabditis*. Rod vključuje pet različnih vrst ogorčic, vendar živijo v povezavi s polži zgolj tri vrste; *P. papillosa*, *P. neopapillosa* in *P. hermaphrodita*. Posamezne vrste se med seboj ločijo po oblikah repa (Andrassy, 1983).

Predstavnike vrst *P. neopapillosa* in *P. hermaphodita* ni mogoče ločiti na podlagi morfoloških znakov, ločiti jih je mogoče glede na število samcev v populaciji. V populaciji vrste *P. neopapillosa* je razmerje med samci in

samicami podobno, medtem ko je pri vrsti *P. hermaphrodita* pojav samcev zelo redek (Andrassy, 1983). Hooper et al. (1999) so preučevali morfologijo omenjenih vrst, razlike med njima pa so ugotavljali tudi s proteinsko elektroforezo. Ugotovili so, da morfoloških razlik med vrstama ni, proteinska elektroforeza pa je pokazala na statistično značilne razlike v mobilnosti encima fosfoglukoz-a-izomeraza. Ker velja izoenzimska elektroforeza za učinkovito metodo identifikacije in razlikovanja posameznih vrst (Dalmasso in Bergé, 1983), so avtorji zaključili, da gre za obstoj dveh različnih vrst. Za razliko od EPO, trenutno za različne vrste ogorčic iz rodu *Phasmarhabditis* še ne obstaja knjižnica DNA sekvenc (Wilson in Grewal, 2005).

4 RAZVOJNI KROG

Življenski krog ogorčic iz rodu *Phasmarhabditis* je slabo preučen. Doslej so raziskovalci razdelili razvojni krog parazitskih ogorčic polžev v tri sklope: saprobiontski, nekromenični in parazitski (Wilson in Grewal, 2005).

4.1 Saprobiontski razvojni krog

Maupas (1900) je gojil ogorčico *Phasmarhabditis hermaphrodita* na razpadajočem mesu dve leti, s čimer je želetel dokazati obstoj saprobiontskega razvojnega kroga. Tan in Grewal (2001a) sta dokazala, da se ogorčice lahko razvijajo tako v polžih, kot tudi v njihovih izločkih. S tem sta postavila hipotezo o saprobiontskem razvojnem krogu parazitskih ogorčic

polžev. Za razliko od EPO, se vrsta *P. hermaphrodita* lahko razmnožuje na širokem spektru bakterij (Wilson et al., 1995a). Če naleti dormantna ličinka (DI) v tleh na mrtvega nevretenčarja, se lahko v njem razmnožuje saprobiontsko (Wilson in Grewal, 2005). Ta lastnost preučevane vrste ogorčic je pripeljala Tana in Grewala (2001a) na idejo, da lahko vrsta *P. hermaphrodita* preživi v tleh tudi tedaj, ko nima na voljo živilih gostiteljev in bi bila njena uporaba v biotičnem varstvu rastlin pred polži učinkovita tudi v daljšem časovnem obdobju. To lastnost bioagensa bi lahko uporabili predvsem v posevkih koruze, žita in oljnic, na katerih povzročajo polži pridelovalcem precejšnje težave. Glavna hiba, ki doslej ni bila v prid širši uporabi tega

agensa, pa je prav tako kot pri ostalih biotičnih pripravkih, visoka cena. To zmanjšuje gospodarnost pridelave njegove širše implementacije v sisteme pridelave živeža (Wilson in Grewal, 2005).

4.2 Nekromenični razvojni krog

Ta tip razvojnega kroga sta prvič preučevala Maupas (1900) in Mengert (1953). Mengert (1953) je ugotovil, da lahko dormantna ličinka po vstopu v polža v njem preživi brez nadaljnjega razvoja, in sicer vse doletje, dokler polž ne pogine. Nato se začne ličinka hraniti z njim. Dormantne ličinke so v takšnem stanju predvsem v polževem plašču, telesu ali v prebavnem traktu. Poznejše raziskave so pokazale, da v večjih osebkih ogorčica *P. hermaphrodita* ne more razviti parazitskega razvojnega kroga, temveč le nekromeničnega (Wilson in Grewal, 2005).

4.3 Parazitski razvojni krog

To obliko razvojnega kroga so Wilson *et al.* (1993a) ter Tan in Grewal (2001a) preučevali predvsem na polžu *Deroceras reticulatum* (Müller). Ugotovili so, da je primarna pot vstopa dormatnih ličink ogorčic v polža

prek dorzalnega integumenta vrečke, skozi kratek kanal v votlino plašča. V samem polžu se ogorčica razvija in razmnožuje. Po infekciji se razvije na polžu značilna oteklina na hrbtni strani. Ob močnem napadu ogorčic se le-te razširijo po celotnem telesu polža. Če je napad šibkejši, so ogorčice razširjene zgolj pod polžjo hišico.

Vrsta *P. hermaphrodita* razvije v prvem rodu od 250 do 300 potomcev, ki se nato prek drugega rodu razširijo po celotnem telesu polža. Ob koncu drugega rodu ogorčic polž navadno umre, tretji rod ogorčic pa se nato razvija v kadavru. Ob koncu tretjega rodu se razvije novi rod dormantnih ličink, ki v teh počakajo na novega gostitelja (Tan in Grewal, 2001a). Smrt polža nastopi v 4 do 21 dneh, v odvisnosti od temperature in stopnje izpostavljenosti različnemu številu ogorčic na začetku. Po okužbi z ogorčico se polž preneha prehranjevati (Glen *et al.*, 2000; Grewal *et al.*, 2001, 2003b). To dejstvo je zelo pomembno, saj se biotično zatiranje polža, kljub tega da ta ne umre takoj, začne že takoj po vstopu ogorčic vanj.

5 GOSTITELJSKE VRSTE

Vse dosedanje raziskave (Wilson *et al.*, 1993a; Coupland, 1995; Glen *et al.*, 1996; Grewal *et al.*, 2003b) so potekale v želji, da bi ugotovili, ali lahko ogorčica, ki je že parazitirala njenega gostitelja, ponovno parazitira novega. Na drugi strani so bile izjemno redke raziskave ugotavljanja, ali se v neobčutljivih (rezistentnih) polžih ogorčice pojavljajo v nekromeničnem razvojnem krogu, oziroma kaj je tisti dejavnik, ki preprečuje uspešnost parazitiranja vrste *P. hermaphrodita* (Wilson in Grewal, 2005).

Wilson *et al.* (1993a) so dokazali, da je v visokih koncentracijah ($1,9 \times 10^4$ /polž) vrsta *P. hermaphrodita* učinkovita pri zatiranju naslednjih vrst polžev: *D. reticulatum*, *D. panormitanum* (Lessona & Pollonera), *A. silvaticus* Lohmander, *A. distinctus* Mabille, *A. intermedius* Normand, *A. ater*, *Tandonia budapestensis* (Hazay) in *T. sowerbyi* (Férussac). Raziskava ni pokazala, da bi bilo zatiranje vseh naštetih vrst tudi gospodarno. Grewal *et al.* (2003b) poročajo, da je vrsta *P. hermaphrodita* pri nizki koncentraciji suspenzije ogorčic (300-2700 infektivnih ličink/polž) povzročila signifikantno stopnjo smrtnosti polžev *D. reticulatum*, *D. leave* (Müller) in *Leidyula floridana* (Leidy), tako v

laboratorijskih razmerah, kot tudi v poskusih na prostem. Za nekatere vrste polžev je znano, da so občutljivi na infektivne ličinke ogorčic, medtem ko na njihove druge razvojne stadije niso (Glen *et al.*, 1996). To so dokazali pri vrstah *Helix aspersa* (Müller) (Glen *et al.*, 1996), *A. lusitanicus* Mabille (Speiser *et al.*, 2001; Grimm, 2002) in *A. hortensis* Férussac (Grewal *et al.*, 2003b). Grewal *et al.* (2003b) zaključujejo, da vstopi ogorčica *P. hermaphrodita* v nekromenični razvojni krog v polžih *A. subfuscus* (Draparnaud) in *Limax maximus* L., če je število infektivnih ličink pri obeh vrstah manjše od 10.

Coupland (1995) je v laboratorijskih poskusih dokazal, da povzroči vrsta *P. hermaphrodita* pri nizki koncentraciji suspenzije (300 DI/polž) smrtnost štirih vrst polžev, ki veljajo za najbolj škodljive v Avstraliji; *Theba pisana* (Müller), *Cernuella virgata* (Da Costa), *Cochlicella acuta* (Müller) in *C. barbara* (L.). Wilson *et al.* (2000) so poskus nadaljevali na prostem in s petkratnim tretiranjem s predpisano koncentracijo prišli do sklepa, da ogorčica *P. hermaphrodita* zadovoljivo deluje le na vrsto *Cepaea hortensis* Müller, ki pa je Coupland (1995) ni vključil v laboratorijski poskus.

6 POVEZAVA PARAZITSKIH OGORČIC POLŽEV Z BAKTERIJAMI IN MEHANIZMI PATOGENOSTI

Malo je znanega o povezavi vrste *P. hermaphrodita* z bakterijami v naravnem okolju. Zaradi podobnosti med

EPO in parazitskimi ogorčicami polžev številni znanstveniki zaključujejo, da je rast in razmnoževanje

ogorčic v polžu rezultat njihovega simbiotskega odnosa z bakterijami (Wilson *et al.*, 1995ab).

Wilson (2002) je iz dormantnih ličink vrste *P. hermaphrodita* ter kadavrov polžev pridobil več kot 100 bakterijskih izolatov; le trinajstim bakterijam je bilo mogoče določiti vrstno pripadnost. Največjo sposobnost namnoževanja so dosegli pri bakterijah *Providencia rettgeri*, *Moraxella osloensis* in pri dveh izolatih bakterije *Pseudomonas fluorescens*. Vse zgoraj naštete bakterije so bile vključene v t.i. kompleks ogorčica/bakterija, vendar sta se zgolj kombinaciji ogorčice *P. hermaphrodita* z bakterijama *M. osloensis* in *P. fluorescens* izkazali kot patogeni (Wilson *et al.*, 1995b). Nobena od dveh vrst bakterij po 16-urnem namnoževanju v petrijevkah pri 25 °C, brez zastopanosti ogorčice, po vbrizgu v polža *D. reticulatum* ni bila patogena.

Tan in Grewal (2001b) sta odkrila, da je bakterija *M. osloensis* po 48-urnem namnoževanju v petrijevkah virulentna za polža *D. reticulatum*. Študije so pokazale, da pri parazitskih ogorčicah polžev ni značilne specifične simbioze z bakterijami, kot to velja pri EPO. Pomanjkanje bakterijske specifičnosti pri vrsti *P. hermaphrodita* je najverjetnejše v povezavi s prepustno kutikulo. Delovanje EPO je namreč usmerjeno

predvsem v vstopanje ogorčic skozi naravne odprtine v telo gostitelja, pri čemer je zunanjega kutikula nepoškodovana. To EPO omogoča tudi boljše antimikrobnino delovanje, saj ni nevarnosti za vdor talnih mikroorganizmov v kadaver. Pri parazitskih ogorčicah polžev je delovanje usmerjeno predvsem na kadaver, kjer je zunanjega kutikula mnogo bolj prepustna in s tem je antimikroben potencial bakterij manjši (Wilson in Grewal, 2005).

Vse nadaljnje raziskave so se usmerile predvsem na bakterijsko-ogorčični kompleks med vrstama *M. osloensis* in *P. hermaphrodita*. Ugotovljeno je bilo, da ima bakterija zelo pomembno vlogo pri stopnji patogenosti ogorčic (Tan in Grewal, 2001b, 2002, 2003). Ogorčice, ki v svojem telesu ne prenašajo bakterij, so v stopnji patogenosti slabše od onih, kjer so bakterije zastopane. Število živih bakterij v ogorčicah je odvisno od starosti infektivnih ličink, saj starejše ogorčice prenašajo manjše številno viabilnih celic (Tan in Grewal, 2001b). Tan in Grewal (2002) poročata, da bakterija *M. osloensis* proizvaja topotorno odporen endotoksin - visoko toksično snov za polže. Endotoksin je sestavljen iz lipopolisaharidov. Čisti liposaharidi so za polže letalni, predvsem, če pridejo v hemolimfni sistem; njihova LD₅₀ vrednost znaša 48 µg/polža (Tan in Grewal, 2002).

7 PROIZVODNJA IN FORMULACIJA PRIPRAVKOV

Razlog, ki je omogočal prihod vrste *P. hermaphrodita* na trg z biotičnimi pripravki, je v dejstvu, da je tehnologija masovne proizvodnje te vrste skoraj identična tisti pri EPO. Wilson *et al.* (1993b) so dokazali, da je mogoče vrsto *P. hermaphrodita* gojiti na sterilnem gojišču s trdim agarjem (ta temelji na metodi Beddinga [1984]), kot tudi na tekočem gojišču. Donos gojenja ogorčic na kulturi z enim mikroorganizmom je bil 100.000 IL/ml (Wilson *et al.* 1995). Večje število

infektivnih ličink v formulaciji pa je mogoče doseči s predhodnim centrifugiranjem (Young *et al.*, 2002). Ogorčice je mogoče shranjevati v različnih tipih vermkulita, pa tudi v polimerskih in glinenih formulacijah. Življenska doba tako hraničenih ogorčic je nižja kot pri EPO iz rodu *Steinernema*, podobna pa je onim iz rodu *Heterorhabditis*. Pripravke na podlagi parazitskih ogorčic polžev moramo hraniti v hladilniku.

8 DELOVANJE NA NECILJNE ORGANIZME

Malo je znanega o delovanju vrste *P. hermaphrodita* na neciljne organizme. Številne vrste polžev veljajo za rastlinske škodljivce v različnih območjih sveta, vendar pa obstajajo tudi koristne vrste polžev (Kerney in Stubbs, 1980). Zato se poraja vprašanje ali bi lahko imela vrsta *P. hermaphrodita* ob masovni uporabi negativen vpliv na koristne vrste polžev. Wilson *et al.* (2000) je v laboratorijskih razmerah testiral delovanje ogorčice *P. hermaphrodita* na sedem koristnih vrst polžev in ugotovil, da ogorčica »uspešno«, to je neciljno, deluje na polža *C. hortensis* in *Monacha cantiana* (Montagu). Ko pa je poskus ponovil na prostem, takšnega vpliva ni bilo mogoče potrditi. Številne vrste polžev ne živijo v tleh, ampak na

rastlinah, zato je pri njih stopnja tveganja napada ogorčice *P. hermaphrodita* manjša (Mengert, 1953).

Za vrsto *P. hermaphrodita* je znano, da ni nevarna za talne žuželke. Tako so Wilson *et al.* (1994) preizkusili to ogorčico pri zatiranju hroščev *Zophobas morio* (F.) in *Tenebrio molitor* L. in dokazali, da omenjeni vrsti nista občutljivi na njen napad. Wilson *et al.* (1993d) pa poročajo, da v laboratorijskih razmerah tudi vrsta *Pterostichus melanarius* (Illiger) pri uporabi visokih koncentracij suspenzije ogorčice *P. hermaphrodita* ni bila občutljiva.

Deževniki so pomemben sestavni del talne favne. Dokazano je bilo, da vrsta *P. hermaphrodita* lahko

parazitira deževnika *Lumbricus terrestris* (L.) (Zaborski et al., 2001). Številni nadaljnji poskusi so pokazali, da ogorčice iz rodu *Phasmarhabditis* lahko povzročijo smrt številnih vrst deževnikov. Številni raziskovalci pa so dokazali, da komercialni pripravek z vrsto *P.*

hermaphrodita kot aktivno snovjo ni škodljiv za deževnika *L. terrestris* ter *Eisenia fetida* (Savigny) (Wilson et al., 1993d; De Nardo et al., 2003; Grewal, 2003).

9 ZAKLJUČKI

V Evropi so zastopanost ogorčic iz rodu *Phasmarhabditis* doslej potrdili le v 4 državah; v Avstriji, Franciji, na Madžarskem in v Nemčiji (Fauna Europaea, 2007). Ker pri nas do nedavnega parazitskih ogorčic polžev nismo preučevali, so še vedno na seznamu t.i. tujerodnih organizmov in je njihova uporaba omejena le na laboratorijsko delo.

Trenutno lahko na slovenskem tržišču kupimo sedem pripravkov z limacidnim delovanjem. V Katalogu dovoljenih sredstev za ekološko kmetijstvo (Ozimič et al., 2007) sicer najdemo dva pripravka, a ima vsak od njiju nekatere slabosti, ki dobesedno kličejo po čim prejšnji uvedbi novega pripravka. Pripravek Carakol (aktivna snov metaldehid, 5 %) je namreč okolju neprijazen (strupen za toplokrvne organizme), a je na

seznamu zato, ker drugih ustreznejših limacidov pač ni na našem tržišču. Pripravek Feramol (aktivna snov železov [III] fosfat) – drugi od omenjenih dveh pripravkov - pa ima lastnosti okolju prijaznega sredstva, a je njegovo delovanje počasno in večkrat nezadovoljivo.

Morebitna prihodnja uporaba ogorčice *Phasmarhabditis hermaphrodita* – identifikacija ogorčic, najdenih v polžih, nabranih na različnih območjih Slovenije je namreč v teku - bi lahko predstavljal alternativo kemičnim limacidom, saj so polži v zadnjih letih zaradi milih zim in vlažnih poletij vse pomembnejši škodljivci gojenih rastlin pri nas in v številnih drugih državah (Kozowski et al., 2006; Grubišić et al., 2007).

10 ZAHVALA

Prispevek je nastal s finančno pomočjo Javne agencije za raziskovalno dejavnost RS, Ministrstva za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano RS in podjetja

Unichem d.o.o. iz Sinje Gorice v okviru projekta L4-1013 in programa Hortikultura P4-0013.

.

11 VIRI

- Andrássy, I. (1983): A taxonomic review of the suborder Rhabditina (Nematoda: Secernentia). ORTSTOM, Paris: 241 pp.
- Barker, G.M. (2001): The biology of terrestrial gastropods. CAB Int., Wallingford: 468 pp.
- Charwat, S.M., Davies, K.A. (1999): Laboratory screening of nematodes isolated from South Australia for potential as biocontrol agents of helicid snails. J. Invertebr. Pathol., 74: 55-61.
- Charwat, S.M., Davies, K.A., Hunt, C.H. (2000): Impact of a rhabditid nematode on survival and fecundity of *Cernuella virgata* (Mollusca: Helicidae). Biocontrol Sci. Technol., 10: 147-155.
- Coupland, J.B. (1995): Susceptibility of helicid snails to isolates of the nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* from southern France. J. Invertebr. Pathol., 66: 207-208.
- Dalmasso, A., Bergé, J.B. (1983): Enzyme polymorphisms and the concept of parthenogenetic species, exemplified by *Meloidogyne*. V: Concepts in Nematode Systematics. Stone et al. (ur.). Academic Press, London, pp. 187-196.
- De Nardo, E.A.B., Grewal, S.K., Sinderman, A., Grewal, P.S. (2003): Non-susceptibility of the earthworm *Eisenia fetida* to slug-parasitic nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita*. Biocontrol Sci. Technol., 14: 93-98.
- Fauna Europaea, 2007 <http://www.faunaeur.org/>
- Glen, D.M., Wilson, M.J., Hughes, L. (1996): Exploring and exploiting the potential of the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* as a biocontrol agent for slugs. V: Slug and Snail Pests in Agriculture. Henderson, I. (ur.). Symp. Proceed., No. 66, British Crop Prot. Counc., Farnham, pp. 271-280.
- Glen, D.M., Wilson, M.J., Brain, P., Stroud, G. (2000): Feeding activity and survival of slugs, *Derooceras reticulatum*, exposed to the rhabditid nematode, *Phasmarhabditis hermaphrodita*: a model of dose response. Biol. Contr., 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. Biol. Contr., 22: 72-80.
- Grewal, S.K., Grewal, P.S. (2003): Survival of earthworms exposed to the slug-parasitic nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita*. J. Invertebr. Pathol., 82: 72-74.
- Grewal, P.S., Grewal, S.K., Tan, L., Adams, B. (2003a): Parasitism of mollusks by nematodes: types of associations and evolutionary trends. J. Nematol., 35: 146-156.
- Grewal, S.K., Grewal, P.S., Hammond, R.B. (2003b): Susceptibility of slugs (Mollusca: Gastropoda) native and non-native to North America to *Phasmarhabditis*

- hermaphrodita* (Nematoda: Rhabditidae). Biocontrol Sci. Technol., 13: 119-125.
- Grimm, B. (2002): Effect of the nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* on young stages of the pest slug *Arion lusitanicus*. J. Molluscan Stud., 68: 25-28.
- Grubišić, D., Gotlin Čuljak, T., Vitas, I. (2007): Puževi golači u ratarskim kulturama - procjena rizika i mjere suzbijanja. Glas. biljn. zast., 7: 394-398
- Hooper, D.J., Wilson, M.J., Rowe, J.A., Glen, D.M. (1999): Some observations on the morphology and protein profiles of the slug-parasitic nematodes *Phasmarhabditis hermaphrodita* and *P. neopapillosa* (Nematoda: Rhabditidae). Nematology, 1: 173-182.
- Kerney, M.P., Stubbs, A. (1980): The conservation of snails, slugs and fresh water mussels. The Nature Conservancy Council, Shrewsbury: 23 pp.
- Kozowski, J., Zielinska, M., Pawowska, A., Kozowska, M. (2006): Susceptibility of some vegetable species to feeding of *Cepaea hortensis* (Muller) and *Arion rufus* (Linnaeus). J. Plant Prot. Res., 46: 231-239
- Maupas, E. (1900): Modes et formes de reproduction des nématodes. Arch. Zool. Exp. Générale 7: 563-628.
- Mengert, H. (1953): Nematoden und Schnecken. Z. Morphol. Ökol. Tiere, 4: 311-349.
- Morand, S., Wilson, M.J., Glen, D.M. (2003): Nematode parasites. V: Natural enemies of terrestrial molluscs. Barker, G.M. (ur.) CAB Int., Wallingford: 666 pp.
- Ohlendorff, B. (1999): Slugs and snails. UC Pest Management Guidelines, Pest Notes. Univ. Calif. Agric. Nat. Resources Publication 28.
- <http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/PESTNOTES/pn7427.html>
- Osche, G. (1954): Über die gegenwärtig ablaufende Entstehung von Zwillingen und Kmplementären bei Rhabditiden (Nematodes). (Fotalisatin und Artbildung). Zool. Jahrb. Syst., 82: 618-624.
- Schneider, A.F. (1859): Über eine Nematodenlarve und gewisse Verscheidenheiten in den Geschlechtsorganen der Nematoden. Z. Wiss. Zool., 10: 176-178.
- Speiser, B., Zeller, J.G., Neudecker, A. (2001): Size-specific susceptibility of the pest slugs *Deroceras reticulatum* and *Arion lusitanicus* to the nematode biocontrol agent *Phasmarhabditis hermaphrodita*. Biocontrol, 46: 311-320.
- Tan, L., Grewal, P.S. (2001a): Infection behavior of the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* to the grey garden slug *Deroceras reticulatum*. J. Parasit., 87: 1349-1354.
- Tan, L., Grewal, P.S. (2001b): Pathogenicity of *Moraxella osloensis*, a bacterium associated with the nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita*, to the slug *Deroceras reticulatum*. Appl. Environ. Microbiol., 67: 5010-5016.
- Tan, L., Grewal, P.S. (2002): Endotoxin activity of *Moraxella osloensis* against the gray garden slug, *Deroceras reticulatum*. Appl. Environ. Microbiol., 68: 3943-3947.
- Tan, L., Grewal, P.S. (2003): Characterisation of the first molluscicidal lipopolysaccharide from *Moraxella osloensis*. Appl. Environ. Microbiol., 69: 3646-3649.
- Velkovrh, F. (2003): Mehkužci. V: Živalstvo Slovenije. Sket et al. (ur.). Ljubljana, Tehn. založ. Slov.: 109-132
- Wilson, M.J., Glen, D.M., George, S.K. (1993a): The rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* as a potential biological-control agent for slugs. Biocontrol Sci. Technol., 3: 503-511.
- Wilson, M.J., Glen, D.M., George, S.K., Butler, R.C. (1993b): Mass cultivation and storage of the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita*, a biocontrol agent for slugs. Biocontrol Sci. Technol., 3: 513-521.
- Wilson, M.J., George, S.K., Glen, D.M., Pearce, J.D., Rodgers, P.B. (1993d): Biological control of slug and snail pests with a novel parasitic nematode. V: ANPP 3rd Int. Conf. Pests in Agriculture, Montpellier: pp. 425-432.
- Wilson, M.J., Glen, D.M., Hughes, L.A., Pearce, J.D., Rodgers, P.B. (1994): Laboratory tests of the potential of entomopathogenic nematodes for the control of field slugs (*Deroceras reticulatum*). J. Invertebr. Pathol., 64: 182-187.
- Wilson, M.J., Glen, D.M., George, S.K., Pearce, J.D. (1995a): Selection of a bacterium for the mass-production of *Phasmarhabditis hermaphrodita* (Nematoda, Rhabditidae) as a biocontrol agent for slugs. Fundam. Appl. Nematol., 18: 419-425.
- Wilson, M.J., Glen, D.M., Pearce, J.D., Rodgers, P.B. 1995b. Monoxenic culture of the slug parasite *Phasmarhabditis hermaphrodita* (Nematoda, Rhabditidae) with different bacteria in liquid and solid-phase. Fundam. Appl. Nematol., 18: 159-166.
- Wilson, M.J., Hughes, L.A., Hamacher, G.M., Glen, D.M. (2000): Effects of *Phasmarhabditis hermaphrodita* on non-target molluscs. Pest Manag. Sci., 56: 711-716.
- Wilson, M.J. (2002): A nematode parasite for biological control of slugs. PhD Thesis, Univ. Bristol.
- Wilson, M.J., Grewal, P.S. (2005): Biology, production and formulation of slug-parasitic nematodes. V: Nematodes as biocontrol agents. Grewal et al. (ur.). CAB Publ., Wallingford: 505 pp.
- Young, J.M., Dunnill, P., Pearce, J.D. (2002): Separation characteristics of liquid nematode cultures and the design of recovery operations. Biotechnol. Progr., 18: 29-35.
- Zaborski, E.R., Gittenger, L.A.S., Roberts, S.J. (2001): A possible *Phasmarhabditis* sp. (Nematoda: Rhabditidae) isolated from *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta: Lumbricidae). J. Invertebr. Pathol., 77: 284-287.