

VIABILITAS DAN EFEKTIVITAS FORMULA NEMATODA *Steinernema* sp. TERHADAP HAMA PENGGEREK BUAH KAPAS *Helicoverpa armigera* HUBNER

Viability and Effectiveness of Nematodes Steinernema sp. Formulation against Cotton Bollworm Helicoverpa armigera Hubner

HERI PRABOWO dan IGAA INDRAYANI

Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat
Jalan Raya Karangploso Km 4, Kotak Pos 199, Malang 65152
e-mail: heri_prabowo@yahoo.com

(Diterima Tgl. 1- 6 – 2011 - Disetujui Tgl. 8 – 8 - 2012)

ABSTRAK

Entomopatogen dari genus *Steinernema* berpotensi digunakan sebagai pengendali berbagai serangga hama, terutama ordo Lepidoptera, seperti *Helicoverpa armigera*. Penggunaan *Steinernema* untuk pengendalian *H. armigera* akan menguntungkan karena aman terhadap lingkungan, mudah diproduksi massal, toleran terhadap berbagai macam pestisida, dapat aktif mencari serangga sasaran, tidak menyebabkan resisten dan resurgensi, serta dapat diaplikasikan dengan alat semprot standar. Namun, formula pestisida hayati mengandung *Steinernema* masih sangat terbatas. Tujuan penelitian adalah membuat formula *Steinernema* sp. yang efektif terhadap hama penggerek buah kapas (*H. armigera*). Penelitian dilaksanakan di laboratorium Patologi Serangga, Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat, Malang mulai bulan Mei-Juli 2010. Larva instar III *Steinernema* sp. dibuat dalam 6 macam formula perlakuan dengan bahan pembawa (*carrier*) berbeda-beda, yaitu (1) suspensi (akuades + sukrosa), (2) pellet-2 (sekam padi), (3) pellet-1 (tanah liat + arang), (4) agar + spon, (5) kapsul (Ca-alginat), dan (6) kontrol (akuades). Setiap formula diinokulasikan 10^6 juvenil infektif (JI). Masing-masing perlakuan disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL) dengan tiga kali ulangan. Penurunan jumlah juvenil infektif (JI) pada setiap formula yang diamati per minggu selama ± 4 minggu. Isolat yang digunakan untuk penelitian ini berasal dari Asembagus. Untuk mengevaluasi efektivitas formula, larva *H. armigera* diperlakukan dengan JI yang berasal dari masing-masing formula setiap minggu selama empat minggu. Perlakuan ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan empat ulangan. Jumlah penurunan JI setiap minggu selama empat minggu setelah perlakuan. Persentase JI yang hidup pada pellet-1, suspensi, pellet-2, agar + spon, kapsul, dan kontrol berturut-turut sebesar 53; 12,4; 44; 63,8; 17,6; dan 5%. Pada minggu pertama sampai minggu keempat setelah perlakuan terlihat bahwa formula yang paling baik mempertahankan JI adalah agar + spon dan kemudian berturut-turut diikuti oleh pellet-1, pellet-2, kapsul, suspensi. *Steinernema* sp. yang disimpan selama empat minggu dalam berbagai bentuk formula terhadap *H. armigera* berkisar antara 80-99%. Formula agar dan spon paling baik untuk menyimpan *Steinernema* sp. selama empat minggu, karena formula ini memberikan tingkat viabilitas dan efektivitas *Steinernema* sp. paling tinggi.

Kata kunci : efektivitas, formula, *Helicoverpa armigera*, *Steinernema* sp., viabilitas

ABSTRACT

Entomopathogenic nematodes genus *Steinernema* for are potential to be used as a control for various insect pests, especially ordo Lepidoptera, such as *Helicoverpa armigera*. The use of *Steinernema* to control *H. armigera* is beneficial because it is environmentally friendly, easy to produce, tolerant to several pesticides, actively search the target insect, does not cause resistance and resurgence, and can be applied by

using standard sprayer. Unfortunately, biological pesticide containing *Steinernema* is still limited. The study was aimed at formulating a biological agen containing *Steinernema* sp. to control the cotton bollworm weevil (*H. armigera*). The experiment was conducted at insect pathology laboratory, Indonesian Sweetener and Fiber Crops Research Institute, Malang from May to July 2010. *Steinernema* sp. instar III larvae was formulated in six different forms such as Pellet-1 (clay+carbon), suspension (distilled water+sucrose), Pellet-2 (rice husk), agar+sponge, capsule (Ca-alginate), and control (distilled water). Each formulation was inoculated with 10^6 Infective Juvenile (IJ). Each treatment was arranged in completely randomized design (CRD) with three replicates. Each formulation observed showed decrease in IJ number every week for ± 4 weeks. Isolates used for this research were originated from Asembagus experimental station. For evaluation of the formulation effectiveness, *H. armigera* larvae was treated using IJ from the formula weekly for four weeks. On the first week after treatment, the percentages of living IJ in Pellet-1, suspension, Pellet-2, agar+sponge, capsule, and control were 53; 12.4; 44; 63.8; 17.6; and 5%, respectively. Effectiveness of *Steinernema* sp. stored for four weeks in various formulations against *H. armigera* ranged from 80-99%. The best formula of *Steinernema* sp for storage was agar+sponge because of its ability to viability and effectiveness of *Steinernema* sp.

Key words: effectiveness, formulation, *Helicoverpa armigera*, viability, *Steinernema* sp.,

PENDAHULUAN

Pengendalian hama penggerek buah kapas *Helicoverpa armigera* Hubner menggunakan insektisida kimia mengakibatkan peledakan populasi hama. Hama tersebut dapat menjadi toleran terhadap insektisida sehingga populasinya tidak terkendali. Semakin toleran hama terhadap insektisida maka dosis insektisida perlu ditingkatkan. Dampak lain yang ditimbulkan dari penggunaan insektisida kimia adalah menyebabkan keracunan pada manusia dan menimbulkan kerusakan lingkungan (NAS, 2004). Adanya dampak-dampak negatif yang ditimbulkan insektisida kimia membuka peluang untuk mengembangkan pengendalian hama yang ramah lingkungan (FALEIRO, 2006). Penggunaan nematoda *Steinernema* sp. terbukti efektif untuk mengendalikan penggerek pucuk dan buah pada tanaman *Leucnodos orbonalis* (HUSAINI *et al.*, 2002).

Steinernema sp. banyak dijumpai secara alami di dalam tanah sehingga mudah diisolasi (GRIFFIN *et al.*, 2005; SALEH dan ALHEJI, 2003). Mekanisme kematian serangga oleh *Steinernema* berkaitan dengan peran bakteri simbiosis yang ada di dalam *intestinum* nematoda itu. Keberadaan bakteri simbiosis bersifat saling menguntungkan antara nematoda-bakteri tersebut. Nematoda mendapatkan nutrisi dari hasil penguraian makanan oleh bakteri dan bakteri mempunyai tempat untuk berkembang hidup (HAZIR *et al.*, 2003; GAUGLER, 2007; JOYCE *et al.*, 2006). Simbiosis antara nematoda dan bakteri simbiosis akan membunuh hama sasaran dalam waktu 24-48 jam (DOWDS dan PETERS, 2002).

Penggunaan *Steinernema* sp. sebagai agensia hayati semakin banyak dikembangkan di berbagai belahan dunia karena berbagai keunggulannya, yaitu mudah diperoleh, ramah lingkungan, mudah diproduksi massal (GEORGIS *et al.*, 2006), toleran terhadap berbagai macam pestisida (ELAWAD *et al.*, 2007), dapat aktif mencari serangga sasaran (CAMPBELL dan EWIS, 2002), tidak menyerang vertebrata (EHLERS, 2003), dan dapat diaplikasikan dengan alat semprot standar (WRIGHT *et al.*, 2005). Namun, kendalanya adalah *Steinernema* sp. tidak dapat disimpan lama karena tidak mempunyai struktur istirahat (SHAPIRO-ILAN *et al.*, 2002a). Untuk mendukung kelangsungan hidup di luar habitat alaminya, *Steinernema* sp. sangat bergantung pada air dan cadangan makanan sebagai sumber energi (QIU *et al.*, 2000; CHEN dan GLAZER, 2004).

Oleh karena itu, untuk dapat memperoleh keuntungan secara maksimal dari *Steinernema* sp. apabila akan digunakan sebagai agens hayati maka perlu dibuat formula yang dapat mempertahankan kehidupan dan keefektifannya. Namun demikian, formula agens hayati mengandung *Steinernema* sp. masih sangat terbatas jumlahnya. Suatu formula agens hayati dikatakan baik jika formula tersebut, selain dapat mempertahankan keefektifannya, juga mudah disimpan, didistribusikan dalam jarak jauh, digunakan di lapangan, dan murah harganya (GREWAL, 2002).

Tujuan penelitian adalah membuat formula *Steinernema* sp. yang efektif terhadap hama penggerek buah kapas (*H. armigera*).

BAHAN DAN METODE

Isolat *Steinernema* sp. yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari KP. Asembagus yang dikoleksi Laboratorium Patologi Serangga, Balittas Malang. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Patologi Serangga, Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat, Malang mulai bulan Mei sampai Juli 2010. *Steinernema* sp. (instar III) diperbanyak secara *in vivo* menggunakan *Tenebrio molitor*

dengan teknik kertas saring (GAUGLER dan HAN, 2002). Juvenil infektif (JI) *Steinernema* sp. diformulasi dalam 6 macam bentuk formula dengan bahan pembawa (*carrier*) berbeda-beda, yaitu (1) suspensi (akuades + sukrosa), (2) pellet-2 (sekam padi), (3) pellet-1 (tanah liat + arang), (4) agar + spon, (5) kapsul (Ca-alginat), dan (6) kontrol (akuades). Setiap formula diinokulasi 10^6 ekor JI. Masing-masing perlakuan disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL) dengan tiga kali ulangan. Penurunan jumlah JI pada setiap formula diamati per minggu selama ± 4 minggu. Jumlah JI yang hidup pada formula diamati dengan mengambil tiap 2 g formula kemudian direndam dan dilarutkan dalam air keran dan selanjutnya dilakukan proses penghitungan (CAHERANI *et al.*, 2003). Untuk mengetahui patogenisitas JI, maka setiap minggu selama 4 minggu dilakukan pengujian dengan dosis 200 JI/larva pada setiap formula menggunakan ulat *H. armigera*. Masing-masing formula diambil sebanyak 200 JI setiap minggu untuk diuji patogenisitasnya. Formula yang diambil nematodanya untuk pengujian patogenisitas, terpisah dengan perlakuan yang digunakan untuk mengetahui viabilitasnya. Hal ini agar tidak mengganggu proses penghitungan viabilitas formula selama 4 minggu. Formula dibuat rangkap agar dapat digunakan untuk uji viabilitas dan uji efektivitas. Uji efektivitas formula disusun dalam RAL dengan empat kali ulangan. Masing-masing ulangan menggunakan 25 ekor ulat. Setiap ekor ulat diletakkan dalam vial plastik berdiameter 3 cm. Parameter yang diamati adalah mortalitas ulat *H. armigera* baik secara visual atau mikroskopis, dan bobot ulat hidup. Data diolah dengan analisis sidik ragam (ANOVA).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daya Hidup *Steinernema* sp. dalam Formula

Pengamatan terhadap viabilitas larva dari *Steinernema* sp. yang diuji menunjukkan bahwa pada minggu pertama setelah perlakuan, persentase JI yang hidup pada jenis-jenis formula yang diuji sangat bervariasi. Persentase hidup JI terendah (12,4%) dijumpai pada formula suspensi akuades + sukrosa dan tertinggi (63,8%) pada formula agar + spon (Tabel 1). Pada akhir pengamatan (minggu keempat), persentase viabilitas *Steinernema* sp. paling tinggi (viabilitas 25,8%) diperoleh dari perlakuan formula agar + spon. Dengan demikian, formula agar + spon paling baik dalam mempertahankan JI *Steinernema* sp. Hal ini kemungkinan disebabkan karena media agar + spon dapat mempertahankan tingkat kelembapan yang sesuai untuk *Steinernema* sp.

Menurut UMAMAHESWARI *et al.* (2006), kelembapan merupakan salah satu faktor penting dalam meningkatkan daya hidup nematoda, karena dalam lingkungan yang lembap nematoda dapat mempertahankan kandungan lemak dalam tubuhnya untuk bertahan hidup. Kelembapan yang tinggi selalu berkorelasi dengan daya hidup nematoda, semakin tinggi kelembapan dalam bahan formulanya maka daya hidup nematoda akan semakin tinggi, mengurangi aktivitas nematoda, penghambatan metabolisme nematoda, dan penyimpanan pada suhu rendah di bawah 5°C.

Menurut CHAERANI *et al.* (2003), tingkat kematian *Steinernema sp.* selama tiga bulan dengan formula bentuk butiran menggunakan bahan kaolin, tapioka, dan arang cukup tinggi berkisar antara 80-100%, sedangkan menurut GREWAL (2002), penggunaan formula spon, agar, dan alginat mampu mempertahankan nematoda selama 1-3 bulan pada suhu 10°C..

Mortalitas Larva *Helicoverpa armigera*

Pada minggu pertama sampai minggu keempat setelah perlakuan terlihat bahwa nematoda yang disimpan dalam bentuk formula pellet-1 (tanah liat + arang), Suspensi (akuades + sukrosa), pellet-2 (sekam padi), agar + spon, kapsul (Ca-alginat) masih mampu menyebabkan mortalitas *H. armigera* lebih tinggi dibandingkan dengan nematoda

yang disimpan pada suspensi aquades. Selain itu juga terlihat bahwa bentuk formula yang paling baik mempertahankan efektivitas *JI* untuk menyebabkan mortalitas *H. armigera* adalah agar + spon dan kemudian berturut-turut diikuti oleh pellet-2 (sekam padi), suspensi (akuades + sukrosa), kapsul (Ca-alginat), dan pellet-1 (tanah liat + arang). Hal ini dimungkinkan karena dalam formula spon+ agar, nematoda berada dalam kondisi mendapatkan kelembapan cukup, sedangkan kondisi kelembapan pada formula lainnya lebih rendah sehingga efektivitas *Steinernema sp.* lebih menurun.

Efektivitas *Steinernema sp.* yang disimpan selama empat minggu dalam berbagai bentuk formula sangat bervariasi (8-99%) dalam menyebabkan kematian terhadap larva *H. armigera* (Tabel 2). Pada 10 hari setelah perlakuan, efektivitas *Steinernema sp.* pada formula agar + spon dan pellet-2 sekam padi yang disimpan selama satu minggu menunjukkan paling tinggi (99%) pada larva *H. armigera*. Sejalan dengan lamanya penyimpanan formula, keefektifan *Steinernema sp.* cenderung menurun. Namun, formula agar + spon dan pellet-2 masih unggul dibandingkan dengan formula lainnya dengan tingkat mortalitas masing-masing 75% dan 62% (Tabel 3). Penurunan keefektifan *Steinernema* dalam formula juga dilaporkan oleh UMAMAHESWARI *et al.* (2006) bahwa efektivitas *Steinernema glaseri* pada *Corcyra cephalonica* menurun sangat drastis dari 100% menjadi 12,5% setelah penyimpanan selama 14 minggu.

Tabel 1. Persentase juvenil infeksi (JI) *Steinernema sp.* yang hidup setelah diformula dan disimpan selama empat minggu

Table 1. Percentage of living infective juvenile (JI) of *Steinernema sp.* after formulated and stored for four weeks

Bentuk formula	Persentase JI yang hidup (Minggu ke-) Percentage of living infective juvenile (JI) (weeks)			
	1	2	3	4
Pellet-1 (tanah liat + arang)	53,0 a	42,0 a	31,0 a	10,6 a
Suspensi (akuades + sukrosa)	12,4 a	9,8 a	5,6 a	2,4 c
Pellet-2 (sekam padi)	44,0 a	30,0 a	12,4 a	8,6 a
Agar + spon	63,8 a	48,4 a	30,4 a	25,8 a
Kapsul (Ca-alginat)	17,6 a	11,0 a	9,2 a	5,2 a
Suspensi aquades	5,0 b	2,2 b	1,6 b	0,8 b
KK CV (%)	9,8	12,7	18,1	12,9

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Note : Numbers followed by the same letter in the same column are not significantly different at 5% level

Tabel 2. Mortalitas larva *Helicoverpa armigera* pada perlakuan *Steinernema sp.* yang disimpan selama satu minggu

Table 2. Mortality of *H. armigera* larvae treated *Steinernema sp.* and stored for one week

Bentuk formula	Hari ke- Days									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Pellet-1 (tanah liat + arang)	6 a	9 a	23 bcd	36 ab	80 a	80 a	90 ab	90 a	92 a	92 a
Suspensi (akuades + sukrosa)	0 b	8 a	9 cd	14 bc	47 b	47 b	65 bc	68 bc	68 bc	68 bc
Pellet-2 (sekam padi)	0 b	10 a	51 a	56 a	85 a	85 a	87 ab	99 a	99 a	99 a
Agar + spon	4 a	8 a	41 ab	57 a	94 a	94 a	97 a	97 a	99 a	99 a
Kapsul (Ca-alginat)	0 b	11 a	29 abc	35 ab	74 a	74 a	74 ab	74 ab	74 ab	74 ab
Suspensi aquades	0 b	3 a	8 cd	19 bc	47 b	47 b	61 c	61 c	61 c	61 c
Kontrol	0 b	0 a	0 d	0 c	0 c	0 c	0 d	0 d	0 d	6 d
KK/CV (%)	6,5	8,1	5,1	8,6	19,4	7,8	7,4	11,9	12,7	12,1

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Note : Numbers followed by the same letter in the same column are not significantly different at 5% level

Bobot Larva

Bobot ulat *H. armigera* pada perlakuan formula *Steinernema* sp. terlihat tidak berbeda nyata pada sebagian besar formula yang diuji, kecuali pada pengamatan minggu pertama yang menunjukkan perbedaan nyata dibandingkan dengan kontrol (Tabel 4). Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan *Steinernema* mempengaruhi pertumbuhan larva *H. armigera*. Dibandingkan dengan kontrol, bobot larva *H. armigera* pada semua perlakuan lebih rendah dari pada bobot ulat normal (kontrol). Pertumbuhan ulat yang tidak normal dapat menyebabkan ulatnya tidak mampu berkembang ke stadium pupa.

Menurut FALLON *et al.* (2007), *Steinernema* sp. yang berasosiasi dengan bakteri simbiosis *Xenorhabdus* sp. di dalam intestinumnya, apabila juvenilnya sudah mencapai *haemocoel* intestinum serangga sasaran, maka bakteri simbiosis akan mengeluarkan racun yang dapat membunuh serangga inang atau menyebabkan penurunan selera makan serangga sehingga bobot serangga menurun dan tidak dapat berkembang menjadi pupa. Hal inilah yang mungkin juga terjadi pada *Steinernema* sp. yang menginfeksi *H. armigera* yang diuji dalam penelitian ini.

Tabel 3. Mortalitas larva *H. armigera* pada berbagai formula disimpan selama dua, tiga, dan empat minggu

Table 3. Mortality of *H. armigera* larvae after the test due to infection with *Steinernema* sp. which was stored for two, three and four weeks in various forms of formulations

Bentuk formula	Penyimpanan minggu ke-		
	2	3	4
Pellet-1 (tanah liat + arang)	57 b	55 b	44 c
Suspensi (akuades + sukrosa)	66 ab	58 ab	54 bc
Pellet-2 (sekam padi)	74 ab	70 ab	62 ab
Agar + spon	80 a	76 a	75 a
Kapsul (Ca-alginat)	60 b	57 ab	54 bc
Suspensi aquades	39 c	36 c	29 d
Kontrol	7 d	7 d	7 e
KK CV (%)	8,5	11,6	11

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Note : Numbers followed by the same letter in the same column are not significantly different at 5% level

Tabel 4. Bobot ulat *H. armigera* setelah perlakuan *Steinernema* sp. yang disimpan selama empat minggu dalam berbagai bentuk formula

Table 4. Weight of *H. armigera* larvae after *Steinernema* sp. treatment which was stored for four weeks in various forms of formulations

Formula	Bobot ulat <i>H. armigera</i> (g)		
	Minggu II	Minggu III	Minggu IV
Pellet-1 (tanah liat+arang)	0,269 a	0,286 ab	0,290 ab
Suspensi (akuades+sukrosa)	0,267 a	0,274 a	0,280 ab
Pellet-2 (sekam padi)	0,277 a	0,288 ab	0,298 ab
Agar+spon	0,272 a	0,272 a	0,274 a
Kapsul (Ca-alginat)	0,268 a	0,284 ab	0,292 ab
Suspensi aquades	0,281 a	0,295 ab	0,299 ab
Kontrol ulat	0,314 b	0,309 b	0,312 b
KK CV (%)	15,8	20,3	11,6

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Note : Numbers followed by the same letter in the same column are not significantly different at 5% level

Secara keseluruhan, hasil penelitian formulasi *Steinernema* sp. diperoleh dua formula yang prospektif untuk lebih dikembangkan, yaitu formula agar + spon dan formula pellet-2 sekam padi. Perlu pengujian skala lapang untuk mengevaluasi keefektifan formula yang sudah dihasilkan sebelum dapat digunakan oleh petani kapas untuk mengendalikan hama penggerek buah *H. armigera*.

KESIMPULAN

Dari lima macam formula biopestisida mengandung *Steinernema* sp. yang diuji, formula agar + spon dan pellet padi sekam menunjukkan paling baik berdasarkan persentase viabilitas dan keefektifannya terhadap *H. armigera*. Infeksi *Steinernema* sp. pada *H. armigera* menyebabkan kematian, dan penurunan bobot larva sehingga tidak bisa menjadi imago normal. Formula agar + spon dan pellet padi sekam perlu dikembangkan dan diuji dalam skala lapang untuk melihat keefektifannya dalam skala luas terhadap *H. armigera*.

DAFTAR PUSTAKA

- CAHERANI, J. HARJOSUDARMO, M.A. SUHENDAR, dan D. KOESWANUDIN. 2003. Produksi massal dan formula nematoda patogen serangga (NPS) *Steinernema* dan *Heterorhabditis* untuk pengendalian penggerek batang padi. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman. Hlm. 217-226
- CHEN, S., and I. GLAZER. 2004. A novel method for long-term storage of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* at room temperature. *Biological Control*. 32: 104-110.
- DOWDS, B.C.A. and A. PETERS. 2002. Virulence mechanisms. In: Gaugler, R. (Eds.), *Entomopathogenic Nematology*. CABI. New York. p.79-98.
- ELAWAD, S.A. MOUSA, A.S. SHAHDAD, S.A. ALAWAASH, and A.M.A ALAMIRI. 2007. Efficacy of entomopathogenic nematodes against red palm weevil in UAE. *Acta Hort.* 736: 415-420.
- EHLERS, R.U. 2003. Entomopathogenic nematodes in the European biocontrol market. *Commun. Agric. Appl Biol. Sci.* 68:3-16.
- FALLON, D.J., H.K. KAYA, and B.S. SIPES. 2007. Use of entomopathogenic nematodes (EPN) and nematode-trapping fungi (NTF) for the suppression of *Meloidogyne javanica*. *Journal of Nematology* 39: 98-99.
- FALEIRO, J.R. 2006. A review of the issues and management of the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Rhynchophoridae) in coconut and date palm during the last one hundred years. *International Journal of Tropical Insect Sci* 26:135-154.

- GAUGLER, R. 2007. Nematodes (Rhabditida: Steinernematidae & Heterorhabditidae). <http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/pathogens/nematodes.html>. (23 Maret 2012).
- GAUGLER, R. and R. HAN. 2002. Production technology. In: R. Gaugler (Eds) Entomopathogenic nematology. CABI Publishing. UK. p. 289-310.
- GEORGIS, R., A.M. KOPPENHOFER, L.A. LACEY, G. Be BLAIR, L.W. DUNCAN, P.S. GREWAL, M. SAMISH, L. TAN, P.R. TORR, and W.H.M. VAN TOL. 2006. Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. Biological Control. 38 : 103-123.
- GREWAL, P.S. 2002. Formulation and application technology. In: Gaugler, R. (Eds.), Entomopathogenic Nematology. CABI Publishing. Wallingford. Oxfordshire. UK. p. 265–287.
- GRIFFIN, C.T., N.E. BOEMARE and E.E. LEWIS. 2005. Biology and behaviour. In: Grewal, P.S., Ehlers, R.-U., Shapiro-Ilan, D.I. (Eds.). Nematodes as Biocontrol Agents. CABI Publishing. p. 47–64.
- HAZIR, S., H.K. KAYA, S.P. STOCK and N. KESKUN. 2003. Entomopathogenic Nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for Biological Control of Soil Pests. Turk J Biol. 27 : 181-202.
- HUSSAINI, S. S., S.P. SINGH, and M. NAGESH. 2002. In vitro and field evaluation of some indigenous isolates of *Steinernema* and *Heterorhabditis indica* against shoot and fruit borer, *Leucinodes orbonalis*. Indian Journal of Nematology. 32(1): 63-65.
- JOYCE, S.A., R.J. WATSON, and D.J. CLARKE. 2006. The regulation of pathogenicity and mutualism in *Photorhabdus*. Curr. Opin. Microbiol. 9 : 1-6
- NAS, M.N. 2004. In vitro studies on some natural beverages as botanical pesticides against *Erwinia amylovora* and *Curobacterium flaccumfaciensis* subsp. poinsettiae. Turk J Agric. 28 (2004) :57 – 61.
- SHAPIRO-ILAN, D.I., D.H. GOUGE, and A.M. KOPPENHOFER. 2002a. Factors affecting commercial success: case studies in cotton, turf and citrus. In: Gaugler, R. (Ed.), Entomopathogenic Nematology. CAB International. Wallingford. p. 333–355.
- SHAPIRO-ILAN, D.I., R. GAUGLER, W.L. TEDDERS, I. BROWN, and E.E. LEWIS. 2002b. Optimization of inoculation for *in vivo* production of entomo-pathogenic nematodes. J. Nematol. 34(4) :343-350.
- SALEH, M.M.E. and M. ALHEJI. 2003. Biological control of red palm weevil with entomopathogenic nematodes in the eastern province of Saudi Arabia. Egypt J Biol Pest Control. 13:55-59.
- UMAMAHESWARI, R., M. SIVAKUMAR, and S. SUBRAMANIAN. 2006. Survival and infectivity of entomopathogenic nematodes in alginate gel formulations against rice meal moth larva, *Corcyra cephalonica* Stainton. Natural Product Radiance. 5(2): 95-98.
- QIU, L., M.J. LACEY, and R.A. BEDDING. 2000. Permeability of the infective juveniles of *Steinernema carpocapsae* to glycerol during osmotic dehydration and its effect on biochemical adaptation and energy metabolism. Comp. Biochem. Physiol. Part B. 125: 411-419.
- WRIGHT, D.J., A. PETERS, S. SCHROER, and J.P. FIFE. 2005. Application technology. In: Grewal, P.S., Ehlers, R.-U., Shapiro-Ilan, D.I. (Eds.), Nematodes as Biocontrol Agents. CABI Publishing. p. 91–106.
- VALLE, E.E.D, C. DOLINSKY, and R.M. SOUZA. 2008. Dispersal of *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (Nematoda: Rhabditida) applied to the soil as infected host cadavers. Int J Pest Manage. 54: 115–122.