

Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt  
für Land- und Forstwirtschaft  
Berlin-Dahlem

Heft 124

August 1967



**Die Nematoden DD-136 (*Neoaplectana* sp.)  
und *Neoaplectana carpocapsae* Weiser, 1955  
(Rhabditoidea) als Insektenparasiten  
Eine Literaturübersicht**

Von

**Dr. O. F. Niklas**

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft  
Institut für Biologische Schädlingsbekämpfung, Darmstadt

Berlin 1967

*Herausgegeben von der  
Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem*

Kommissionsverlag Paul Parey, Berlin und Hamburg  
1 Berlin 61, Lindenstraße 44—47 (Westberlin)



## Inhalt

	Seite
I. Einleitung .....	5
II. Systematische Stellung, Taxionomie, Morphologie .....	6
III. Allgemeine Biologie .....	7
IV. Die Begleitbakterien .....	9
V. Wachstum und Wuchsbedingungen .....	11
VI. Immunreaktionen .....	13
VII. Routinekultur .....	14
VIII. Massenvermehrung .....	15
IX. Die „Dauerlarven“ als Infektionsstadium .....	17
X. Die Wirtsspektren .....	20
XI. Ergebnisse und Probleme der Freilandanwendung von <i>Neoplectana</i> -Formen ..	27
XII. Schlußbetrachtung .....	34
XIII. Zusammenfassung .....	35
XIV. Literatur .....	37



## I. Einleitung

Die frühesten Untersuchungen über insektenparasitische Nematoden reichen bis weit in das 19. Jahrhundert zurück. Heute ist die Zahl ihrer Arten kaum noch für den Spezialisten überschaubar, obwohl erst ein Bruchteil der wahrscheinlich existierenden beschrieben sein dürfte. Nach Položencev (1957) sind in den UdSSR. erst 0,15 % der Insektenfauna auf parasitische Nematoden untersucht worden. So befinden sich auch Systematik und Taxionomie der Nematoden allgemein noch in vollem Fluß. Zwei umfangreiche Werke aus den letzten Jahren geben, jeweils nach dem neuesten Stand der Kenntnisse (und dem der Auffassungen ihrer Autoren), zusammenfassende, systematische Bearbeitungen: Baker (1962) und Goodey (1963).

In zwei Sammelreferaten der jüngsten Zeit hat Welch (1963, 1965) die Literatur über Systematik, Taxionomie und Biologie der insektenparasitischen Nematoden besprochen. Rogers und Sommerville (1963) behandeln die gleichen Fragen vom Standpunkt der Parasitologie. Sie vermitteln ein Verständnis dafür, wie und unter welchen Bedingungen seitens beider Partner eine Wirtsinfektion zustande kommt und eine Vermehrung der Nematoden erfolgen kann.

Solche Überlegungen stehen im engen Zusammenhange mit denen, Nematoden gegen Arthropoden einzusetzen. Der erste Versuch dieser Art erfolgte mit *Neoapectana glaseri* Steiner bei Larven des Japankäfers in den USA. Sammelberichte über diese und spätere Arbeiten liegen mehrere vor: Steinhaus (1949), Welch (1956), Rühm (1957), Weiser (1958), Dutky (1959, 1967<sup>1)</sup>), Welch (1960; hygienisch wichtige Insekten), Welch (1961, 1963, 1965) und Weiser (1966).

Die vorliegende Studie behandelt nur zwei der in den zitierten Referaten genannten Nematodenarten: *Neoapectana* sp. „DD-136“ und *N. carpocapsae* Weiser. Beide scheinen nach Züchtbarkeit im Laboratorium, Wirtsspektrum und ersten Versuchsergebnissen im Freiland gute Aussichten für einen praktischen Einsatz zu bieten.

Über DD-136 liegt eine geschlossene Darstellung nicht vor. Dutky hat die Ergebnisse seiner Untersuchungen in einer Vielzahl von Presseinformationen, Ausstellungen, Vorträgen oder brieflichen Mitteilungen allgemein verbreitet und Material von DD-136 an viele Forschungsanstalten in aller Welt abgegeben (Dutky, 1959, p.195). Konkrete Angaben jedoch sind über Sammelberichte, hektographierte Tagungsabstracts u. ä. verstreut. Diese ergänzen sich zum Teil, machen die Bewertung jedoch schwer, wenn sie die Befunde nur erwähnen oder andeuten.

Bei *N. carpocapsae* sind Erstbeschreibung (Weiser, 1955) und zusammenfassende Darstellung elf Jahre später (Weiser, 1966) in Tschechisch geschrieben, im nichtslawischen Sprachbereich dadurch schwer zugänglich. Dies gilt auch für die nur als Manuskript vorliegende Originaluntersuchung, die Dissertation Sha (1962), die Weiser seinen Arbeiten nach 1962 zugrunde legt. Zwischen 1955 und 1966 hat Weiser in Sammelberichten und Tagungsvorträgen Einzeltatsachen über *N. carpocapsae* mitgeteilt.

<sup>1)</sup> Das Vortragsreferat von Dutky (1967), kurz vor Eingang der Korrekturen erhalten, gibt zunächst die schon in früheren Publikationen des Verf. mitgeteilten Befunde. Auf sie wird hier nicht nochmals hingewiesen. Neue Ergebnisse praktischer Versuche (gegen Stallfliegen) sind in Tab. 3, Befunde zur Stoffwechselfysiologie in Abschn. V eingefügt worden.

Die vorliegende Übersicht kann deshalb nur versuchen, die publizierten Angaben zu registrieren. Eine kritische Wertung und Überprüfung wird dem Spezialisten vorbehalten bleiben müssen<sup>2)</sup>.

## II. Systematische Stellung, Taxonomie, Morphologie

Die Gattung *Neoaplectana* Steiner, 1929, gehört in die Nematoden-Superfamilie Rhabditoidea (Oerley, 1880) Travassos, 1920 [Baker, 1962]. Sie wurde von Steiner mit der Art *N. glaseri* begründet und von Chitwood und Chitwood (1937) in die Familie Steinernematidae gestellt. Sobolev (1954) schuf hierfür die Familie Neoaplectanidae, jedoch ist der erstgenannte Name prioritätsberechtigt (Welch, 1965).

Bis heute sind folgende *Neoaplectana* spp., alles obligatorische Insektenparasiten, bekannt: *N. glaseri* Steiner, 1929; *N. menozzii* Travassos, 1931; *N. feltiae* Filipjev, 1934; *N. affinis* Bovien, 1937; *N. bibionis* Bovien, 1937; *N. chresima* Glaser, McCoy et Girth, 1942; *N. leucaniae* Hoy, 1954; *N. bothynoderi* Kirjanova et Puckova, 1955; *N. carpocapsae* Weiser, 1955; *N. janickii* Weiser et Koehler, 1955; *N. melolonthae* Weiser, 1959 [Baker, 1962]; *N. georgica* Kakulija et Veremčuk, 1965 [Kakulija et Veremčuk, 1965]; *N. belorussica* Veremčuk, 1966; *N. kirjanovae* Veremčuk, 1966; *N. titovi* Veremčuk, 1966 [Veremčuk, 1966].

An der Nominatform der Gattung, *N. glaseri*, sind weitgehend die Grundlagen der parasitischen Lebensweise, des Lebensablaufes und der Entwicklung, der physiologischen Ansprüche, der Vermehrung im Insektenwirt und auf Nährböden sowie die der Massenzucht erarbeitet worden. Die meisten Arbeiten mit anderen *Neoaplectana* spp. haben diese Grundlagen verwertet und ausgebaut. Dem Freiland Einsatz von *N. glaseri* gegen die Larven des Japankäfers (*Popillia japonica* Newman; Col., Lamellicornia: Rutelid.) war ein Erfolg nicht beschieden (Übersicht über *N. glaseri* bei Steinhaus 1949, ausführlich; kürzer in den zitierten Sammelreferaten).

*Neoaplectana* sp. „DD-136“ wurde von Dutky und Hough (1955) aus 1954 in Virginia (USA) im Freiland gefundenen, infizierten Raupen der Obstmade (*Carpocapsa pomonella* [L.], Lepidopt.: Olethreutid.) isoliert. Die Nematode geht bis heute unter ihrer Laborprotokoll-Nr. „DD-136“. Eine Beschreibung erfolgte nicht. Die Zugehörigkeit zur Gattung *Neoaplectana* ist unbestritten, ihr Status als eigene Art ungeklärt. Zur Morphologie und Anatomie finden sich demzufolge nur einzelne Hinweise (z.B. Welch, 1963; Schmiede, 1964).

Für *N. carpocapsae* liegen Angaben bereits in der Erstbeschreibung, dann bei Weiser, 1966 vor. Hier bildet die jeweils 1. Generation in einem neuen Wirt Riesenweibchen (7 bis 14 mm lang). Die ♀♀ aller folgenden Generationen sind viel kleiner (0,7 bis 2,12 mm). Die Mundöffnung ist grob dreiseitig, auffallende Papillen fehlen, ebenso deutliche Chitinisierungen des Mundtrichters. Der walzige Schlund ist distal keulenförmig verengt, mißt etwa  $\frac{1}{7}$  der Körperlänge und erweitert sich zu einem Bulbus ohne Deckel. Die ♂♂ aller Generationen sind ungefähr gleich lang (0,07 bis 0,98 mm), ihr Körper endet in einem dünnen Dörnchen. Neben einer großen Präanalpapille sind in zwei Reihen vier Paar kleiner Papillen vorhanden; die Spiculae sind sichelförmig, 42 bis 60  $\mu$  lang und am Ende stumpf. Zwei Versteifungsleisten im mittleren und apikalen Teil laufen nach vorne flach aus. Das Gubernakulum ist gerade, nach vorne verengt und hat eine längliche Versteifungsleiste (Weiser, 1966).

<sup>2)</sup> Herrn Dr. H. Karafiat, Institut für Naturschutz, Darmstadt, danke ich für die Übersetzung des einschlägigen Abschnittes aus Weiser (1966). Mein Dank gilt weiter Herrn Professor Dr. G. Osche, Zoologisches Institut der Universität Freiburg i.Br., für Manuskriptdurchsicht und wertvolle Hinweise.

Als Grundlage für die allgemeine Anatomie und Physiologie der Nematoden sei hier auf Meyl (1961), Thorne (1961) und Lee (1965) verwiesen.

Schmiege (1964) vergleicht die Anatomie einiger *Neoapectana* spp., insbesondere ihrer taxonomisch wichtigen Genitalapparate. Hiernach sind DD-136 und *N. carpocapsae* einander so ähnlich, daß sie die gleiche Art darstellen könnten. Größenvariabilität beider Weibchen und Vermehrungsweise stimmen jedoch nicht überein. Nun untersuchte Schmiege nur DD-136 direkt und zog für *N. carpocapsae* die publizierten Zeichnungen heran. Jackson (1965) und Jackson und Siddiqui (1965) hingegen verglichen beide Arten, dazu noch *N. glaseri*, aus axenischen (Bakterienfreien) Kulturen auf flüssigen Nährböden hinsichtlich Morphologie, Entwicklung und Wuchsstoffbedarf. *N. glaseri* lieferte hier reife, fortpflanzungsfähige Würmer und aufeinanderfolgende Generationen. DD-136 gab reife Würmer, aber keine Fortpflanzung und *N. carpocapsae* blieb nur am Leben, reifte aber nicht. Nur bei *N. glaseri* schlüpften nach Jackson die Eier im Weibchen und entwickelten sich in ihm, nicht aber bei den zwei anderen Arten. (Dutky nennt auch DD-136 ovovivipar). Folsäure war für Entwicklung und Vermehrung von *N. glaseri* (auf chemisch definierten Nährböden) unerlässlich, ebenso für DD-136, hier zumindest bis zur Ausbildung der Geschlechtstiere. Paarung und Eireife wurden bei DD-136 jedoch weder durch Überdosen von Folsäure noch durch zahlreiche andere Nähr- und Wirkstoffkombinationen erreicht. *N. carpocapsae* ließ sich weder durch Über- noch durch Unterdosierung von Folsäure oder deren Metaboliten zur Ausbildung reifer Würmer bringen (Jackson, 1964; Jackson and Siddiqui, 1965). Auch Antikörperreaktionen mit Kaninchenserum (siehe Abschnitt VI) weisen auf Unterschiede zwischen DD-136 und *N. carpocapsae* hin.

Die Dauerlarven von DD-136 und *N. carpocapsae* sind im Spielraum einer beträchtlichen Variabilität ungefähr gleich lang, beide jedoch viel kleiner als die von *N. glaseri* (etwa wie 1:3). Der Mundtrichter von *N. carpocapsae* ist tief und hat an der Basis der Mundkapsel einen sklerotisierten Ring. Bei DD-136 ist der Trichter flach, der Mundapparat nur etwas sklerotisiert. Ebenso sind die Gubernakula (der ♂♂) in beiden Arten deutlich verschieden, die Spiculae jedoch einander sehr ähnlich (Jackson, 1965).

Es muß demnach völlig offen bleiben, ob DD-136 und *N. carpocapsae* zur gleichen Art gehören oder nicht. Zur Klärung dieser Frage wird es nötig sein, die nach der Literatur hier vermerkten Unterschiede in der Lebensweise beider Formen zu klären. Im folgenden werden sie getrennt behandelt.

### III. Allgemeine Biologie

*N. glaseri* durchläuft nach dem Ei vier, durch Häutungen getrennte, ineinander übergehende Larvenstadien. Die letzte Larvalhäutung leitet zu den getrenntgeschlechtlichen, reifen Würmern über. Die Infektion des Wirts erfolgt nur durch die „Dauerlarven“ (auch im englischen Schrifttum so bezeichnet). Sie werden meist  $L_2$  genannt, sind aber die in der nicht abgestreiften Kutikula der  $L_2$  verbleibenden  $L_3$ . In dieser Form (sinngemäß auch „ensheated larvae“ genannt) können sie ohne Nahrung und bei auch sonst extremen Umweltsverhältnissen fast beliebig lange lebensfähig bleiben. Im Wirtsinsekt folgen Häutungen und Wurmgenerationen kontinuierlich so lange aufeinander, bis seine Substanz verbraucht ist, die Chitinhülle reißt und die Nematoden ins Freie gelangen. Nur die jetzt gerade als  $L_2$  vorhandenen Stadien wandeln sich zu

Dauerlarven ( $L_3$  in der  $L_2$ -Hülle) um und überdauern; alle übrigen sterben ab. Nach Weiser (1955) verlassen die „ $L_2$ “ von *N. carpocapsae* die toten Wirte durch den After.

Im Prinzip gilt dieser Entwicklungsgang für DD-136 und *N. carpocapsae* auch. Beide führen obligatorische Begleitbakterien, die für die rasche Wirtsabtötung allein verantwortlich und für Ernährung wie Entwicklung der Nematoden unerlässlich sind.

In das Insekt gelangen die Nematoden zunächst passiv bei dessen Nahrungsaufnahme. Aktiver Wirtsbefall liegt jedoch nach einer Reihe von Beobachtungen (siehe Abschn. IX, Wirtsfindung) ebenfalls vor. Bei *N. carpocapsae* wird Eindringen durch die Wirtstracheen berichtet (Weiser, 1964, 1966). Die frei gewordenen Dauerlarven durchbohren im Wirt dann die Darmwandung (bzw. die des Tracheenstammes) und gelangen in das Hämozöl des Insekts, bei *N. carpocapsae* zunächst in den Fettkörper (Weiser, 1966). Dort setzen sie die Begleitbakterien frei. Ein dunkler Ring, proximal scharf begrenzt, distal zerfließend, zeigt durch die Wirtskutikula hindurch die Eindringzone der Nematoden im Darmkanal an. Die Stelle liegt meist im zweiten Längsdrittel des Wirts (Weiser, 1960, 1966). Bei *N. glaseri* schlüpfen die Eier im Uterus, die  $L_1$  verzehren zunächst diesen, dann die übrige Substanz des mütterlichen Körpers und wandern aus dessen leerer Hülle in das Wirtsinsekt (Steinhaus, 1949). Nach Dutky (1959) gilt der gleiche Entwicklungsgang, speziell die Ovoviviparie, auch für DD-136 ("The young are born maternally, that is to say, fertile ova produce embryos within the ovaries of the gravid female. The eggs hatch, and the young feed on the tissues of the mother". Dutky, 1959, p. 196). Jackson (1965) nennt nur *N. glaseri* ovovivipar, *N. carpocapsae* und DD-136 ausdrücklich nicht. Er sieht in diesem Unterschied speziell die Erklärung dafür, daß nur *N. glaseri* sich in flüssigen Nährböden kontinuierlich entwickelt: Im ersten Falle reifen Eier und  $L_1$  im artspezifischen Substrat, in den beiden anderen Fällen nicht (Jackson, 1965).

Nach Weiser (1966) legen die Riesenweibchen von *N. carpocapsae* die Eier (breit-oval, 25 bis 30 mal 40 bis 45  $\mu$ ) sofort ab, die  $L_1$  schlüpfen im Insektenwirt. Gegen Ende der Entwicklung erschläft die Uterusmuskulatur, die Eier schlüpfen bereits im Weibchen und entwickeln sich hier, bis dessen Substanz aufgebraucht ist und die Nematoden freigesetzt werden. Die anfängliche Ovi-, spätere Ovoviviparie scheint auch für die Normalweibchen zu gelten. Die Riesenweibchen produzieren 2000 bis 11 000 Eier, die der folgenden Generationen 23 bis 104 (die Ovarien lassen 200 bis 1136 bzw. 20 bis 30 Eianlagen erkennen).

Es können sich im Wirtsinsekt nebeneinander alle Nematodenstadien finden; siehe hier Abbildung 1. Diese überschneidende Stadien- und Generationenfolge wird auch bei Weiser (1966; nach Sha, 1962) demonstriert: Aus frisch eingedrungenen Dauerlarven von *N. carpocapsae* entwickeln sich die Geschlechtstiere in drei bis vier Tagen, die noch weitere sieben Tage am Leben bleiben. Die Eiablage dieser ersten Parasitengeneration dauert ungefähr vier, die Eientwicklung drei und die Larvenentwicklung auch drei Tage. Von der zweiten Generation ab ist die Generationenfolge nicht mehr klar feststellbar, da jetzt alle Entwicklungsstadien nebeneinander vorhanden sind (vgl. Fig. 234 in Weiser, 1966).

Theoretisch genügt ein Nematodenpaar zur erfolgreichen Infektion eines Wirtes. Im Schalentest erwies es sich jedoch als vorteilhaft, 3000 bis 5000 Dauerlarven je Schale zu verwenden, von denen 15 bis 30 ( $\delta\delta : \text{♀♀} = 1 : 1$ ) je Wirtsruppe eindringen. Noch höhere Nematodenzahlen führen zu Überparasitierung, bei der die Wirtssubstanz bereits von den frisch eingewanderten Dauerlarven verbraucht wird und die Entwicklung weiterer Generationen nicht mehr erlaubt. Als optimalen Wert nennt Wei-



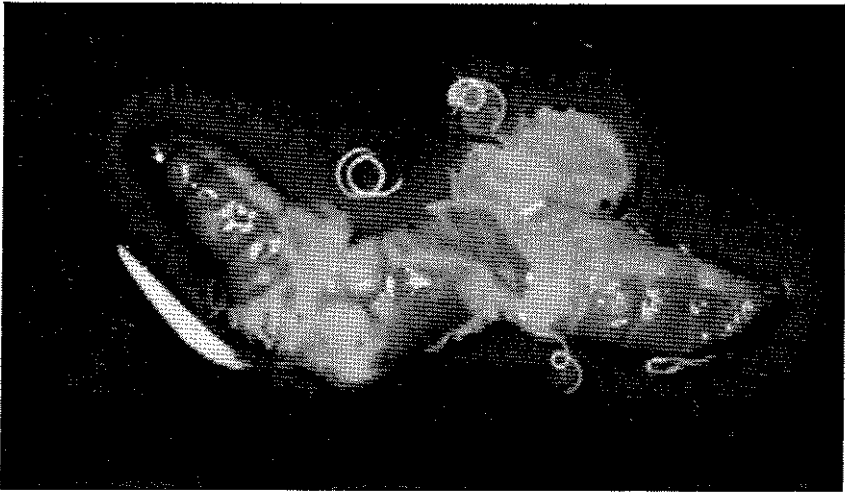


Abb. 1. Mit DD-136 infizierte *Galleria*-Raupе, aufpräpariert. Anfangsstadium der Nematodenentwicklung im Wirt: Mehrere Riesenweibchen und zahllose Dauerlarven neben der toten Raupе erkennbar, deren Körpersubstanz jedoch noch nicht restlos aufgebraucht ist (dann bilden sich keine „Riesen“weibchen mehr). (Aus J. Franz, 1957, Abb. 5)

ser später (1966; p. 505) zehn aktive Dauerlarven je  $\text{cm}^2$  Filtrierpapierfläche einer 10 cm  $\phi$ -Schale, von denen nach 24 Stunden sechs bis acht in einen Wirt eindringen (dies würde 785 Dauerlarven je Schale entsprechen).

#### IV. Die Begleitbakterien

Bereits die erste Publikation über DD-136 (Dutky and Hough, 1955) erwähnt dessen Begleitbakterium („a characteristically associated bacterium“). Dieses tötet das Wirtsinsekt durch eine Septikämie, jedoch nicht, wenn es isoliert oral appliziert wird, sondern nur, wenn die Nematode als „lebender Mikroinjektor“ es in das Wirtszölom bringt. Das Bakterium dient den Nematoden als Nahrung (auch Weiser, 1966, bei *N. carpocapsae*). Durch einen abgeschiedenen, antibiotischen Stoff unterdrückt es weiter die Mikroflora im abgetöteten Wirt, die das Insekt sonst zersetzen und für die Entwicklung von Wurm und Begleitbakterium ungeeignet machen würde (Anonymus, 1956; Dutky, 1959). Wie DD-136, so wurde auch sein Begleitbakterium zunächst nicht beschrieben.

Poinar and Thomas (1965) isolierten aus Dauerlarven von DD-136 (Laboratoriumsstamm; an *Galleria*-Raupen vermehrt) ein Bakterium, das sie als *Achromobacter nematophilus* sp. nov. (Eubacteriales: Achromobacteraceae) beschrieben. Es kann mit dem ursprünglich von Dutky erwähnten Begleitbakterium (Dutky and Hough, 1955) identisch sein. Ebenso wird stillschweigend unterstellt, daß es sich bei allen in den zahlreichen DD-136-Kulturen vorhandenen Begleitbakterien um die gleiche Art handelt.

Der ausführlichen Beschreibung seien hier nur einige der wichtigsten Merkmale entnommen: Von den anderen *Achromobacter* spp. durch Größe (3,5 bis 10,4 : 0,9 bis 1,7  $\mu$ ), Gelatineverflüssigung und Wirkung auf Litmusmilch (Reduktion und Peptoni-

sierung) unterschieden. Fakultativer Aerobier. Bester Wuchs bei 25 bis 35 °C, pH = 7,4 bis 8,0 und einem NaCl-Gehalt des Nährbodens von 0,5 bis 2,0 %. Ab 37 °C schlechter, bei 42 °C kein Wuchs; pH-Werte von 5,0 bis 6,0 und 9,0 bis 10,0 hemmen, ebenso NaCl-Gehalte von 0 % und ab 4,0 %. Der Erreger tritt, soweit bekannt, nur im Darmtrakt von *Neoaplectana* sp. „DD-136“ und im Körper der von dieser Nematode befallenen Insekten auf (Poinar and Thomas, 1965).

In den Nematoden-Dauerlarven sind die Begleitbakterien im Ventrikularteil des Darms lokalisiert. Im Ösophagus und im hinteren Darmbereich fanden sie sich nie. Oberflächensterilisierte Würmer, in einem hängenden Tropfen von Insektenhämolymph gehalten, schieden die Bakterien innerhalb von zwei Stunden durch den After aus: Die klumpig dicht gepackten Bakterien verteilten sich zunächst aufgelockert über den Ventrikularbereich und dann nach und nach längs des Enddarms bis zum After (Dieses Ausscheiden der Bakterien ließ sich an Gram-gefärbten Schnittpräparaten sowie an ungefärbten Tieren im Phasenkontrastmikroskop verfolgen).

Die toten, sich zersetzenden *Galleria*-Raupen enthalten eine Reihe von Bakterien, wie: *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula, *Proteus* sp., *Alcaligenes* sp. und *Aerobacter* sp. Sie alle werden von den Nematoden unterschiedslos aufgenommen. Aus den infektiösbereiten Dauerlarven war aber ausschließlich *A. nematophilus* zu isolieren. Nur diese Art widersteht demzufolge den Verdauungsekreten der Nematoden oder wird von diesen aktiv wieder ausgeschieden (Poinar, 1966). Nach Dutky (1959) produziert das obligatorische Begleitbakterium einen antibiotischen Stoff. Frisch von DD-136 befallene *Galleria*-Raupen enthielten nur *A. nematophilus* im Hämözöl; vereinzelt nachweisbare Fälle von *P. aeruginosa* dürften äußerlich mit der Nematodenkultikula eingebracht worden sein (Poinar, 1966).

Der Wirkungsmechanismus des DD-136/*A. nematophilus*/*Galleria*-Komplexes ließ sich nur an streng axenischen Kulturen bzw. Zuchten aller drei Partner untersuchen. Bei dem Bakterium war dies in Nährbodenkulturen am einfachsten zu erreichen. Die *Galleria*-Zucht erfolgte auf autoklaviertem Haydack-Futterbrei (modifiziert; Zusammensetzung loc. cit.). Die Wachsmotteneier wurden in Penicillin-Streptomycin-, dann in Merthiolatlösung (ein quarternäres Ammoniumsalz) und zuletzt in sterilem Aqua dest. gespült. Die Nematoden schließlich wurden der gleichen Vorbehandlung wie die *Galleria*-Eier unterworfen und auf Rindernieren- plus Rinderleberagar kultiviert (Poinar and Thomas, 1966).

Bakterienfreie Nematoden töteten die Wirtslarven ab und entwickelten sich in ihnen bis zur Geschlechtsreife. Eine Vermehrung erfolgte nicht. Bakterien, nicht *A. nematophilus*, erschienen erst nach dem Tode des Insekts. Nematoden mit *A. nematophilus* töteten die Wirtslarven, entwickelten sich über die Geschlechtsstadien zur neuen Generation und gaben die Bakterien schon vor dem Absterben des Wirts in dessen Hämözöl. Erhielten die Wachsmottenraupen getrennt axenische DD-136-Larven und Suspensionen von *A. nematophilus* injiziert, so erfolgten Wirtstod und Nematodenvermehrung wie beim natürlichen Komplex. Ebenso verhielten sich DD-136 plus *Pseudomonas aeruginosa*. Hier jedoch dauerte es 26 Tage, bis die Dauerlarven der neuen Generation erschienen (14 Tage beim natürlichen Komplex), und eine Wirtsraupe lieferte im Mittel nur 12 312 Dauerlarven, hingegen 135 000 bei DD-136/*A. nematophilus*-Infektion. *Serratia marcescens* Bizio oder *Bacillus cereus* Frankland et Frankland, neben DD-136 injiziert, ergaben, wie bei allein applizierten, axenischen Nematoden nur Entwicklung bis zu adulten Würmern, jedoch keine Vermehrung. Die Nematoden allein töteten den Wirt also ab. Zu ihrer Weitervermehrung ist aber das spezifische Bakterium

unerlässlich, das seinerseits auf die Träger nematode zur Verbreitung angewiesen ist (Poinar and Thomas, 1966).

Bei *N. carpocapsae* erwähnte Weiser, auch bereits in der Erstbeschreibung (1955), daß die Wirtsraupen infolge einer Septikämie durch das Begleitbakterium der Nematoden abgetötet werden. Als Erreger nennt Weiser (1960) *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula<sup>3)</sup>. Er findet sich in allen Nematodenstadien, außer in den Eiern. *P. aeruginosa* wurde von Lysenko (mit anderen Bakterien) aus *N. carpocapsae* isoliert (und weiter zu Grundlagenstudien über den Wirkungsmechanismus verwendet) (Lysenko, 1963). Die Art ist dann auch bei Weiser, 1962 und 1966 als das Begleitbakterium von *N. carpocapsae* genannt. Es trat mit folgenden weiteren Arten gemeinsam auf: *Proteus morgani* (Winslow et al.) Rauss [bei Weiser, 1966: *P. morgani* (Schroeter) Migula]; *Pseudomonas ovalis* Chester; *P. fluorescens* Migula; *P. geniculata* (Wright) Chester; *Alcaligenes odorans* [in Bergey, 1957, nicht aufgeführt; in Bergey, 1948: *Proteus odorans* Pribram (?)]; *A. faecalis* Castellani et Chalmers [bei Weiser, 1966: *A. faecalis*]; *Flavobacterium* sp. und *Staphylococcus lactis* [in Bergey, 1957, nicht aufgeführt; in Bergey, 1948: *Micrococcus lactis* Chester = *M. candidans* Fluegge (?)]. Diese Angaben sind nach Sha (1962) bei Weiser, 1966 zitiert. 1963 und 1964 nennt Weiser (1964 auch nach Sha, 1962) *Pseudomonas septicum* Bergey et al. als das Begleitbakterium von *N. carpocapsae* (vgl. auch Welch, 1965, p. 282).

Alle diese Bakterien sind in sämtlichen Nematodenstadien außer den Eiern anzutreffen, *P. aeruginosa* und *P. morgani* regelmäßig. Im Darm der für Parasitierungsversuche verwendeten Wachsmottenraupen fehlten sie jedoch stets. Die Dauerlarven geben die Bakterien durch die Mundöffnungen in die Körperhöhle des Wirts (nach Poinar bei DD-136: durch den After). *Serratia marcescens* Bizio als experimentelles Begleitbakterium der Dauerlarven tötet den Wirt weit langsamer als *P. aeruginosa* und verschwindet nach fünf bis sechs Übertragungen aus den Zuchten (Weiser, 1966, nach Sha, 1962). 1964 erwähnt Weiser noch Versuche mit *Bacillus thuringiensis* Berliner als Begleitbakterium, das sich in den Versuchszuchten jedoch nicht hielt.

## V. Wachstum und Wuchsbedingungen

Als Experimentalwirt hat sich für DD-136 wie für *N. carpocapsae* die Raupe von *Galleria mellonella* (L.) gleichermaßen bewährt. Um die Grundlagen von Wachstum und Wuchsbedingungen zu klären, ist der lebende Wirt jedoch chemisch-physiologisch zu komplex, zumal seine Bestandteile noch durch die Begleitbakterien und deren Stoffwechselprodukte vermehrt werden. Dies ergibt die Notwendigkeit, die Zucht der Nematoden auf definierten Nährböden vorzunehmen und weiter zu versuchen, den Nematoden äußerlich anhaftende Fremdbakterien vorher auszuschalten. Das praktisch nutzbare Ergebnis solcher Grundlagenstudien ist dann wieder die Möglichkeit, Massenzuchtverfahren auf voll- oder halb-synthetischen Nährböden durchzuführen. Kriterium für die Vollwertigkeit eines künstlichen Kulturmediums ist dabei stets, daß es die kontinuierliche Generationenfolge der Nematoden bei größtmöglicher Ausbeute gewährleistet.

Verfahren zur Zucht auf synthetischen Medien sind zuerst für *N. glaseri* entwickelt worden. Bei dieser Art ist ein obligatorisches Begleitbakterium, wie es DD-136 und *N. carpocapsae* besitzen, bei Dutky (1937) (Ph.D.-Thesis, zit. nach Welch, 1963) erwähnt. Freiheit von anhaftenden Fremdbakterien, bei Nährbodenkultur erforderlich, ist relativ leicht durch Spülen in schwachem, die Würmer nicht schädigendem Bakterizid zu erreichen. Solche Ver-

<sup>3)</sup> Die aufgeführten Bakterien werden nach der Schreibweise in Bergey's Manual, 7th ed., 1957, zitiert.

fahren sind schon lange zur Nematodenisolierung aus Faeces, Erde und zersetzenden Organismen bekannt. *N. carpocapsae* führt die Begleitbakterien in allen Stadien außer dem Ei. Das DD-136-Bakterium ist im Ventrikularteil des Nematodendarms lokalisiert. Passage via Ei ist hier nicht ausdrücklich verneint, fehlt aber wohl auch. Anhaftende Fremdbakterien sind bei DD-136 und *N. carpocapsae* fallweise sicher vorhanden. Ob sie allein durch Sterilantien vor Ansatz einer Nährbodenkultur entfernt werden, wird nirgends ausdrücklich gesagt. Der Schluß liegt nahe, daß die im Wurm befindlichen Begleitbakterien hier zum Teil mit getroffen werden, da Nematoden aus Dauerkulturen „weniger aggressiv“ sind (Weiser, 1964).

Als wirksames, dabei einfaches Sterilisierungsverfahren hat sich 20minütiges Spülen in 0,05%igem Natriumhypochlorid erwiesen (Dutky, Thompson and Cantwell, 1964). Bei Verwendung handelsüblicher Eau de Javelle ist für die Verdünnung der Anteil an NaOCl zugrunde zu legen. Die Lösung induziert zugleich die Häutung der Dauerlarven und damit ihre Weiterentwicklung zu den Geschlechtstieren (Glaser and Stoll, 1940). Strengen Ansprüchen genügt jedoch erst ein weit umständlicheres Reinigungsverfahren: Poinar and Thomas (1966) (vgl. hier: Abschn. IV). Insbesondere bei Stoffwechselltests ist Sterilität unerlässlich. Alle Ingredientien der Nährböden und die Nematoden selbst müssen daher laufend getrennt auf Sterilität mit Routinenährböden (Blutagar, Dextroseagar usw.) geprüft werden (Jackson, 1961; Poinar and Thomas, 1966). Weiser (1966) verwendet bei *N. carpocapsae* für Infektionsversuche befruchtete, aus Wirtsraupen freipräparierte Nematodenweibchen, die in 0,6%ige, sterile NaCl-Lösung + 0,001% Chloramphenicol (= Chloromycetin; Antibioticum) für 1 bis 5 Stunden in mehrfachem Wechsel überführt werden. Wurmeier werden zur äußerlichen Sterilisierung 15 Minuten lang in 5% NaOCl, dann dreimal in sterilem Aqua dest. gespült.

Stoll (1959) faßt alle bisherigen Untersuchungsergebnisse über die Stoffwechsellphysiologie von *N. glaseri* zusammen (vornehmlich nach Glaser und den eigenen Arbeiten). Jackson (1962a, 1962b) gibt eine ausführliche Zusammenstellung der zahlreichen, zunächst auch bei *N. glaseri* geprüften, flüssigen Nährböden (halb- und vollsynthetisch). Sie auch nur auszugswise wiederzugeben, verbietet allein die Anzahl der verwendeten Bestandteile (z. B. 18 Aminosäuren, eine Fettsäure, Purine, Pyrimidine, Vitamine der B-Gruppe usw.). Ein solches vollsynthetisches Medium ergab mäßige, etwa zwei- bis dreifache, jedoch kontinuierliche Nematodenvermehrung. Weit höhere (22fache) Ausbeute wurde mit einem halbsynthetischen Medium erzielt, bei dem Rohleberextrakt (RLE = Raw Liver Extract) trächtiger Kaninchen der wichtigste Bestandteil war (Stoll, 1961). Jackson weist in den genannten Arbeiten allerdings darauf hin, daß „axenisch“ und „definiert“ bei den Nährböden und Kulturen nur so weit gelten können, wie die bakteriologischen und biochemischen Reaktionen empfindlich sind. In Spuren vorhandene, nicht nachweisbare „Verunreinigungen“ der Chemikalien können gerade wichtig sein. Weiter kann die Anpassungsfähigkeit der Würmer als lebende Organismen auch an nicht voll geeignete Medien zu falschen Schlüssen über die Mindestbestandteile und die Zusammensetzung der Kulturmedien führen.

Nach Dutky (1967) deckt DD-136 aus dem Cholesterin des Wirtsinsekts seinen Sterolbedarf. 95 Picogramm hiervon je Nematode ist die Mindestmenge, die für die Larvenentwicklung und -reifung bis zum Geschlechtstier gebraucht wird. Zu Vollreife, Paarung und Eiproduktion sind dann zusätzliche Mengen nötig. Kulturversuche auf definierten Nährböden mit zehn verschiedenen Sterolverbindungen erwiesen diese alle, mit Ausnahme von Stigmasterol und Ergosterol, als wirksam.

Ist *N. glaseri* auf flüssigen Nährböden nicht leicht zu vermehren, so gelingt dies bei DD-136 nur bedingt und bei *N. carpocapsae* gar nicht. Die Rolle der Folsäure hierbei wurde schon erwähnt. In jedem Falle unterscheiden sich DD-136 und *N. carpocapsae* nach ihrem Kulturverhalten erheblich. Die Ursache hierfür kann das Vorhandensein bzw. Fehlen bestimmter Enzyme sein. So lagen bei *N. glaseri* zahlreiche, je nach Kultursubstrat wechselnde Esterasen vor; bei Tieren aus Insektenwirten war das Esterasenspektrum immer gleich. Dasjenige von *N. carpocapsae* war demgegenüber andersartig zusammengesetzt (Sherman and Jackson, 1963). Die physiologischen Unterschiede der drei Arten (DD-136, *N. carpocapsae* und

*N. glaseri*) können jedoch auch auf verschiedenartigen Ansprüchen an das O<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>-Gleichgewicht beruhen, oder es fehlt bei *N. carpocapsae* ein spezifischer Stimulator für die Häutung zu den Geschlechtstieren (Jackson, 1962b).

*N. glaseri*, jahrelang in axenischen Kulturen vermehrt, behielt hierbei nach regelmäßigen Infektionsversuchen am natürlichen Wirt, der Japankäferlarve, seine volle Infektionsfähigkeit. Es ist anzunehmen, daß „axenisch“ hier nur für die äußerlich anhaftenden, nicht für die obligatorisch begleitenden Bakterien gilt. Die zunächst mitgeteilte Zeitspanne von sieben Jahren (Stoll, 1953b) konnte inzwischen auf 17 Jahre (= 216 „axenisch“ vermehrte Nematodengenerationen) erweitert werden (Sherman and Jackson, 1963).

Für *N. carpocapsae* sind nach Weiser (1966) die bei *N. glaseri* entwickelten Kulturmedien nicht voll brauchbar. Er verwendet Fleisch-Pepton-Agar in Schrägröhrchen, denen Leber oder Niere frisch getöteter Kleinsäuger (Mäuse, Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen) zugesetzt wurde und beimpft mit sterilen Wurmstadien. Nach drei bis fünf Tagen bei 20 bis 25 °C werden die Kulturen dann bei + 4 °C gehalten. Nach zwei bis drei Monaten ist die Nährsubstanz, vor allem der Organteil, verbraucht und Neuübertragung nötig. Schwacher Luftzutritt zu den Nematodenkulturen ist unbedingt erforderlich. In dieser Weise konnte *N. carpocapsae* sechs Jahre lang in mehr als 90 aufeinanderfolgenden Passagen gehalten werden.

## VI. Immunreaktionen

Beispiele von Abwehrreaktionen der Insekten gegen eingedrungene Nematoden stellten Welch (1963, 1965) und, sehr ausführlich, Salt (1963) zusammen. Bei DD-136 beschreiben Welch und Bronskill (1962) ein interessantes Phänomen dieser Art: In Schalenversuchen ließen sich Larven von *Aedes aegypti* (L.) (Dipt.: Culicid.; Laboratoriumsstamm) und von *Aedes* sp. (Freiland, Kanada) leicht mit DD-136 infizieren. Sofort nach Durchdringen der Darmwand wurden die Nematoden in der prothorakalen Körperhöhle des Wirts innerhalb von 30 Minuten eingekapselt und dann abgetötet. Bei wenigen Würmern je Wirt erlagen alle der Abwehrreaktion, waren es viele, so unterblieb sie bei einigen der Parasiten. Rasche Abkapselung der Würmer verzögerte Verpuppung und Imaginalbildung der Mücken oder ließ sie bereits als Puppen sterben. Gewöhnlich jedoch töteten die Begleitbakterien die Wirtslarven, unabhängig von deren Abwehrreaktion. Dieses verhindert den Parasiten also an weiterer Vermehrung, nicht aber an seiner Wirkung auf das Insekt.

Weitere derartige Fälle sind aus dem *Neoaeplectana*-Komplex bisher nicht bekannt geworden. Warum Insektenarten gegen diese Nematoden resistent sein können, wurde bisher nicht untersucht. Soweit die Dauerlarven aktiv einwandern, kann es an fehlenden Lock-, an vorhandenen Abwehrsekreten oder auch nur mechanisch an zu dicker Chitinhülle der Wirte liegen. Ein Hinweis auf die letztgenannte Möglichkeit besteht, wenn Junglarven eines Wirtes parasitiert werden, Altlarven oder Adulte dagegen nicht (vgl. Tab. 1). Mit Futter oder Substrat aufgenommene Parasiten gelangen passiv zumindest in den Wirtsdarm. Hier muß dann bei resistenten Arten eine Abwehrreaktion vorliegen, um das Eindringen der Nematoden in das Wirtszölum zu unterbinden. Diese kann vielfältiger Art, wenn auch nicht phagozytär sein und z. B. auch auf einem unverträglichen Darm-pH oder -Enzymkomplex beruhen.

Oberflächensterile, lebende *Neoaeplectana*-Larven erzeugten, subkutan in Kaninchen injiziert (acht bis zehn Injektionen über vier bis fünf Wochen), Antikörper im Blutserum. Als Testantigene dienten lebende, gewaschene Larven von *N. carpocapsae*, *N. glaseri* und DD-136, durch Ultraschallbehandlung gewonnene Zellaufbereitungen sowie gereinigte (wurmfreie) Kulturflüssigkeiten der drei Arten. Geprüft wurde mittels Diffusions- und Immunelektrophoreseplatten. Antigene der Ultraschallaufbereitung gaben beträchtliche Unterschiede zwi-

schen den drei Arten, geringere mit den gereinigten Kulturmedien. Am empfindlichsten war der Test, wenn lebende Nematoden in Kaninchenserien der Vergleichsarten gesetzt wurden: Hier trat sofort die Antireaktion in Form von Blasen an den Exkretionsporen der Würmer auf (Jackson, 1961, 1965).

## VII. Routinekultur

Feste Nährböden, die bei DD-136 wie bei *N. carpocapsae* (und *N. glaseri*) gleichartig geeignet sind, dienen vor allem zur kontinuierlichen Haltung der Nematoden in Reagenzglas-Dauerkulturen als Ausgangsmaterial für Versuche und Massenzuchten. Hier stehen zwei zur engeren Wahl: Pepton-Glukose-Agar und Eipulver (Dutky, Thompson and Cantwell, 1964; siehe auch Jackson, 1965; Jackson and Siddiqui, 1965; desgl. Stoll, 1961, und frühere Arbeiten. Weiser bzw. Sha [1962] verwendeten die gleichen Vorschriften: Weiser, 1964).

Der erstgenannte Nährboden enthält auf 100 ml Aqua dest. 1 g Pepton, 0,2 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,1 g  $\text{MgSO}_4$ , 5 g Dextrose und 1,5 g Agar. Je Reagenzglas mit 5 ml des Nährbodens wird aseptisch ein Würfel (etwa 0,75 cm Kantenlänge) gekochter Schweineiere zugefügt, dann autoklaviert, mit oberflächensterilen Nematoden besetzt (einige gravide Weibchen oder 200 bis 5000 Dauerlarven) und schräg gelegt. Der Ei-Nährboden besteht aus 170 g Volleipulver auf 500 ml Aqua dest. Beides wird im Mixer vereinigt, auf 250-ml-Kolben (je 100 ml) oder Reagenzgläser (je 5 ml) verteilt, autoklaviert und dann infiziert. In beiden Fällen müssen die beimpften Kulturen dunkel gehalten werden.

Eine abgewandelte Nährbodenkultur beschreiben Hansen und Cryan (1966): Kulturbehälter ist ein 25-ml-Trennzylinder, mit unterhalb des Ablaufhahns dicht angesetztem 5-ml-Gläschen. Der Zylinder wird locker mit Glaswolle („Pyrex“) gefüllt, oben verschlossen, autoklaviert, mit 2 ml eines flüssigen Nährmediums (Soja-Pepton, Hefe- und Leberextrakt) und dann mit 1 ml des Mediums plus Nematoden (aus Stammkultur) besetzt. Die Flüssigkeit wird durch Drehen gleichmäßig über die Glaswolle verteilt und das Aggregat dann liegend bebrütet. In entsprechenden Zeitabständen lassen sich die Nematoden mit einer geringen Flüssigkeitsmenge in das Gläschen abfüllen, nachdem der Behälter kurze Zeit senkrecht gestellt worden war. Dann wird unten ein frisches, steriles Auffanggläschen angesetzt und von oben Zuchtmedium nachgefüllt. Der Vorteil der Methode liegt in kontinuierlicher Arbeitsweise, geringem Materialaufwand und guter Nematodenproduktion (weil Kopulation und Eientwicklung auf dem Nährbodenfilm besser ablaufen als in Schrägröhrchenkulturen mit festen Medien).

Im Pepton-Glukose-Agar treten Dauerlarven alle zwei bis vier Wochen auf, eine Neuübertragung muß zweimonatlich erfolgen. Beim Ei-Nährboden braucht die Neuübertragung erst nach ungefähr einem Jahr vorgenommen zu werden, auch überschneidet sich hier die Nematodenentwicklung so, daß ständig Würmer aller Stadien nebeneinander vorhanden sind.

Zur Infektion der Insekten werden Petrischalen mit Aqua dest.-getränktem Filtrierpapier ausgelegt, mit 2000, maximal 10 000 *Neoapectana*-Larven je Schale besetzt (nach Weiser, 1966: 3000 bis 5000), mit den durch  $\text{CO}_2$  betäubten Wirten belegt (z. B. 50 Wachsmotten-Altraupen je Schale), zunächst 24 Stunden bei 30 °C und dann weitere fünf Tage bei 24 °C gehalten. Diese Methode wurde erstmalig von White (1927) beschrieben.

Die Gewinnung der Nematoden aus den infizierten Wirten erfolgt in sogenannten White-Fallen (White, 1927): Petrischalen-Hälften werden mit der Bodenfläche nach oben in Glasschalen von etwa 18 cm Durchmesser gelegt, mit Filtrierpapier überzogen, auf dieses die infizierten Insekten (z. B. die 50 Wachsmottenraupen aus den Infektionsschalen) gelegt, die Unterschale mit 0,5%igem Formalin bis unter das Bodenniveau der umgekehrt eingesetzten Petrischale aufgefüllt, abgedeckt und bei 24 °C gehalten. Die

auswandernden und über das feuchte Filtrierpapier in die Vorratsflüssigkeit gelangenden Nematoden können, je nach Produktion täglich oder in längeren Zeitabständen, abpipettiert oder mit der ganzen, dann zu ersetzenden Vorratsflüssigkeit abgegossen werden. Sie lassen sich durch Absetzen und Dekantieren oder durch grobe Glasfilterfritten reinigen und konzentrieren. (In einfacher Form, für Demonstration wie für orientierende Versuche gleich gut geeignet, ist dieses Verfahren bei Martignoni und Steinhaus (1961) beschrieben).

Die so gewonnenen Nematoden können monatlang in 0,5%igem Formalin ohne Verlust ihrer Infektionsfähigkeit aufbewahrt werden. Hierzu bleibt die Stammsuspension im Dunkeln bei + 5 bis + 7 °C in Ein- bis Vierliter-Glaskolben, die zur Erzielung einer möglichst großen Flüssigkeitsoberfläche nur zu  $\frac{1}{4}$  gefüllt sein sollen. Die Kolben werden entweder ständig mit Luft schwach durchspült oder die Suspension wird alle vier bis sechs Wochen unter Druck 30 Sekunden lang mit reinem Sauerstoff gesättigt.

Noch unbekannte Faktoren können gelegentlich den Inhalt solcher Vorratskolben ganz oder teilweise abtöten. Als Faustregel darf gelten, daß die Nematoden, die nach Ablauf der ersten fünf Wochen lebensfähig geblieben sind, dies auch weiterhin lange bleiben (Dutky, Thompson and Cantwell, 1964).

### VIII. Massenvermehrung

Die ersten Verfahren zur Massenzucht einer *Neoapectana*-Art wurden auch wieder bei *N. glaseri* für deren Einsatz gegen Japankäferlarven entwickelt. Sie gingen von Kalbfleischinfusionsagar aus, der, vor Ansatz der Kultur, mit 10 % Dextroselösung versetzt, in Petrischalen gegossen, mit einer Reinkultur lebender Backhefezellen überschichtet und mit Nematoden beimpft wurde. Die Ausbeute war gut, das Medium zu teuer. Nach Versuchen mit fermentiertem Kartoffelbrei plus Kalbfleischinfusionsagar wurde schließlich ein Fleischbreinährboden entwickelt, der (unter Zusatz von Bakterienhemmstoffen), auf flachen Blechen ausgebreitet, innerhalb von sieben Tagen bei 21 °C 9000 bis 12000 Nematoden je cm<sup>2</sup> Kulturfläche lieferte (Steinhaus, 1949).

Nematodengen zur Behandlung großer Feldareale, bei denen neben der Fläche auch noch ein Bereich der Bodentiefe zu berücksichtigen ist, kann man wohl nur mit derartigen Großverfahren produzieren. DD-136 und *N. carpocapsae*, überwiegend an oberirdisch lebenden und fressenden Wirten beobachtet oder erprobt, benötigen für ein Ausbringen im Freiland solche Mengen nicht. Die Pflanzen oder Pflanzenteile, an denen sie getroffen werden sollen, sind mit dosierbarem und gezieltem, also relativ sparsamem Verbrauch an Nematodensuspensionen zu behandeln. Für diesen Bedarf bietet die Vermehrung in ausgewachsenen Wachsmottenraupen ein mit nicht zu hohem Zeitaufwand verbundenes, dafür technisch unkompliziertes Verfahren. Auch Weiser (1966) schlägt es für diesen Zweck vor.

Seine Grundlage, die Wachsmottenzucht, beschreiben Dutky, Thompson und Cantwell (1962) wie folgt: Etwa 1000 schlüpfreife Wachsmotteneier werden auf den Boden eines 3,8-l-Weithalskolbens (1 US gallon) gegeben, mit einem halbsynthetischen, krümeligen Futterbrei (modifizierte Haydack-Mischung; Rezept loc. cit.) überschichtet, der Behälter dann mit einem feinmaschigen Drahtnetz fest abgedeckt und sechs Wochen bei 30 °C oder vier bei 34 °C dunkel gehalten. Die Altraupen spinnen den Kokon an der Glaswand oberhalb der Futtermischung und werden dreitägig abgesammelt. Sie können, wenn nötig, nach vorherigem Betäuben mit CO<sub>2</sub> bei 15 °C über ein Jahr unverpuppt gehalten werden. Die relative Luftfeuchtigkeit darf hierbei 60 % nicht überschreiten. Es sollen nur eingespinnene Raupen, nicht auch noch freie zusammengesetzt werden, da letztere sich gegenseitig wie auch

die Ruhelarven anfressen. Die 1000 Eier liefern im Mittel 500 eingespinnene Altraupen. Zur Eiablage werden 50 von ihnen in ein 500-ml-Glas gegeben und den bei 20 bis 22 °C nach acht Tagen schlüpfenden Faltern mehrfach gefaltete Wachspapierstreifen zur Eiablage geboten. Innerhalb weiterer acht Tage legen die 25 ♀♀ im Mittel 10 000 Eier. Diese schlüpfen bei 30 °C nach vier, bei 25 °C nach acht und bei 18 °C nach 30 Tagen. Aufschneiden der Gespinste ist zur Gewinnung der Altraupen zeitraubend. Es geht schneller, wenn sie für knapp 2 Minuten (nicht mehr: Tauchlösung erhitzt sich) in eine gepufferte Natriumhypochloridlösung getaucht, dann abgespült und getrocknet werden (käuflisches Eau de Javelle + 5%ige Natriumkarbonatlösung 1:1) (Dutky, Thompson and Cantwell, 1962).

Ein sehr einfaches und ebenfalls einfach zu handhabendes Zuchtmedium für DD-136 beschrieben House, Welch und Cleugh (1965): Hundekuchen in grober Granulatform (in Kanada: „Ken-L“ der Quaker Oats Co.; Körner drei bis neun mm Durchmesser) wird mit Aqua dest. 1:1 gemischt. 40 ml des Gemisches kommen in eine Petrischale, werden 15 Minuten bei 1,05 kg/cm<sup>2</sup> Druck autoklaviert und steril abgekühlt. Nach Infektion mit 1 bis  $2 \times 10^8$  Nematoden je Schale erscheinen wenige Tage später deren Nachkommen (bei 24 °C). Vom achten Tage an kann durch Spülen mit Aqua dest. abgeerntet und dieses bis zu sechs Mal innerhalb von acht Wochen wiederholt werden. Die Maximalproduktion je Schale erreicht bis zu  $1,8 \times 10^6$  Nematoden. Bakterizide werden der Nematoden-Begleitbakterien wegen nicht zugesetzt. Leichter Anflug von Fremdbakterien stört nicht. Durch starken Bakterien- oder Pilzwuchs verunreinigte Schalen werden ausgeschieden.

Dutky (1959) stellt die Produktivität künstlicher Nährböden (Glukose-Pepton, Eipulver) derjenigen von Wachsmottenraupen gegenüber. Es lieferten 1 g Zuchtmedium 300 000 Dauerlarven; 1 g Wachsmottenraupen 1 500 000 Larven (1 Raupe: 160 000 Larven). Für das vorstehend genannte Hundekuchensubstrat errechnen sich 45 000 Larven je g Substrat ( $1,8 \times 10^6$  Larven von 40 g Substrat je Schale). Zu gleichen Ergebnissen kommt Welch (1963 b): Die Nematodenvermehrung in Wachsmottenlarven ist nach Ausbeute je Gewichtseinheit des Zuchtsubstrats weit derjenigen auf Nährböden (mit Begleitbakterien) überlegen.

Für die Praxis müssen nach Ansicht des Referenten aber die Produktionskosten mit in die Rechnung gebracht werden, also diejenigen für Materialien und Arbeitszeit. Bei den Wachsmotten kostet das Material der Futtermischung (bzw. teurer, des Wachses). Die Pflege der Zuchten benötigt laufend eine, wenn auch mäßige Arbeitszeit. Bei den künstlichen Nematodennährböden kostet das Material bei Pepton-Glukose-Agar mehr, bei Eipulver weniger als das der Haydack-Mischung. Die Kosten des Hundekuchensubstrats liegen beträchtlich niedriger (geschätzt je Gramm Substrat nach westdeutschen Handelspreisen 1966). Der Zeitaufwand ist bei den Nährböden geringer als bei den Wachsmotten, weil in einem Arbeitsgang viele Schalen, Röhrchen oder Kolben zugleich hergerichtet und dann auf Vorrat gelegt werden können. Außerdem wird die Wahl des Verfahrens auch nach den Arbeitsbedingungen (mehr entomologisch oder mehr mikrobiologisch ausgerichtete Institute) entschieden werden müssen.

Die Infektion der Wachsmottenraupen erfolgt nach der in Abschnitt VII geschilderten Petrischalenmethode. Die Schalengröße und damit die Zahl der je Ansatz verwendbaren Raupen ist nicht begrenzt. Etwaiger Ausfall einer Schale durch z. B. Verpilzung (in der Literatur nur ganz nebenher erwähnt) erhöht jedoch bei größeren Einzelschalen auch das Verlustrisiko. In diesen Petrischalen (mit relativ hohen Nematodendosen von 10 000 Dauerlarven je Schale getestet) starben die Wachsmottenraupen bei 30 °C in 16 Stunden, bei 19 °C in 44 Stunden und bei 9 °C erst in 312 Stunden ab. Aus großen Altraupen von 138 mg, mittl. Gewicht ließen sich 153 000 Nematoden je Raupe (1110 je mg) gewinnen. Einspinnbereite, aber durch Hunger klein gebliebene



Wirte erbrachten entsprechend weniger: mittl. Raupengewicht = 44 mg, mittl. Ausbeute = 75 500 Nematoden (Dutky, Thompson and Cantwell, 1964).

Um die Nematodendichte einer gegebenen Suspension zu ermitteln, versetzt man 1 ml davon mit 99 ml verdünnten Glycerins (20 ml Glycerin:80 ml Aqua dest.), was rasches Absetzen der Würmer verhindert. Von dieser Aufbereitung sind je Muster vier 0,1-ml-Proben auszuzählen und die Werte entsprechend der Verdünnung 1:100 zu berichtigen (Dutky, Thompson and Cantwell, 1964).

Blake (1958) versetzt die auszuzählende Nematodensuspension mit 0,5 % Methylzellulose und verhindert so das Absetzen. Die Dichte dieser „stabilisierten“ Suspension wird dann im Absorptionsphotometer gemessen, nachdem einmal mit einer einfachen Zählkammer an verschiedenen, ebenfalls stabilisierten Suspensionen wechselnder Dichte eine Eichkurve aufgestellt worden war.

Das Abernten der Nematoden aus den White-Schalen erfolgt bei Kulturen geringen Umfanges durch Abpipettieren der Würmer oder durch Abgießen und Dekantieren der gesamten Auffangflüssigkeit. Für Massenzuchten bedarf das Verfahren der Vereinfachung, für die Carne und Reed (1964) eine gute Lösung beschreiben: Das Ablaufrohr eines 15 cm weiten Trichters erhält ein waagrecht angesetztes Rohrstück, das, ebenso wie das Ende des senkrechten Rohres, mittels eines Glashahnes weiter Bohrung verschlossen oder freigegeben werden kann. Vom waagerechten Rohrstück führt ein Schlauch zu einer höher als der Trichter montierten Vorratsflasche mit 0,5%iger Formalinlösung. In die Trichteröffnung wird ein runder, mit weitmaschigem Kuntstoffgewebe bezogener Rahmen waagrecht eingelegt und mit den infizierten, produktionsfähigen Raupen besetzt. Öffnet man, bei verschlossenem unteren Hahn, den seitlichen Zulauf, so kann man die Formalinlösung bis eben zum Niveau des Siebeinsatzes im Trichter steigen lassen. Die auswandernden Nematoden gelangen direkt in die Vorratslösung, sinken im Trichter bis zum unteren Hahn ab, werden täglich mit einer kleinen Flüssigkeitsmenge abgezogen und in die durchlüfteten Vorratskolben gegeben. Durch Schließen des unteren und vorsichtige Freigabe des seitlichen Hahnes wird dann der Wasserspiegel im Trichter erneut bis zum Siebeinsatz aufgefüllt. Mit entsprechenden Rohrverteilern lassen sich an eine genügend große Vorratsflasche beliebig viele Ausleserichter anschließen. Ihre Zahl wird nur vom gewünschten Umfang der Zuchten (und dem verfügbaren Platz) begrenzt.

## IX. Die „Dauerlarven“ als Infektionsstadium

Die Entwicklung der *Neoplectana* spp. vollzieht sich bei allen bisher untersuchten Arten im Wirtsinsekt. Lediglich die „Dauerlarven“ können frei lebensfähig bleiben und neue Wirte befallen. Aus diesem Grunde wurde ihren Lebensbedingungen und -ansprüchen besondere Aufmerksamkeit gewidmet.

### a) Temperatur

Bei 5 °C und darunter ist die Aktivität der Dauerlarven von DD-136 sehr gering. Ab 11 °C sind sie voll, erst ab 15 °C jedoch lebhaft beweglich. Von 30 bis 32 °C sinkt die Beweglichkeit wieder ab und wird Null bei 35 °C. Einstündiges Verweilen bei 35 °C gibt hohe, aber nicht 100%ige Mortalität; die Überlebenden erholen sich dann in Raumtemperatur sehr langsam. 18 Stunden Aufenthalt bei -10 °C tötete 70 % der Dauerlarven ab, die Überlebenden waren jedoch voll infektiös. Bei + 5 °C hielten sie sich unbegrenzt lange. Ebenso wenig schädigte die Überwinterung im gefrorenen

Boden (Versuche in den USA; Minnesota: 45° nördl. Breite) (Anonymus, 1956; Dutky, 1959; Schmiege, 1963, 1964a).

Die *N. carpocapsae*-Dauerlarven sterben bei 38°C nach 60 Minuten, bei 40°C nach 10 Minuten; der optimale Temperaturbereich ist hier nicht genannt. Temperaturen von 0°C schaden auch nach vier Stunden nichts, Einfrieren in Wasser tötet sie ab. Da im Freiland Einfrieren im Winter überstanden wird, bleibt noch zu klären, ob in den Verstecken der Dauerlarven, vor allem in den Wirtskadavern, die Temperaturen so weit absinken. Alle übrigen Stadien der *N. carpocapsae* sterben bereits bei 33 bis 34°C nach 60 Minuten, Frost überleben sie nur wenige Stunden (Weiser, 1966).

### b) Feuchtigkeit

In normal feuchter Erde (Wassergehalt nicht genannt) blieben die Dauerlarven von DD-136 sechs Monate lang am Leben. Experimentell ausgetrocknet und dann in 26% relativer Luftfeuchtigkeit verbracht, lebten sie bei 22°C nach 30 Minuten noch zu 90%, nach drei Stunden waren alle tot. Bei den Geschlechtstieren genügten bereits fünf Sekunden zur Abtötung. Ausgetrocknete, jedoch dann in wassergesättigter Atmosphäre (Schliffschale, über Aqua dest.) gehaltene Nematoden blieben unbegrenzt lange lebensfähig. Dementsprechend unterlagen sie auch im Versuch nur geringer Mortalität, wenn sie auf Kiefernzweige gesprüht wurden und mit diesen in hoher Luftfeuchtigkeit blieben. Bei schwankender Luftfeuchtigkeit (Gewächshaus: 60 bis 90% rel. Feuchtigkeit) sank jedoch die Abtötung zugesetzter Insektenlarven beträchtlich ab, ein Teil der Nematoden war schon in Trockenstarre gegangen (Schmiege, 1963, 1964a).

Nach Moore waren Dauerlarven auf gespritzten Blättern bei 30°C und 20% relativer Luftfeuchtigkeit nach 1,5 Stunden, bei 22 bis 25°C und 65% r.F. nach zwölf Stunden alle tot. Wurde bodenfeuchte Erde in kleinen, abgedeckten Dosen bei 70% r.F. gehalten, so waren die Nematoden in ihnen noch nach 20 Tagen aktiv (Moore, 1965).

In feuchtem Substrat oder auf feuchten Flächen können die Dauerlarven „beträchtliche Strecken (Dutky, 1959), aktiv zurücklegen, wobei „beträchtlich“ bei den etwa 0,6 mm langen Larven sehr relativ ist. Trockene Stellen werden nach dem gleichen Autor mittels eines eigenen, wässrigen Oberflächenfilms überwunden. Moore (1965) fand, daß DD-136-Dauerlarven auf feuchten Blattflächen 2 cm in 15 Minuten zurücklegen können.

Nach Reed und Wallace (1965) zeigen die Dauerlarven von DD-136 zwei Fortbewegungsformen: Auf rauher Fläche, z. B. Erde, bewegen sie das hochgestreckte Vorderende so lange „wedelnd“, bis es an einem Erdbrocken Halt findet und das Hinterende dann spannerartig nachgezogen werden kann. Auf glatten Unterlagen wird der Körper auch zunächst senkrecht aufgerichtet, dann aber zu einer Schlaufe zurückgekrümmt und aus dieser Stellung schließlich die ganze Larve fortgeschnellt (bis zu 10 mm weit). Ein Wasserfilm auf dem Substrat ist auch hier Vorbedingung.

In trockenen Wirtskadavern blieben die DD-136-Dauerlarven bis zu zwei Monate zwar inaktiv, jedoch lebensfähig (Anonymus, 1956; Dutky, 1959). Versuche, das Verdunsten der Sprühtröpfchen bei Freilandanwendung durch Spritzbrühenzusätze von Glycerin, Honig, Glukose, Sorbitol oder Agar zu verzögern und so die Nematoden länger auf pflanzlichen Oberflächen feucht zu halten, schlugen fehl. Glycerin gab außerdem Spritzschäden, Zucker und Honig Pilzwuchs auf den Pflanzen (Welch and Briand, 1961b).

Die *N. carpocapsae*-Dauerlarven halten Verweilen in durchlüftetem Wasser „lange“ aus. In Gegenwart eines Wasserfilms überdauern sie bei 4 bis 20 °C einige Monate lebend. Das gilt auch und vor allem für den Aufenthalt unter der Rinde, in der Vegetation und im Boden, sofern keine direkte Sonnenstrahlung einwirkt. Alle anderen Stadien sind gegen Austrocknung selbst geringster Dauer hochempfindlich (Weiser, 1966).

#### c) Empfindlichkeit gegen Chemikalien

Im Freiland können die Dauerlarven jederzeit mit Düngemitteln im Boden oder mit Pflanzenschutzmitteln an Kulturpflanzen in Kontakt kommen. Nach Dutky (Anonymus, 1956; Dutky, 1959; auch bei Schmiede, 1963) sind die Dauerlarven von DD-136 gegen Chlordan, DDT, Endrin, Lindan, Metoxychlor und Toxaphen sowie gegen Fungizide (Wirkstoffe nicht genannt) recht resistent. In wässrigen Suspensionen der genannten Insektizide hielten sie sich 7 Tage lang ohne nennenswerte Mortalität. Unbegrenzt langes Verweilen in 1/20 n KOH schädigte sie nicht. In 1/20 n HCl überlebten sie einen fünf-, nicht aber einen fünfzehnstündigen Aufenthalt. Gegen elementares Brom, Chlor und Jod (in dieser Reihenfolge steigend) sind sie hochempfindlich. Ein Netzmittel („Colloidal X-77“; USA) schädigte DD-136 nicht (Tanada and Reiner, 1962). Glycerin, Honig, Glukose, Sorbitol, Harnstoff und Agar waren als Spritzbrühenzusätze gegen rasches Abtrocknen der Tröpfchen nur in hohen Konzentrationen wirksam, dann jedoch z. T. toxisch für die Nematoden (Welch and Briand, 1961b).

Die *N. carpocapsae*-Dauerlarven vertragen 2%iges Formalin zwei Stunden lang, 4%iges nur 30 Minuten. Die übrigen Stadien sterben in 0,5%igem Formalin bereits innerhalb von 30 Minuten, die L<sub>1</sub> sind hier doppelt so widerstandsfähig wie die Adulten. In 5%igem Athylalkohol überlebten noch 10% der Dauerlarven nach vier Stunden (Weiser, 1966).

#### d) Empfindlichkeit gegen mechanische Faktoren

In Spritzgeräten des Handels, auch in Hochdruckspritzen, werden die Dauerlarven von DD-136, in wässriger Suspension ausgebracht, weder durch den Druck noch durch Passage und Grenzflächenreibung („shear“) in Rohrleitungen oder Düsen verschiedensten Typs geschädigt (Anonymus, 1956; Dutky, 1959; weiter alle Autoren der Berichte über Feldversuche). Als schädigungslos vertragenen Spritzdruck nennt Welch (1958) z. B. 1,82 kg/cm<sup>2</sup>, später 7,03 kg/cm<sup>2</sup> (= 100 p.s.i.) (Welch and Briand, 1961b; Welch, 1962).

#### e) Wirtsfindung

Über die Fähigkeit der Dauerlarven von *Neoaplectana* spp., Wirte aktiv aufzusuchen, gibt es keine Spezialuntersuchungen. Morphologisch als Chemorezeptoren deutbare Kutikularstrukturen legen den Verdacht auf aktive Wirtsfindung nahe. Dies wird um so wahrscheinlicher, als selbst in Knospen, unter Harzabsonderungen sowie unter Rinde lebende Wirte auch nach Ausbringung der Nematoden auf die betreffenden Pflanzen infiziert wurden. Schließlich parasitierten die Nematoden auch Wirtspuppen (Schmiede, 1963; vgl. weiter Tab. 1, Abschn. X).

#### f) Verhalten gegenüber Nichtarthropoden

Hierzu gibt es nur wenige konkrete Daten. Gartenschnecken („garden slugs“) wurden im Schalentest nicht befallen (Dutky, Thompson and Hough, 1955, 1962).

Schmiege (1963, 1964a) applizierte Dauerlarven von DD-136 mit Futter fünf Tage lang an vier *Microtus pennsylvanicus* (Ord). Morphologisch unbeschädigte, jedoch tote Nematoden wurden mit dem Kot ausgeschieden.<sup>4)</sup> Infektion von Warmblütern ist auch deshalb unwahrscheinlich, weil die Nematoden bereits ab 33 °C inaktiv werden und bei Temperaturen über 35 °C absterben. Gefährlosigkeit der DD-136 für Säuger wird bereits in allgemeiner Form nach Dutky (bei Anonymus, 1956) vermerkt, ebenso bei Dutky, 1959.

Weiser (1966) erwähnt eine mögliche direkte Gefährdung von Warmblütern durch *N. carpocapsae* nicht. Er warnt jedoch vor den Begleitbakterien (siehe Aufzählung in Abschn. IV), von denen einige pathogen werden könnten (z. B. Entzündung der Harnwege) und rät bei Laboratoriumsversuchen wie Freilandarbeiten zu entsprechender Vorsicht.

## X. Die Wirtsspektren

Die Erstveröffentlichung über *Neoaplectana* sp. „DD-136“ nennt außer *Carpocapsa pomonella* (L.) bereits sieben weitere voll und drei mäßig empfindliche Insektenarten als Wirte (Dutky and Hough, 1955). 1956 war die Zahl auf 35 bis 36 (Dutky, 1956), drei Jahre später auf über 100 gestiegen (Dutky, 1959). Neue Untersuchungen dürften die Liste fortlaufend erweitern (siehe z. B. Schmiege, 1963; Moore, 1965; Swenson, 1966).

Für *N. carpocapsae* nennt Weiser (1958) „Raupen verschiedener Lepidopteren“, 1964 „zehn (Lepidopteren-)Arten“. 1966 führt der gleiche Autor, außer *C. pomonella*, 9 Lepidopterenarten und je eine Coleopteren- sowie Hymenopterenart namentlich als empfindlich an. Sie sind in der Tabelle 1 enthalten, ebenso die beiden von Weiser (1966) als nicht-empfindlich gemeldeten Dipteren. Auch die Milbe *Tyrophagus noxius* Zachvatkin (Acari, Sarcoptiformes: Acarid.) war unempfindlich, konnte in den Zuchten aber die Nematoden von Schale zu Schale verschleppen.

Es läßt sich vorerst noch nicht entscheiden, ob zwischen den Wirtsspektren beider *Neoaplectana*-Formen grundsätzliche Unterschiede bestehen. Die Zahl geprüfter, namentlich aufgeführter Wirtsarten ist hierfür zu unterschiedlich. In der tabellarischen Übersicht im Schalentest untersuchter Wirte sind alle für DD-136 und *N. carpocapsae* angegebenen verzeichnet. Versuche an der Pflanze und im Substrat nach Laboratoriums- wie Freilandversuchen geben die weiteren Tabellen nur für DD-136 wieder.

Die Tabelle 1 verzeichnet 104 namentlich in den Originalarbeiten genannte Wirte. Sie gehören einem Großteil der Arthropodenklassen wie -ordnungen an und umfassen überwiegend Arten, die oberirdisch auf Pflanzen leben und fressen, zum geringeren Teile solche, die unter Pflanzenteilen verborgen oder in der Erde leben. Getestet wurden sie (Petrischale) unter Bedingungen, die für die Nematoden extrem vorteilhaft, für die Wirte entsprechend ungünstig waren: CO<sub>2</sub>-Betäubung, Isolierung von Pflanze, Substrat oder Schutzhülle. Die meisten der Arten und ihrer Stadien erlagen den Nematoden leicht, relativ wenige auffallend schnell (= „++++“). Es ist aber auch die Zahl wenig empfindlicher oder gar resistenter Arten nicht groß. Sogar Puppen und Adulte wurden im Schalentest in mehreren Fällen parasitiert. Das Wirtsspektrum von DD-136 ist demnach sehr breit und läßt für etwa noch zu prüfende Arthropodenarten (auch bei *N. carpocapsae*) mit erheblicher Wahrscheinlichkeit ebenfalls positive Befunde erwarten.

<sup>4)</sup> *M. pennsylvanicus* ist im Freiland der USA ein Prädator von Bodeninsekten, wird als Nützlichling also durch die Nematoden nicht gefährdet.

Tabelle 1

Empfindlichkeit von Arthropodenarten für *Neoaplectana* sp. „DD-136“  
und *N. carpocapsae* Weiser im Petrischalentest

(Routinemethode siehe Abschn. VII. Nematodendosis hier fortgelassen, da nicht in allen Arbeiten genannt. Liegt zwischen 2000 und 10000 je Schale. Empfindlichkeit der Wirtsstadien [La, Ny, Praepu, Pu, Ad] durch „+“ bis „++++“, bei Resistenz durch „neg“ ausgedrückt)

Ins.-Coleoptera				
<i>Aegorhinus phaleratus</i> Erichson (Curculionid.)	Chile	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
		Pu	+++	
<i>Anthonomus grandis</i> Boheman (Curculionid.)	USA	Ad	+++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962); Anonymus (1956)
<i>Anthonomus vestitus</i> Boheman (Curculionid.)	Peru	Ad	++	Tang (1958)
<i>Cotinis nitida</i> (L.) (Cetoniid.)	USA	La	neg	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Dermestes vulpinus</i> Fabr. (Dermestid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Epilachna varivestis</i> Mulsant (Coccinellid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
		Pu	+++	
		Ad	+++	
<i>Graphognathus</i> sp. (Curculionid.)	USA	La	+++	Anonymus (1956)
<i>Graphognathus leucoloma</i> Buchanan (Curculionid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Hylamorpha elegans</i> (Burm.) (Rutelid.)	Chile	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Hylobius radialis</i> Buchanan (Curculionid.)	USA	Ad	+++	Schmiege (1963)
<i>Hypera postica</i> (Gyllenhal) (Curculionid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
		Pu	+++	
<i>Lasioderma serricorne</i> (Fabr.) (Anobiid.)	USA	La	++++	Dutky & Hough (1955); Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
		La	+++	
<i>Leptinotarsa decemlineata</i> (Say) (Chrysomelid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962); Welch (1958)
	Canada	La	+++	
		Ad	++	
<i>Listroderus costirostris</i> <i>obliquus</i> (Klug) (Curculionid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962); Anonymus (1956)
<i>Lyctus</i> sp. (Lyctid.)	USA	Ad	++++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Monochamus scutellatus</i> (Say) (Cerambycid.)	USA	La	+++	Schmiege (1963)
		Pu	+++	
<i>Pantomorus</i> sp. (Curculionid.)	Chile	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Pissodes strobi</i> (Peck) (Curculionid.)	USA	Ad	neg	Schmiege (1963)

Tabelle 1 (Fortsetzung)

<i>Plagioderma versicolora</i> (Laicharteg) (Chrysomelid.)	USA	La Ad	++++ ++++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Tenebrio molitor</i> L. (Tenebrionid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)

## Ins.-Diptera

<i>Anastrepha ludens</i> (Loew) (Tephritid.)	USA	La Ad	+++ +++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Calliphora erythrocephala</i> L. (Calliphorid.)	ČSR	La	neg	<i>N. carpocapsae</i> ; Weiser (1966)
<i>Musca domestica</i> L. (Muscid.)	USA	La Pu	+++ +++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962);
	ČSR	La	neg	<i>N. carpocapsae</i> ; Weiser (1966)
<i>Tipula</i> sp. (Tipulid.)	Chile	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)

## Ins.-Hymenoptera

<i>Apis mellifera</i> L. (Apid.)	USA	La	++++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962); Cantwell & al. (1966), nach Dutky, in litt.
<i>Caliroa aethiops</i> Fabr. (Tenthredinid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Diprion similis</i> (Hartig) (Diprionid.)	USA	La	++++	Schmiege (1963)
Formicidae sp. („large brown ant“)	USA	Ad	++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
Formicidae sp. („small black ant“)	USA	La Ad	++++ neg	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Neodiprion</i> sp. (Diprionid.)	USA	La	++++	Dutky & Hough (1955)
<i>Neodiprion lecontei</i> (Fitch) (Diprionid.)	USA	La	++++	Schmiege (1963)
<i>Neodiprion americanus</i> <i>pratti</i> (Dyar) (Diprionid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Neodiprion sertifer</i> (Geoffr.) (Diprionid.)	ČSR	La	++	<i>N. carpocapsae</i> ; Weiser (1966)
<i>Pikonema alaskensis</i> (Rohwer) (Tenthredinid.)	USA	La	++++	Schmiege (1963)
<i>Pristiphora californica</i> (Marlatt) (Tenthredinid.)	USA	La	++++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Pristiphora erichsonii</i> (Htg.) (Tenthredinid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962);
		La	++++	Schmiege (1963)
		Praepu	+++	

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Ins.-Isoptera				
<i>Termes</i> sp. (Termitid.)	USA	Ad	+	Dutky & Hough (1955); Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
Ins.-Lepidoptera				
<i>Achroia grisella</i> (Fabr.) (Pyralidid.)	Peru	La	+++	Tang (1958)
<i>Agrotis</i> sp. (Noctuid.)	Chile	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Alabama argillacea</i> (Hbn.) (Noctuid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Antheraea pernyi</i> (Guérin) (Saturniid.)	ČSR	La	+++	<i>N. carpocapsae</i> ; Weiser (1966)
<i>Bombyx mori</i> (L.) (Bombycid.)	ČSR	La	+++	<i>N. carpocapsae</i> ; Weiser (1966);
	Peru	La	++++	Tang (1958)
<i>Carpocapsa pomonella</i> (L.) (Olethreutid.)	USA	La	++++	Dutky, Thompson & Hough (1955);
	ČSR	La	++++	<i>N. carpocapsae</i> ; Weiser (1966)
<i>Choristoneura fumiferana</i> (Clemens) (Tortricid.)	USA	La	++++	Schmiege (1963)
		Pu	+++	
<i>Choristoneura pinus</i> Freeman (Tortricid.)	USA	La	++++	Schmiege (1963)
		Pu	+++	
<i>Dendrolimus pini</i> (L.) (Lasiocampid.)	ČSR	La	+++	<i>N. carpocapsae</i> ; Weiser (1966)
<i>Diatraea saccharalis</i> (Fabr.) (Crambid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Ephestia elutella</i> (Hbn.) (Phycitid.)	USA	La	++++	Dutky & Hough (1955); Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
		La	+++	
<i>Ephestia kuehniella</i> (Hbn.) (Phycitid.)	Holland	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Epinotia aporema</i> Wals. (Olethreutid.)	Chile	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Estigmene acrea</i> (Drury) (Arctiid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Feltia subgothica</i> (Haw.) (Noctuid.)	USA	La	neg	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Galleria mellonella</i> (L.) (Galleriid.)	USA	La	++++	Dutky & Hough (1955); alle weiteren Autoren.
		Pu	+++	
	ČSR	La	++++	<i>N. carpocapsae</i> ; Weiser (1966)
<i>Gnorimoschema operculella</i> (Zeller) (Gelechiid.)	Chile	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)

Tabelle 1 (Fortsetzung)

<i>Harrisina americana</i> (Guérin) (Zygaenid.)	USA	La	++++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Heliothis armigera</i> (Hbn.) (Noctuid.)	USA	La (jung) La (alt)	+++ +	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Heliothis virescens</i> (Fabr.) (Noctuid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
	Peru	La	++++	Tang (1958)
<i>Heliothis zea</i> (Boddie) (Noctuid.)	USA	La	+++	Anonymus (1956); Tannada & Reiner (1962); Moore (1965)
<i>Hibernia defoliaria</i> (L.) (Geometrid.)	ČSR	La	+++	<i>N. carpocapsae</i> ; Weiser (1966)
<i>Hyphantria cunea</i> (Drury) (Arctiid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Hyponomeuta malinellus</i> Zeller (Hyponomeutid.)	ČSR	La	+++	<i>N. carpocapsae</i> ; Weiser (1966)
<i>Langsdorfia</i> sp.	Chile	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Laphygma</i> sp. (Noctuid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Laphygma frugiperda</i> (J. E. Smith) (Noctuid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Maculella noctuides</i> (Pfitzner) ( <i>Dalaca n.</i> ) (Hepialid.)	Chile	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Malacosoma americanum</i> (Fabr.) (Lasiocampid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Malacosoma neustria</i> (L.) (Lasiocampid.)	ČSR	La	+++	<i>N. carpocapsae</i> ; Weiser (1966)
<i>Mescinia peruella</i> Schaus (Pyralidid.)	Peru	La	+++	Tang (1958)
<i>Ostrinia nubilalis</i> (Hbn.) ( <i>Pyrausta n.</i> ) (Pyraustid.)	USA	La	++++	Dutky & Hough (1955); Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962); Anonymus (1956);
	ČSR	La	+++	<i>N. carpocapsae</i> ; Weiser (1966)
<i>Pectinophora gossypiella</i> (Saunders) (Gelechiid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962); Anonymus (1956); Tang (1958) (nach R. R. Sluss)
		La	+++	
<i>Pieris</i> sp. (Pierid.)	Holland	La	++++	Rühm (1957) (Appendix)
<i>Pieris rapae</i> (L.) (Pierid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962); Anonymus (1956)
<i>Plodia interpunctella</i> (Hbn.) (Phycitid.)	USA	La	++++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Pococera atramentalis</i> (Led.) (Pyralidid.)	Peru	La	+++	Tang (1958)



Tabelle 1 (Fortsetzung)

<i>Portbetria dispar</i> (L.) (Lymantriid.)	ČSR	La	+++	<i>N. carpocapsae</i> ; Weiser (1966)
<i>Protoparce sexta</i> Johann- son (Sphingid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Pseudaletia unipuncta</i> (Haworth) (Noctuid.)	USA	La La	++++ +++	Dutky & Hough (1955); Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Rhyacionia buoliana</i> (Schiff.) (Olethreutid.)	USA	La	++++	Schmiege (1963)
<i>Rhyacionia frustrana</i> (Comstock) (Olethreutid.)	USA	La	++++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Symmerista albifrons</i> (J. E. Smith) (Notodontid.)	USA	La	+++	Schmiege (1963)
<i>Trichoplusia ni</i> (Hbn.) (Noctuid.)	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962); Moore (1965)
„Tussock moth from milkweed“	USA	La	+++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)

## Ins.-Orthoptera

<i>Acheta domesticus</i> (L.) (Gryllid.)	USA	Ad	neg	Nema injiz.: Mort. = 100 %, keine Nema-Ver- mehrung. Moore (1965)
<i>Ageneotettix deorum</i> Scudder (Truxalid.)	USA	Ad	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Amphitornus coloradus</i> (Thomas) (Acridid.)	USA	Ad	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Aulocara elliotii</i> (Thomas) (Truxalid.)	USA	Ad	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Anabrus simplex</i> Haldeman (Tettigoniid.)	USA	Ad	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Blattella germanica</i> (L.) (Blattid.)	USA	Ny Ny Ad	++ + +	Dutky & Hough (1955); Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Bruneria brunnea</i> (Thomas) (Acridid.)	USA	Ad	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Melanoplus bruneri</i> Scudder (Acridid.)	USA	Ad	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Melanoplus mexicanus</i> Saus- sure (Acridid.)	USA	Ad	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Melanoplus packardii</i> Scudder (Acridid.)	USA	Ad	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Nauphoeta cinerea</i> (L.) (Blattid.)	USA	Ny Ad	++++ ++++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962); Dutky & Hough (1955); Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Periplaneta americana</i> (L.) (Blattid.)	USA	Ny Ad	+ +	Dutky & Hough (1955); Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Phlibestroma quadrimacu- latum</i> (Thomas) (Acridid.)	USA	Ad	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Ins.-Rhynchota				
<i>Aphrophora saragotensis</i> (Fitch) (Cercopid.)	USA	Ny	neg	Schmiede (1963)
<i>Blissus leucopterus insularis</i> (Barb.) (Lygaeid.)	USA	Ny Ad	+++ +++	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Brevicoryne brassicae</i> (L.) (Aphidid.)	USA	Ny Ad	+ +	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
<i>Dysdercus peruvianus</i> (Guérin) (Pyrrhocorid.)	Peru	Ad	+++	Tang (1958)
<i>Margarodes vitium</i> Giard (Margarodid.)	Chile	Ad	+++	Dutky, Thompson & Hough (1962)
<i>Planococcus citri</i> (Risso) (Pseudococcid.)	USA	Ny Ad	+ +	Dutky, Thompson & Hough (1955, 1962)
Diplopoda				
„Garden milliped“	USA	Ad	neg	Dutky, Thompson & Hough (1955)
Symphyla				
<i>Scutigera immaculata</i> (Newport) (Scutigerellid.)	USA	Ad	+++	Swenson (1966)
Acari				
<i>Tyrophagus noxius</i> Zach- vatkin (Sarcoptiformes)	ČSR	La Ny Ad	neg neg neg	<i>N. carpocapsae</i> ; Weiser (1966)

Für orientierende Laboratoriumsversuche an der Pflanze oder im Substrat schränkte sich die Zahl der Versuchsobjekte ein. Hier ging es einmal um die wirtschaftliche oder praktische Bedeutung der zu wählenden Art, dann aber auch um deren Lebensweise: Frei auf oder verborgen in der Pflanze bzw. im Substrat. Die hierzu publizierten Befunde stellt Tabelle 2 zusammen. Ihre Ergebnisse lassen sich wie folgt verallgemeinern: Frei auf Blattflächen applizierte Nematodensuspensionen infizieren fressende, lebendbewegliche Wirte nur dann, wenn eine hohe Luftfeuchtigkeit den Flüssigkeitsfilm mindestens 24 Stunden beständig hält. Sinkt die Luftfeuchtigkeit in dieser Periode zeitweilig tiefer als 90 %, so ist die Wirtsabtötung gering, ein Teil der Dauerlarven ist dann schon im Starrezustand. Auch hohe Allgemeinempfindlichkeit der betreffenden Art ändert hieran nichts. So gaben z. B. Versuche mit DD-136 in Kansas (USA) an Baumwollpflanzen nur mäßige Abtötung der Larven von *Pectinophora gossypiella* in den unreifen Kapseln (Tab. 2). Die Suspension trocknete offenbar zu rasch an, um den Nematoden noch das Eindringen in die Kapseln zu erlauben (Tang, 1958; nach R.R. Sluss). In der Erde (oder in ähnlichem Material) ist die Abtötung der Wirtsstadien gut: Verpuppungsbereite Kartoffelkäferlarven, Japankäferengerlinge, *Scutigera* in Borkenmehl. *Aedes*-Larven werden im Wasser der Zuchtschale leicht befallen (die Abwehrreaktion bleibt dabei außer Betracht; vgl. Abschn. VI), sofern nur eine ausreichende Relation Nematoden : Wirte gegeben ist. *N. carpocapsae*, auf Kartoffel-

blättern, tötete Larven des Kartoffelkäfers bis zu vier, Adulte bis zu zehn Tagen nach der Infektion ab. Larven von *Culex pipiens* L. gingen in Wasser mit einer Dauerlarvensuspension innerhalb von vier Tagen ein.

## XI. Ergebnisse und Probleme der Freilandanwendung von *Neoplectana*-Formen

In der Tabelle 3 ist versucht worden, die Ergebnisse von Freilandversuchen mit DD-136 in gedrängter Form zusammenzufassen. Leider gaben nur einige der Arbeiten für die in solchen Fällen wichtigen Faktoren konkrete Zahlen; die übrigen beschränkten sich auf eine Schilderung der wesentlichen Versuchsergebnisse.

Die Freilandversuchstiere lassen sich in zwei Gruppen ordnen: Solche, die frei auf der Pflanze fressen, und solche, die zumindest während eines Teils ihrer Entwicklung zwischen Blättern oder an bzw. unter Pflanzenteilen geschützt leben. Zur ersten Gruppe gehören von den Arten der Tabelle 3: *H. virescens*, *L. decemlineata*; bedingt weiterhin *D. similis*, *N. lecontei*, *P. alaskensis* (geschützt, sofern sie zwischen noch voll benadelten Kiefernzweigen fressen, sonst „frei“) und *P. rapae* (soweit junge Kohlpflanzen mit noch nicht geschlossenen Köpfen befallen sind). Zur zweiten Gruppe, geschützt lebend, zählen: *C. pomonella* (Altraupen im Gespinst), *H. zea* (Larven im Maisstengel), *H. brassicae* (Larven an der Pflanze im Boden), *H. radialis* und *M. scutellatus* (Larven unter Borke am Stammanlauf), *P. nubilalis* (Larven im Maisstengel) sowie *R. buoliana* (Larven in Knospen). *Aedes*-Larven nehmen als Wasserbewohner eine Sonderstellung ein, desgleichen die Honigbiene, der die Nematoden in Zuckerwasser geboten wurden.

In dieser Gruppierung ist auch schon der wesentliche Faktor für die Wirksamkeit der Nematoden ausgedrückt: Die Luftfeuchtigkeit. Frei auf der Pflanze war ein Infektionserfolg nur dann zu verzeichnen, wenn kühles oder feuchtes Wetter das rasche Abtrocknen der Nematodensuspension verhinderte. War es trocken, so blieb der Erfolg aus (*L. decemlineata*, *H. virescens*, *D. similis*, *N. lecontei*, *P. alaskensis*). Raupen des Kleinen Kohlweißlings auf Jungpflanzen zeigten nur mäßige, zwischen den Blättern der Kohlköpfe dann gute Abtötung durch DD-136. In Pflanzenteilen, also in Örtlichkeiten hoher Luftfeuchtigkeit lebende Insektenstadien erlagen den Nematoden leicht (*H. zea*, *H. brassicae*, *H. radialis*, *M. scutellatus* und *R. buoliana*). *P. nubilalis*, der Maiszünsler, zeigte eine Abtötung durch DD-136, die Briand und Welch (1963) als nahe derjenigen durch Insektizide bezeichnen. Es ist allerdings zu berücksichtigen, daß Mortalität des Wirts und Schäden an dessen Fraßpflanze nicht immer streng umgekehrt proportional sind; siehe unten bei *P. rapae*. Das gleiche gilt für die eingesponnenen Raupen der Obstmade an Stamm und Ästen. Die Baumrinde hält eine gewisse Feuchtigkeit ohnehin lange, der Laubschatten hemmt zu starke Austrocknung auch während des Sommers, so daß einmalige Applikation der DD-136 gegen die erste Obstmadengeneration auch zur Infektion der Einspinnraupen der zweiten Generation, drei Monate später, genügte (Dutky, 1959).

Moore (1965) erhielt eine 46%ige Abtötung der *H. zea*-Raupen (geschützt in der Pflanze), nur 27%ige Mortalität bei *Trichoplusia ni* und eine ganz geringe Infektion nur bei den freilebenden, nicht geschützten Grillen (*Acheta domestica*).

Der Feuchtigkeitsempfindlichkeit von DD-136 kann man also Rechnung tragen, indem sie nur gegen geschützt lebende Wirtsstadien eingesetzt wird. Versuche, durch Zusätze zur Spritzbrühe deren Abtrocknen zu verlangsamen, schlugen alle fehl,

Tabelle 2

Empfindlichkeit von Arthropodenarten für *Neoplectana* sp. „DD-136“ im Laboratoriumsversuch an der Wirtspflanze oder im Substrat (Dosis in Nema./ml Suspension, in Nema./Pflanze oder in Nema./Substratvolumen. Mortalität in Prozent; wenn im Original nicht genannt, dann in „neg.“ oder „+“ bis „++++“; Angaben fehlend: —. r.F. = relative Feuchtigkeits)

Art (Familie) (Land)	Pflanze bzw. Substrat	Wirtsstadium	Applikation der Nema.-Suspension	Dosis	Mortalität	Versuchsbedingungen	Autor(en)
<i>Aedes aegypti</i> (L.) (Dipt.-Culicid.) (Canada)	Wasser	La	Zusatz	äquivalent mit 500 000 bis 150 000 Nema./m <sup>2</sup> Wasserfläche 0,9—1,9 Nema./je Wirts-La	+++	Labor (Schalen)	Welch (1960, 1962)
<i>Apis mellifera</i> L. (Hym.-Apid.) (USA)	Trinkwasser der Bienen	Ad	Zusatz	—	+++ neg.	Labor (Schalen) Kleinkäfig im Labor	Welch & Bronskill (1962) Duky & Hough (1955); Duky, Thompson & Hough (1955, 1962) Schmiege (1963)
<i>Choristoneura fumiferana</i> (Clemens) (Lep.-Tortricid.) (USA)	Tanne	La	Spritzung	500 Nema./Zweig	+++	—	Schmiege (1963)
<i>Choristoneura pinus</i> Freeman (Lep.-Tortricid.) (USA)	Kiefer	La	Spritzung	500 Nema./Zweig	+++	—	Schmiege (1963)
<i>Diprion similis</i> (Hartig) (Hym.-Diprionid.) (USA)	Kiefer	La	Spritzung	500 Nema./Zweig	100% bei +++ bei	r.F. 90% r.F. 60—90%	Schmiege (1963)
<i>Heliothis virescens</i> (F.) (Lep.-Noctuid.) (USA)	Tabak	La	Spritzung	—	24 h: 66% 48 h: 100%	bei konstant 24,5°C und feuchten Blättern	Chamberlin & Duky (1958)
<i>Hylemya brassicae</i> (Bouché) (Dipt.-Anthomyid.) (Canada)	Kohlblättr in Petrischale	La	Auftropfen	370—640 Nema./Schale	24 h: 70% 96 h: 100%	r.F. nahe 100%	Welch & Briand (1961a)

<i>Lepinotarsa decemlineata</i> (Say) (Col.-Chrysomelid.) (Canada)	Kartoffel	L <sub>1-4</sub> Ad	Spritzung	5—186 Nema./ cm <sup>2</sup> Blatt	100% (nach 36 bis 48 h) (LD <sub>50</sub> = 8 Nema./cm <sup>2</sup> )	Gewächshaus r.F. 80%	Welch & Briand (1961a, b)
<i>Neodiprion lecontei</i> (Fitch) (Hym.-Dipterid.) (USA)	Erde (zur Verpuppung)	L <sub>4</sub>	Gießen	32—115 Nema./ml Erde	36—60%	Blehdosen mit Erde im Labor	Welch & Briand (1961b)
<i>Pectinophora gossypiella</i> (Saunders) (Lep.-Gelechiid.) (USA-Kansas)	Kiefer	La	Spritzung	500 Nema./ Zweig	100% bei ++ bei	r.F. 90%	Schmiege (1963)
<i>Piconema alaskensis</i> (Rohwer) (Hym.-Tenthredinid.) (USA)	Baumwolle	La	Spritzung	50 000 Nema./ ml	50%	r.F. 60—90%	Tang (1958) (nach R. R. Sluss)
<i>Popillia japonica</i> Newman (Lamellic.-Rutelid.) (USA)	—	La	Spritzung	500 Nema./ Zweig	100% bei ++ bei	r.F. 90%	Schmiege (1963)
<i>Protoparce sexta</i> (Johannson) (Lep.-Sphingid.) (USA)	—	Präpu	Spritzung	500 Nema./ Zweig	++ bei	r.F. 60—90%	
<i>Scutigella immaculata</i> (Newport) (Symphyla-Scutigerellid.) (USA)	Erde	La	Gießen	—	++ ++	Behälter mit Erde im Labor	Ducky, Thompson & Hough (1962)
<i>Symmerista albifrons</i> (J. E. Smith) (Lep.-Notodontid.) (USA)	Tabak	La	Spritzung	—	24 h: 66% 48 h: 100%	bei konstant 24,5°C und feuchten Blät- tern; r.F. 90%	Chamberlin & Dutky (1958)
<i>Trioboplusia ni</i> (Hbn.) (Lep.-Noctuid.) (USA)	Lärchen- Borkenmehl	Ad	Zusatz	2000 Nema./ Schale/50 Wirte	24 h: 100%	im feuchten Substrat der Versuchsschale	Swenson (1966)
	(Eiche)	La	Spritzung	500 Nema./ Zweig	++	—	Schmiege (1963)
	Kohl (Topf- pflanzen)	L <sub>3-5</sub>	Spritzung	20—30 Nema./ Blatt	27,3%	25°C r.F. 95%	Moore (1965)

Tabelle 3

## Freilandversuche

[Dosis in: Nema. je ml Suspension, Nema. je Pflanze oder Nema. je Blattfläche. Wurden Mortalität in Prozent, bei fehlenden Zahlenangaben in „+“ bis „++++“ bzw. „neg.“ umgerechnet. Angaben fehlend: „—“, vermutet: (...) (= im Original nicht ausdrücklich

Wirtsart (Familie) (Land)	Jahr	Pflanze bzw. Substrat	Wirtsstadium	Applikation der Nema.-Suspension
<i>Aedes</i> sp. (Dipt.-Culicid.) (Canada)	(1959)	Wassertümpel	La	Gießen
<i>Apis mellifera</i> (L.) (Hym.-Apid.) (USA)	—	Versuchsbienenstock	Ad	Zusatz zum Zuckerwasser
<i>Carpocapsa pomonella</i> (L.) (Lep.-Olethreutid.) (USA)	—	Obstbäume	La im Verpuppungsgespinst	Spritzen (Stämme und Äste)
<i>Dysdercus peruvianus</i> (Guérin) (Rhynch.-Heteropt.-Pyrrhocorid.) (Peru)	1957 1958	Baumwolle (Einzelpflanzen, in Kästen, Freiland)	La Ad	Spritzen
<i>Heliothis virescens</i> (L.) (Lep.-Noctuid.) (USA)	1957	Tabak	L <sub>3</sub>	Spritzen
<i>Heliothis zea</i> (Boddie) (Lep.-Noctuid.) (USA)	— 1957	Mais Süßmais	La La	Spritzen in Blattscheiden mit Pipette getropft
	1958 bis 1959	Mais	La	1 ml in jede Blattscheide getropft
<i>Hylemya brassicae</i> (Bouché) (Dipt.-Anthomyiid.) (Canada)	1958 bis 1960	Kohlarten	La an Wurzel im Boden	Gießen  Kadav. Eingraben

mit *Neoplectana* sp. „DD-136“

Tabelle 3

ganze, infizierte *Galleria*-La. ausgebracht, so ist bei „Applikation“ „Kadav.“ vermerkt. War die Mortalität in Wirtsdichte vor und nach Behandlung angegeben, so wurde in Prozent genannt]

Dosis	Mortalität bzw. geschädigte Pflanzen			Bemerkungen	Autor(en)
	DD-136	Unbehandelt	Insektizide		
—	+++	—	—	Deutliche Reduktion der Mückenpopulation. Nema.-Überleben bis zum nächsten Jahr noch nicht nachgewiesen	Welch (1962); Welch & Bronskill (1962); Briand & Welch (1963)
—	neg.	—	—	—	Cantwell & al. (1966) (nach Dutky)
—	60—70 %	—	—	Behandlung der Generation 1 wirkt noch 3 Monate später gegen Generation 2. Nema. an Rinde durch Laubschatten vor Austrocknung geschützt	Dutky & Hough (1955); Anonymus (1956); Welch (1956); Dutky (1959); Dutky, Thompson & Hough (1962); Welch (1962)
48 000 bis 144 000 Nema./ Pflanze	35,8 % 22,2 %	23 % 25 %	— —	—	Tang (1958)
50 000 Nema./ Pflanze	80—85 %	—	—	bei max. 24 °C und Regen	Chamberlin & Dutky (1958) (Welch 1962)
—	neg.	—	—	bei max. 32 °C und Trockenheit	
—	60—70 %	—	—	—	Anonymus (1956)
2000—6000 Nema./Blatt- trichter	75,3— 78,3 %	75,7 %	—	6× behandelt (Serie 1) 9× behandelt (Serie 2)	Tanada & Reiner (1962)
4000 und 9000 Nema./ Blattscheide	19—59 % (im Mittel 42 %)	—	—	Bewertung 72 h nach Applikation	Moore (1965)
3,3—5,1 × 10 <sup>8</sup> Nema./ Pflanze	52—65 %	71—80 %	8—44 %	—	Welch & Briand (1961a); Welch (1962); Briand & Welch (1963)
1,0—1,5 × 10 <sup>8</sup> Nema./ Pflanze	80—96 %	50—96 %	0—94 %	—	

Wirtsart (Familie) (Land)	Jahr	Pflanze bzw. Substrat	Wirtsstadium	Applikation der Nema-Suspension
<i>Hylobius radicis</i> Buchanan (Col.-Curculionid.) (USA)	(1962)	Kiefer (unter Rinde am Boden)	La	Gießen
<i>Leptinotarsa decemlineata</i> (Say) (Col.-Chrysomelid.) (Canada)	1957	Kartoffel	La, Ad	Spritzen
	1958 1959	Kartoffel	L <sub>3</sub> , L <sub>4</sub>	Spritzen
<i>Monochamus scutellatus</i> (Say) (Col.-Cerambycid.) (USA)	(1962)	(Kiefer)	La, Pu unter Rinde	(Gießen)
<i>Musca domestica</i> (L.) (Dipt.-Muscid.) (USA)	—	Kot in Hühnerställen	La	(Gießen)
<i>Pieris rapae</i> (L.) (Lep.-Pierid.) (Canada)	1960	Kohljungpflanzen Kohlköpfe	La	Auftropfen (2 Behandlungen)
	1963 1965	Kohl- (Köpfe)	La	Einlegen zwischen Blätter Spritzen (2 Behandlungen)
<i>Pyrausta nubilalis</i> (Hbn.) (Lep.-Pyraustid.) (Canada)	1960	Mais	La	in Blattachsel getropft
	(1961)			
<i>Rhyacionia buoliana</i> (Schiff.) (Lep.-Olethreutid.) (USA)	(1962)	Kiefer	La (in Knospen und Harzgallen)	(Spritzen)

Welch und Briand (1961 b) (vgl. Abschn. IX, b). Ebenso brachte es keinen Erfolg, die Spritzung am späten Abend vorzunehmen und so während der Nachtstunden mit ihrer hohen Luftfeuchtigkeit den Suspensionsfilm zu erhalten (Briand and Welch, 1963). Kohlweißlingsraupen (*P. rapae*) auf Jungpflanzen waren schlecht zu infizieren,



(Fortsetzung)

Dosis	Mortalität bzw. geschädigte Pflanzen			Bemerkungen	Autor(en)
	DD-136	Unbehandelt	Insektizide		
—	+++	—	—	—	Schmiege (1963)
20 000 Nema./Pflanze	35 % (Befallsrückgang in Prozent)	21 %	—	Regen; Sommer naß (Befallsrückgang statistisch gesichert bei Nema; bei Unbehandelt nicht)	Welch (1958)
500—4000 Nema./ml (= 5—36/cm <sup>2</sup> Blatt)	5—38 % (Befallsrückgang in Prozent)	0—39 %	—	Sommer warm, trocken (Befallsrückgänge nicht statistisch gesichert)	Welch & Briand (1961b); Welch (1962); Briand & Welch (1963)
—	++	—	—	—	Schmiege (1963)
—	40 % nach 48 Stunden	—	—	Kot in behandeltem Stall 3 Monate lang frei von Fliegenlarven	Dutky (1967)
3,4 × 10 <sup>5</sup> plus 1,5 × 10 <sup>5</sup> Nema./Pflanze	27 % 77 %	0,9 % 4,0 %	89 % 82 %	9 Tage nach Behandlung 16 Tage nach Behandlung	Welch & Briand (1961a); Welch (1962); Briand & Welch (1963)
Kadaver	26 %	4,0 %	82 %	16 Tage nach Behandlung	
1840—3120 Nema./ml	Reduktion 11,7—10,7 auf 1,5—1,1 La/Pflanze	Reduktion 21,0 auf 0,9 La/Pflanze	Reduktion 7 auf 0,8 La/Pflanze	Nema.-Wirkung erst in dritter Woche nach Spritzung	Fox & Jaques (1966)
5000 Nema./Blattachsel (2 Wiederholungen)	26,3 % (... geschädigte Kolben ...)	34,2 %	5,4 %	Differenz statistisch gesichert	Welch & Briand (1961a)
—	Nema.-Mortalität wie bei Insektizid	—	—	—	Briand & Welch (1963)
—	++++	—	—	—	Schmiege (1963)

zwischen den Blättern der Kohlköpfe dagegen weit besser. Hier erwägen Briand und Welch (1963), die Jungpflanzen chemisch, die alten dann mit DD-136 zu bekämpfen. Diese Form integrierter Bekämpfung würde biologisch sinnvoll sein und das Erntegut rückstandsfrei halten.

Bei diesen zuletzt genannten Versuchen (DD-136 gegen *Pieris rapae*) trat eine Schwierigkeit auf, die in Tabelle 3 nicht zum Ausdruck kommen konnte. Um sich zu infizieren, müssen die Raupen Blattsubstanz mit Nematoden fressen. Je höher die Raupendichte, um so höher ist auch die Infektionswahrscheinlichkeit. Gleiches vermerken Fox und Jaques (1966): Der Rückgang der Raupenzahlen je Kohlpflanze war erst drei Wochen nach der Behandlung so hoch wie bei den Vergleichsmitteln. So ist, scheinbar paradox, die Raupenmortalität durch DD-136 in den Versuchspartzellen groß, in denen die Fraßschäden spürbar waren. Dieser Umstand wird es also verbieten, in solchen, besonders gelagerten Fällen Nematoden allein einzusetzen.

Zu der wichtigen Frage, wie lange sich DD-136 im Freiland halten kann, liegen nur wenige Daten vor. Überwinterung im Boden wird auch bei Frosttemperaturen gemäßigter Klimazonen von den Dauerlarven ertragen (Abschn. IX, a). In normal feuchter Erde (ohne Frosteinwirkung) sind sechs Monate Überleben nachgewiesen (Abschn. IX, b). Nach den Versuchen gegen *C. pomonella* bleiben die DD-136 etwa drei Monate lang lebend am Stamm (von Gen. 1 bis Gen. 2: Dutky, 1959). Bei Versuchen gegen *H. brassicae* konnte auf mindestens einmonatiges Überleben der Nematoden im Sommer geschlossen werden. In leichtem, sandigem Boden waren lebende DD-136 noch im Jahr nach der Ausbringung nachzuweisen (Kanada: Welch and Briand, 1961 a). Ob die Nematoden in behandelten Wassertümpeln überwintern können, ist noch ungeklärt (Welch, 1960). Bei *N. carpocapsae* gibt Weiser (1964) an, daß die Art noch nach drei Jahren an den natürlichen Primärherden des Erstnachweises vorhanden war. Praktische Versuche sind bis 1966 bei dieser Nematode noch nicht publiziert worden. Grundsätzlich dürften jedoch die Grenzen und Möglichkeiten ihres Einsatzes denen von DD-136 ähnlich sein.

## XII. Schlußbetrachtung

Den Abschluß der Übersicht soll eine kurze Gegenüberstellung alles dessen bilden, was für wie gegen die Brauchbarkeit beider *Neoaplectana*-Formen als Insektenparasiten verzeichnet werden kann. Entsprechend den Literaturangaben sind die meisten Aussagen nach Arbeiten über DD-136 gewonnen worden. Sie dürften in fast allen Punkten jedoch auch für *N. carpocapsae* zutreffen. Nur wo dies nicht der Fall oder noch offen ist, wird es ausdrücklich erwähnt.

Beide Nematoden benötigen freies Wasser. Sein Fehlen versetzt die Dauerlarven in Starre. Wirtsinfektion ist nur in feuchtem Milieu (Erde, unter Rinde, zwischen Pflanzenteilen, in Wasser) möglich.

Der Aktionsradius der Nematoden ist gering. Nur auf einem Wasserfilm können sie kurze Strecken wandern. Die Wirte werden im Rahmen dieser Fortbewegungsmöglichkeit aktiv aufgesucht, doch ist dies noch kaum näher untersucht worden. Von befallenen Wirten werden sie nicht verbreitet, weil diese kurze Zeit nach der Infektion sterben.

Das Wirtsspektrum ist groß (zumindest bei DD-136, wahrscheinlich auch bei *N. carpocapsae*). Dies könnte auch Gefahren für Nutzinsekten (Prädatoren, Parasiten) einschließen. Nachgewiesen ist derartiges bisher nicht, adulte Honigbienen sind resistent.

Wirtsresistenz durch Phagozytenreaktion wurde bisher erst in einem sehr speziellen Fall nachgewiesen. Die eingekapselte Nematode kam hier zwar nicht zur Vermehrung, ihre Begleitbakterien töteten den Wirt jedoch ab. Der Anteil gar nicht erst befallener Wirte ist innerhalb der Gesamtzahl geprüfter Arten auffallend gering.

Warmblüter sind durch DD-136 nicht gefährdet.

Die Massenzucht beider Nematoden auf Nährböden setzt ein gewisses Maß an Einrichtungen und mikrotechnischen Fähigkeiten voraus. Die Massenzucht an Wachsmottenraupen als Ersatzwirten bietet nach Verfahren und Zeitaufwand nicht mehr, eher weniger Schwierigkeiten als z. B. Massenzuchten von Nutzinsekten.

Dauerlarven aus Nematoden-Massenzuchten können viele Monate lang vorrätig gehalten, während des Winters also für die Vegetationsperiode angesammelt werden.

Die Dauerlarven sind sehr widerstandsfähig gegen Austrocknung, Frost und hohe Lufttemperaturen. Sie verfallen dann zwar in Starre, werden aber zu einem erheblichen Teil wieder aktiv, sobald optimale Bedingungen erreicht sind.

Gegen Chemikalien (Pestizide, Spritz-Hilfsstoffe usw.) sind die Dauerlarven resistent. Druck wie Reibung in Rohren und Düsen üblicher Spritzgeräte schaden nicht (bei DD-136 nachgewiesen). (Hinweise hierzu bei: Anonymus, 1956; Briand and Welch, 1963; Dutky, 1959; Dutky, Thompson and Cantwell, 1964; Rühm, 1957; Schmiede, 1963, 1964; Weiser, 1966; Welch, 1962, 1963, 1965; Welch and Briand, 1961 a, 1961 b).

Universalnützlinge gibt es nicht. Alle stellen nach Produktionsverfahren, Wirkkreis und Anwendungsbereich spezielle Anforderungen. Dies ist gerade ihr Hauptwert. In der vorstehenden Gegenüberstellung sollte also nicht „plus“ gegen „minus“ ausgezählt werden. DD-136 ist in Massen züchtbar, leicht zu konservieren und gegenüber abiotischen wie technischen Einflüssen sehr hart. Die Nematode ist hochempfindlich gegen Trockenheit. Ihr Anwendungsbereich sind also Wirtsstadien in entsprechenden Habitaten hoher Luftfeuchtigkeit: Obstmadenraupen bei der Verpuppung, Bohrraupen in Pflanzenstengeln (Maiszünsler z. B.) oder Arthropodenstadien an Wurzeln oder unter Baumrinde. Dauernde Etablierung der DD-136 nach einer Anwendung ist in Dauerkulturen möglich, bei Fruchtwechsel nicht. Im letzteren Falle ist jährlich also Neuausbringung erforderlich. In allen Fällen könnte DD-136 ein wertvoller Faktor in einem integrierten Bekämpfungsprogramm werden.

### XIII. Zusammenfassung

Bis 1966 sind 15 (16) Arten der Nematodengattung *Neoaplectana* (Rhabditoidea: Steinernematidae) beschrieben worden. Alle sind obligatorische Insektenparasiten mit spezifischen, obligatorischen Begleitbakterien. Zwei von ihnen, *Neoaplectana* sp. „DD-136“, Dutky et Hough und *N. carpocapsae* Weiser wurden aus Raupen von *Carpocapsa pomonella* (L.) (Lep.: Olethreutid.) isoliert. Nur diese beiden werden hier als Übersicht über die verfügbaren Publikationen behandelt.

Es ist noch ungeklärt, ob *Neoaplectana* sp. „DD-136“ und *N. carpocapsae* getrennte Arten sind oder nicht.

Der Entwicklungsgang beider Formen wird beschrieben. Nur in Gegenwart der Begleitbakterien ist eine fortlaufende Folge der Nematodengenerationen im Wirt möglich.

Als Begleitbakterien werden für *N. carpocapsae*: *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula (aber auch *P. septica* Bergey et al.) genannt. Bei DD-136 handelt es sich um *Achromobacter nematophilus* Poinar et Thomas.

Wichtige Grundlagen zur Physiologie, über den Wuchsstoffbedarf und die Vermehrungsbedingungen beider Nematoden lieferten axenische, bakterienfreie Kulturen auf künstlichen Nährböden. Hieraus wurden dann Verfahren zur Massenzucht abgeleitet.

Diese kann auf künstlichen, dann sorgfältige Handhabung erfordernden Nährböden erfolgen. Einfacher ist die Vermehrung in lebenden Ersatzwirten: Wachsmottenraupen. Die Verfahren werden ausführlich beschrieben.

Infektionsstadien der *Neoaplectana*-Formen sind die „Dauerlarven“ (L<sub>3</sub> in der L<sub>2</sub>-Exuvie). Sie vertragen in diesem Zustande einen breiten Spielraum ungünstiger Umweltsbedingungen und sind gegen Chemikalien wie mechanische Faktoren weitgehend resistent. Aktiv zur Parasitierung befähigt sind sie nur in Gegenwart eines Wasserfilms.

Das Wirtsspektrum von DD-136 ist breit (104 Arten namentlich genannt). Für *N. carpocapsae* liegen Angaben nicht vor. Diese orientierenden Erstbewertungen erfolgten in Schalenversuchen unter optimalen Feuchtigkeitsbedingungen. An der Pflanze oder im Substrat schränkt sich der Wirkkreis ein. Nur Bedingungen, die optimale Feuchtigkeit sichern, liefern hier hohe Wirtsparasitierung. Dies wird tabellarisch für Zucht- wie Feldversuche dargestellt.

Danach sind frei auf Blattflächen fressende Wirte für den Einsatz von DD-136 nur bedingt geeignet, gut hingegen alle in oder zwischen Pflanzenteilen lebende. In diesem Sinne wägt eine Schlußbetrachtung noch einmal Für und Wider gegeneinander ab. Zumindest DD-136 ist für den Einsatz allein oder in einem integrierten Programm aussichtsreich.

### Summary

Until the end of 1966, 16 species (or forms) were described within the nematode genus *Neoaplectana* (Rhabditoidea: Steinernematidae). They all are obligatory insect parasites with associated specific bacteria. Two of them, *Neoaplectana* sp. „DD-136“, Dutky et Hough and *N. carpocapsae* Weiser were isolated from larvae of *Carpocapsa pomonella* (L.) (Lep.: Olethreutidae). These two only are treated here in a review of the available literature. The taxonomic position of both forms as separate or identical species is not yet sufficiently elucidated.

Their development is described. Only in the presence of the associated bacterium development and continuous production of nematode generations in the host are possible.

*Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula is cited as associate of *N. carpocapsae* (but *P. septica* Bergey et al. as well). From DD-136 *Achromobacter nematophilus* Poinar et Thomas is described.

Cultivation of axenic, bacteria-free, nematodes on artificial media revealed fundamental information on their physiology, nutritional requirements, and conditions of development. This led to methods of mass cultivation.

These may use semi-synthetic media which need careful and skilled handling. A simpler method consists in propagating the nematodes on living hosts: larvae of the greater wax moth. These procedures are described, compared, and evaluated.

The infective stage of the *Neoaplectana*-forms are the L<sub>3</sub>, ensheated in the cuticle of the L<sub>2</sub> („dauerlarvae“). They withstand a broad variety of adverse environmental conditions. They are resistent to chemical and mechanical factors like pesticides or pressure in conventional spray equipment. They will become active only in the presence of an aqueous film.

The host range of DD-136 is broad. All arthropod species found to be accepted are listed by name in table 1. For *N. carpocapsae*, detailed information is lacking. The first tests on host susceptibility were always made in Petri dishes under optimal conditions of humidity. On the plant, within its parts or within the soil, the range of hosts found to be susceptible in the insectary or in the field is limited by conditions which secure

optimal humidity. This is exemplified in tables 2 and 3 by the data assembled from the literature.

Free feeding arthropods on leaves will offer only limited prospects for successful application of the neoplectanid forms. The chances for treating hosts living in plants or between their parts are good. Final considerations conclude that at least DD-136 will offer advantages if applied alone or as part of an integrated control program.

#### XIV. Literatur

(\* = nicht im Original eingesehen; ausgewertet wurden alle dem Verf. bis einschließlich Juni 1967 zugänglich gewordenen Arbeiten)

- Anonymous, Nematode on our side. Agric. Res. (US Dept. Agric.) 4. 1956, 3—4.
- Baker, A. D., Check lists of the nematode superfamilies Dorylaimoidea, Rhabditoidea, Tylenchoidea, and Aphelenchoidea. Leiden, 1962, XI + 253 p.
- Bergey's manual of determinative bacteriology. Baltimore (6. ed.), 1948.
- manual of determinative bacteriology. Baltimore (7. ed.), 1957.
- Blake, C. D., A turbidimetric method for estimating the number of nematode larvae in a suspension. Proc. Linnean Soc. New South Wales 83. 1959, 241—244.
- Briand, L. J., and Welch, H. E., Use of entomophilic nematodes for insect pest control. Phytoprotection 44. 1963, 37—41.
- Cantwell, G. E., Knox, D. A., Lehnert, T., and Michael, A. S., Mortality of the honey bee, *Apis mellifera*, in colonies treated with certain biological insecticides. J. Invertebrate Pathol. 8. 1966, 228—233.
- Carne, P. B., and Reed, E. M., A simple apparatus for harvesting infective stage nematodes emerging from their hosts. Parasitology 54. 1964, 551—553.
- Chamberlin, F. S., and Dutky, S. R., Tests of pathogens for the control of tobacco insects. J. econ. Ent. 51. 1958, 560.
- Chitwood, B. G., and Chitwood, M. B., An introduction to nematology. Baltimore, Sect. 1, 1937. pt. 1, 372 p.
- Dutky, S. R., Insect microbiology. Advances appl. Microbiol. 1. 1959, 175—200.
- , An appraisal of the DD 136 nematode for the control of insect populations and some biochemical aspects of its host-parasite relationships. Abstr. Papers U.S.-Jap. Seminar "Microbial control of insect pests" (Fukuoka, 1967). U.S.-Jap. Committ. Sci. Coop., Panel 8, Res. Pesticides, 49—50 (mimeograph).
- , and Hough, W. S., Note on a parasitic nematode from codling moth larvae, *Carpocapsa pomonella* (Lepidoptera, Olethreutidae). Proc. Ent. Soc. Washington 57. 1955, 244.
- , Thompson, J. V., and Cantwell, G. E., A technique for mass rearing the greater wax moth (Lepidoptera: Galleriidae). Proc. Ent. Soc. Washington 64. 1962, 56—58.
- , —, A technique for the mass propagation of the DD-136 nematode. J. Insect Pathol. 6. 1964, 417—422.
- , —, and Hough, W. S., A new nematode parasite of codling moth showing promise in insect control. Susceptibility of various insects to DD 136 nematode. Ohne Jahr, 3 p., mimeogr. [Möglicherweise: Ent. Soc. Amer., 3. Ann. Meeting, 1955.]
- , —, —, A new nematode parasite of codling moth showing promise in insect control. Susceptibility of various insects to DD 136 nematode. 8. Int. Congr. Microbiol. Montreal 1962 (mimeogr. abstr., 6 p.).
- Fox, C. J. S., and Jaques, R. P., Preliminary observations on biological insecticides against imported cabbageworm. Canad. J. Plant Sci. 46. 1966, 497—499.
- Franz, J., Persönliche Eindrücke vom Stand der biologischen Schädlingsbekämpfung in Nordamerika. Nachr.bl. dtsh. Pfl.schutzd., Braunschweig, 9. 1957, 49—56.
- Glaser, R. W., The bacteria-free culture of a nematode parasite. Proc. Soc. Exp. Biol., Med., New York, 43. 1940, 512—514.

- Glaser, R. W., and Stoll, N. R., Exsheating and sterilizing infective nematode larvae. *J. Parasitol.*, Lancaster, 26. 1940, 87—94.
- Goodey, T., Soil and freshwater nematodes. London, 1963, 2. ed., XVI + 544 p.
- Hansen, E. L., and Cryan, W. S., Continuous axenic culture of free-living nematodes. *Nematologica* 12. 1966, 138—142.
- House, H. L., Welch, H. E., and Cleugh, T. R., Food medium of prepared dog biscuit for the mass-production of the nematode DD 136 (Nematoda; Steinernematidae). *Nature*, London, 206. 1965, 847.
- Jackson, G. J., The parasitic nematode, *Neoaplectana glaseri*, in axenic culture. I. Effects of antibodies and anthelmintics. *Exp. Parasitol.* 11. 1961, 241—247.
- , The parasitic nematode, *Neoaplectana glaseri*, in axenic culture. II. Initial results with defined media. *Exp. Parasitol.* 12. 1962, 25—32.
- , On axenic cultures of certain protozoan and worm parasites of insects. *Trans. New York Acad. Sci., Ser. II*, 24. 1962, 954—965.
- , Serological and cultivational comparisons of *Neoaplectana* species, nematodes of insects. *Proc. 1. Int. Congr. Parasitol. Roma 1964. 1.* 1966, 578—579.
- , Differentiation of three species of *Neoaplectana* (Nematoda: Rhabditida), grown axenically. *Parasitology* 55. 1965, 571—578.
- , and Siddiqui, W. A., Folic acid in axenic cultures of *Neoaplectana*. *J. Parasitol.*, Lancaster, 51. 1965, 727—730.
- \*Kakulija, G. A., and Veremčuk, G. V., [New nematode species, *Neoaplectana georgica* (Nematodes, Steinernematidae) found on June chafer.] *Soobšč. Akad. Nauk Gruz. SSR* 40. 1965, 713—718 (russ.). (Nur Titel, in: *Bibliogr. Agric.* 30. 1966, No. 59. 109).
- Lee, D. L., The physiology of nematodes. Edinburgh and London, 1965, X + 154 p.
- Lysenko, O., The mechanisms of pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula. I. The pathogenicity of strain N-06 for larvae of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Linnaeus). *J. Insect Pathol.* 5. 1963, 78—82.
- Martignoni, M. E., and Steinhaus, E. A., Laboratory exercises in insect microbiology and insect pathology. Minneapolis, 1961, 75 p.
- Meyl, A. H., Fadenwürmer (Nematoden). Stuttgart, 1961, 74 p.
- Moore, G. E., The bionomics of an insect-parasitic nematode. *J. Kansas Ent. Soc.* 38. 1965, 101—105.
- Poinar jr., G. O., Pathogenicity studies of a nematode-bacterium complex for insect control. *Int. Colloq. Insect Pathol., Microbiol. Control Wageningen 1966*, Abstr. VI-1, 1 p. (mimeogr.).
- , The presence of *Achromobacter nematophilus* in the infective stage of a *Neoaplectana* sp. (Steinernematidae: Nematoda). *Nematologica* 12. 1966, 105—108.
- , and Thomas, G. M., A new bacterium, *Achromobacter nematophilus* sp. nov. (Achromobacteriaceae: Eubacteriales) associated with a nematode. *Int. Bull. bact. Nomencl., Taxon.* 15. 1965, 249—252.
- , —, Significance of *Achromobacter nematophilus* Poinar and Thomas (Achromobacteri[j]aceae: Eubacteriales) in the development of the nematode, DD-136 (*Neoaplectana* sp. Steinernematidae). *Parasitology* 56. 1966, 385—390.
- Položencev, P. A., [Scientific knowledge of worms that are insect parasites USSR.] *Bjul. Mosk. Obščestva Isp. Prir. Otd. Biol.* 62. 1957, 19—36 (russ.).
- Reed, E. M., and Wallace, H. R., Leaping locomotion by an insect-parasitic nematode. *Nature*, London, 206. 1965, 210—211.
- Rogers, W. P., and Sommerville, R. I., The infective stage of nematode parasites and its significance in parasitism. *Advances Parasitol.* 1. 1963, 109—177.
- Rühm, W., Nematoden und biologische Bekämpfung der Insekten. *Nematologica* 2. 1957, 349 S—354 S.
- Salt, G., The defense reactions of insects to metazoan parasites. *Parasitology* 53. 1963, 527—642.
- Schmiege, D. C., The feasibility of using a neoaplectanid nematode for control of some forest insect pests. *J. econ. Ent.* 56. 1963, 427—431.

- Schmiege, D. C., The biology and host-parasite relationships of a neoaplectanid nematode parasitic on some forest insect pests. Diss. Abstr. 23. 1964, 3049.
- , A note on the taxonomy of an undescribed insect parasitic nematode in the genus *Neoaplectana*. Parasitology 54. 1964, 233—236.
- \*Sha Tscha-yün, *Neoaplectana carpocapsae* Weiser, 1955, její biologie, kultivace a patogenita pro hmyz. Kandid. Dis. Práce, Ent. Ústav, ČSAV 1962, 103 p. (zit. nach Weiser, J.: Nemoci hmyzu, 1966).
- Sherman, I. W., and Jackson, G. J., Zymograms of the parasitic nematodes, *Neoaplectana glaseri* and *N. carpocapsae*, grown axenically. J. Parasitol., Lancaster, 49. 1963, 392—397.
- \*Sobolev, A. A., [More exact information on Rhabditida (Superfamilies Rhabditoidea and Aphelenchoidea), parasitic in insects.] Rabot. gef'mintol. 75-let Skrjabin. Akad. Nauk SSSR 1964, 676—684 (russ.) (zit. nach Welch, H. E., 1965).
- Steiner, G., *Neoaplectana glaseri*, n.g., n.sp. (Oxyuridae), a new nemec parasite of the Japanese beetle (*Popillia japonica* Newm.). J. Washington Acad. Sci. 19. 1929, 436—441.
- Steinhaus, E. A., Principles of insect pathology. New York, Toronto and London, 1949, XI + 757 p.
- Stoll, N. R., Axenic cultures of *Neoaplectana glaseri* Steiner in fluid media. J. Parasitol., Lancaster, 34. (Sect. 2, Suppl.) 1948, 12.
- , Axenic cultivation of the parasitic nematode, *Neoaplectana glaseri*, in a fluid medium containing raw liver extract. J. Parasitol., Lancaster, 39. 1953, 422—444.
- , Infectivity for Japanese beetle grubs retained by *Neoaplectana glaseri* after seven years axenic culture. J. Parasitol., Lancaster, 39. (Sect. 2) 1953, 14—33.
- , Axenic cultivation of the parasitic nematode, *Neoaplectana glaseri*, Steiner, 1929, in fluid media. Proc. 14. Int. Congr. Zool. Copenhagen 1953. 1956, 382.
- , Conditions favouring the axenic culture of *Neoaplectana glaseri*, a nematode parasite of certain insect grubs. Ann. New York Acad. Sci. 77. 1959, 126—136.
- , Favoured RLE for axenic culture of *Neoaplectana glaseri*. J. Helminthol. R. T. Leiper suppl. 1961, 169—174.
- Swenson, K. G., Infection of the garden symphylan, *Scutigereilla immaculata*, with the DD-136 nematode. J. Invertebrate Pathol. 8. 1966, 133—134.
- Tanada, Y., and Reiner, C., The use of pathogens in the control of the corn earworm, *Heliothis zea* (Boddie). J. Insect Pathol. 4. 1962, 139—154.
- Tang, J. L., Notas generales sobre nematodos portadores de bacterias como un método de control biológico. Rev. Peru. Ent. Agr. 1. 1958, 19—22.
- Thorne, G., Principles of nematology. New York, Toronto and London, 1961, XIV + 553 p.
- Veremčuk, G. V., The entomo-pathogenic nematodes of the genus *Ne[*g*]aplectana* of the family Steinernematidae Chitwood et Chitwood, 1937. 9. Int. Congr. Microbiol. Moscow 1966. Abstr. 319.
- Weiser, J. [*Neoaplectana carpocapsae* n.sp. (Anguillulata, Steinernematinae), ein neuer Schmarotzer des Apfelwicklers, *Carpocapsa pomonella* L.] Vestn. Cesk. Zool. Spolecnosti 19. 1955, 44—52 (tschech.).
- , Verwendung der Nematoden in biologischer Bekämpfung der Insekten. Trans. 1. Int. Conf. Insect Pathol. Biol. Control Praha 1958. 1959, 342—345.
- , Über die Benutzung der Nematoden zur biologischen Schädlingsbekämpfung. Verh. 11. Int. Kongr. Ent. Wien 1960. 2. 1962, 880—882.
- , Diseases of insects of medical importance in Europe. Bull. World Health Organ. 28. 1963, 121—127.
- , Protozoonosen und Nematodenbefall bei Insekten. Entomophaga. No. hors sér. 2. 1964, 67—75.
- , Nemoci hmyzu. Prag, 1966, 554 p.
- Welch, H. E., A review of recent work on nematodes associated with insects with regard to their utilization as biological control agents. Proc. 10. Int. Congr. Ent. Montreal 1956. 4. 1958, 863—868.

- Welch, H. E., Test of a nematode and its associated bacterium for control of the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* (Say). Ann. Rept. Ent. Soc. Ontario 88. 1958, 53—54.
- , Potentialities of nematodes in the biological control of insects of medical importance. (In: Conference on biological control of insects of medical importance [E. A. Steinhaus, moderator; D. W. Jenkins, tech. editor]). Amer. Inst. Biol. Sci. Washington, Tech. Rept. 1960. 67—76.
- , Nematodes as agents for insect control. Proc. Ent. Soc. Ontario 92. 1962, 11—19.
- , Nematode infections. In: E. A. Steinhaus, Insect pathology. An advanced treatise. New York and London, 2. 1963, 363—392.
- , The mass production of entomophilic nematodes. World Health Organ. Symposium on culture procedures for arthropod vectors and their biological control agents. EBL/working paper No. 23/63. 1963 b, 4 p. (mimeogr.).
- , Entomophilic nematodes. Ann. Rev. Ent. 10. 1965, 275—302.
- , and Briand, L. J., Field experiments on the use of a nematode for the control of vegetable crop insects. Proc. Ent. Soc. Ontario 91. 1961, 197—202.
- , —, Tests of the nematode DD 136 and an associated bacterium for control of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). Can. Entomologist 93. 1961, 759—763.
- , and Bronskill, J. F., Parasitism of mosquito larvae by the nematode, DD 136 (Nematoda: Neaplectanidae). Can. J. Zool. 40. 1962, 1263—1268.
- White, G. F., A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. Science 66. 1927, 302—303.