

PROJECT

Biologische en chemische bestrijding van de gegroefde  
lapsnuitkever (*Otiorhynchus sulcatus*) (4102).

INTERN VERSLAG

PROEF

Deelprocessen van de parasitering van larven van de lapsnuitke-  
ver (*O. sulcatus*) door nematoden (Heterorhabditidae, stam  
UK-H-211). De invloed van de verticale afstand tussen larve en  
nematode.

Boskoop 1994 (4102-37a).

A.C. Schepman (stagiaire)

PB - Boskoop  
Februari 1994

2216928

Nadruk of vertaling, ook van gedeelten, is alleen geoorloofd na schriftelijke toestemming van de directie van het proefstation en de auteur. Het ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij, de Stichting Proefstation voor de Boomkwekerij, de Stichting Boomteeltproeftuin voor Noord-Brabant, Limburg en Zeeland (Horst), de Stichting Boomteeltproeftuin "De Boutenburg" (Lienden) en de Stichting Boomteeltproeftuin Noord-Nederland (Noordbroek) stellen zich niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen, ontstaan door het gebruik van de gegevens die in deze uitgave zijn gepubliceerd.

## SAMENVATTING

Deelprocessen van de parasitering van larven van de lapsnuitkever (*O. sulcatus*) door nematoden (*Heterorhabditidae*, stam UK-H-211). De invloed van de verticale afstand tussen larve en nematode.  
Boskoop 1994.

Intern verslag 4201-37a  
A.C. Schepman (stagiaire)

In voorgaand onderzoek boekte de bestrijding in kassen en in containers buiten de grootste successen. Bestrijding in het veld bracht tot nog toe problemen met zich mee. Om de problemen in het veld te overbruggen, is het noodzakelijk meer inzicht te hebben over de invloed van vele factoren op de deelprocessen van de parasitering.

In dit onderzoek werd de invloed van de afstand tussen larve en nematode op de parasitering door de inverteparasitaire nematode bepaald. Dit werd bij 9, 12 en/of 15°C onderzocht. De gebruikte nematoden waren van de familie der *Heterorhabditidae*, stam UK-H-211. Uit de proeven kwam naar voren dat een verticale afstand tussen larve en nematode, alsmede tijd en temperatuur geen invloed hadden op de mate en snelheid van de parasitering. Indien alleen naar de werkelijk geïnfekteerde larven werd gekeken, was er wel een significant temperatuurseffect. In de proeven lag de mortaliteit als gevolg van de parasitering erg laag (50-65%).

## DOEL

Het doel van het onderzoek was het bepalen van de invloed van de verticale afstand tussen nematode en de larve van de gegroefde lapsnuitkever op de mate en snelheid van de parasitering. Deze invloed werd bij verschillende temperaturen onderzocht.

## PROEFOPZET

### Opkweek van de larven

De larven zijn opgekweekt in potten met *Astilbe japonica* (proef A) of in potten met *Waldsteinia ternata* (proef B). Hiertoe zijn 50 eieren van de kever toegevoegd. Na twee maanden in de kas werden de larven uit de wortelstelsels van de planten gehaald. De meeste larven waren in een L3- of L4-stadium.

### Gebruikte grond

De grond was afkomstig uit de proeftuin te Boskoop. Het is een zand-rige veengrond. De grond werd binnen aan de lucht gedroogd, zodat het gezeefd kon worden (doorlaat 0.5 cm). Hierna werd het op een vochtpercentage van ca. 40 vol% gebracht. De grond werd hiervoor in een plastic maatbeker van 1 liter gedaan en 3 maal van een hoogte van 10 cm boven een tafelloppervlak losgelaten zodat de dichtheid gestandaardiseerd was. Deze methode wordt ook gebruikt om de grond-dichtheid te standaardiseren bij het bepalen van nematodendichtheden. Met behulp van een bodemvochtmeter werd het vol% water bepaald en kon berekend worden hoeveel water er toegevoegd moest worden. Een vochtgehalte van 40 vol% kwam overeen met resp. 49.8 en 51.2% (w/w) water in de grond voor de proeven A en B. Dit werd later met behulp van een droogstoof (24 uur bij 105°C) bepaald.

## PROEF A

### Opzet

De proef werd uitgevoerd in klimaatkasten bij 9 en 12°C, met minimaal 4 waarnemingsdagen met 10 of 20 larven (herhalingen) per tijdstip, 5 behandelingen (grondhoogtes 2, 4, 8 en 16 cm, met nematoden en een controle met hoogte van 8 cm zonder nematoden). Bij de behandelingen met nematoden werden bij elke waarnemingsdag de 10 larven verwijderd, terwijl het bij de controle om steeds dezelfde 20 larven ging. Bij de controle werden de larven pas verwijderd als ze dood waren. De proef is ingezet op maandag 1 november 1993.

### Opstelling

In doorzichtige, plastic vouwdozen van 4x4x20 cm werd een laag van 1 cm grond gedaan. Dit gebeurde op gewichtsbasis. Hiertoe werd het gewicht van een buis met 8 cm grond van de bovenbeschreven standaard dichtheid bepaald en omgerekend naar de gewenste hoogte (hier 1 cm). De buis werd vervolgens gevuld en daarna net zolang van een afstand boven een tafelloppervlak losgelaten tot de grond de gewenste hoogte bereikt had.

Bij deze grondlaag werden enkele stukjes wortel van *A. japonica* en een larve van de kever gedaan. Hierop werd een stukje aluminium gaas (doorlaat 1 mm) van 4x4 cm gelegd, zodat de larve alleen in de onderste cm grond vrij kon bewegen. Op het gaasje kwam een laag grond van 2, 4, 8 of 16 cm. Ook dit werd op gewichtsbasis toegevoegd.

Om het vochtgehalte in alle behandelingen gelijk te krijgen, werd er 0.33, 1.0 en 2.33 ml water toegevoegd aan resp. de behandelingen 4, 8 en 16 cm hoogte, rekening houdend met de al aanwezige eerste cm grond.

De gevulde vouwdozen werden gedurende het week-end in de klimaatkasten bij 9 en 12°C gezet om op de gewenste proeftemperatuur te komen. Op maandag werden de nematoden bovenin de vouwdozen toegevoegd (in 0.5 ml water) in een dichtheid van 100 nematoden per cm<sup>2</sup>, dit is een standaard hoeveelheid in het veld. De controlebehandeling kreeg 0.5 ml water zonder nematoden.

De nematoden waren in droge klei geleverd, bewaard bij 5°C en moesten voor gebruik in water worden geactiveerd. Met behulp van verdunningen werden 1600 nematoden per 0.5 ml verkregen (oppervlak vouwdoos is 4x4 cm<sup>2</sup>). De suspensie met nematoden en het water voor de controlebehandelingen werden vervolgens op proeftemperatuur gebracht en konden daarna aan de vouwdozen toegediend worden.

## PROEF B

### Oorzaak

Omdat de resultaten van de voorgaande proef niet overeen kwamen met de verwachting, was een uitbreiding van deze proef noodzakelijk. Dit was nodig om te onderzoeken of a) de onverwachte resultaten waren verkregen door een slechte partij nematoden, b) de waarnemingsdagen verkeerd waren gekozen, c) de grote variatie veroorzaakt was door een te klein aantal larven en d) de controle behandelingen bij 9 en 12°C met een groter aantal larven gelijke resultaten opleverden.

### Proefopzet

De proef werd uitgevoerd in klimaatkasten bij 9, 12 en 15°C, het deel wat bij 9°C stond, had eerst 6 uur 12°C gehad. Dit wordt verder in dit verslag de behandeling bij 6u.12°C genoemd. De andere behandelingen kregen continu 12 of 15°C. Er waren minimaal 6 waarnemingsdagen met 20 of 40 larven per tijdstip, 2 behandelingen (met nematoden en een controle zonder nematoden). Bij de behandelingen met nematoden (bij 6u.12°C en 12°C) werden bij elke waarnemingsdag de 20 larven verwijderd, terwijl het bij de controles en de behandelingen bij 15°C om steeds dezelfde 40 larven ging. Hierbij werden de larven pas verwijderd als ze dood waren. De proef is ingezet op dinsdag 7 december 1993.

### Proefopstelling

De proef werd uitgevoerd als proef A. De larven kregen wortelstukjes van *Waldsteinia* als voeding. Er werd geen extra water toegevoegd aan de vouwdozen. Op maandag 6 december werden de vouwdozen in de klimaatkasten bij de gewenste temperatuur weggezet. Op dinsdag werden de ne-

matoden bovenin de vouwdozen toegediend in een gelijke dichtheid als in proef A (namelijk 1600 nematoden in 0.5 ml water), bij de controles werd alleen 0.5 ml water toegediend. De nematoden en het water voor de controles werden eerst op de gewenste proeftemperatuur gebracht.

### WAARNEMINGEN

#### PROEF A

Op  $t=0$  (1 nov. '93) werden de nematoden, of water in geval van de controle, toegediend. Er waren 4 waarnemingsdagen voor de behandelingen met nematoden. De controles werden gedurende de hele proefduur waargenomen om de 3 tot 9 dagen. In het begin van de proef werden ze met kortere tussenpozen waargenomen dan aan het eind van de proef. De waarnemingsdagen zijn voor de verschillende behandelingen weergegeven in tabel 1.

Tabel 1: De waarnemingsdagen van de verschillende behandelingen (Beh.) van proef A bij 9 en 12°C.

---

9°C	Waarnemingsdagen								
Beh.	$t_1$	$t_2$	$t_3$	$t_4$	$t_5$	$t_6$	$t_7$	$t_8$	$t_9$
2 cm	4	7	8	9					
4 cm	7	8	9	10					
8 cm	17	21	25	30					
16 cm	25	30	35	44					
contr.	8	11	14	17	21	25	30	35	44

---

---

12°C	Waarnemingsdagen					
Beh.	$t_1$	$t_2$	$t_3$	$t_4$	$t_5$	$t_6$
2 cm	2	3	4	7		
4 cm	3	4	7	8		
8 cm	7	8	9	10		
16 cm	14	17	21	25		
contr.	8	11	14	17	21	25

---

Op de waarnemingsdagen werden steeds 10 larven (uit de behandelingen met nematoden) uit de vouwdozen gehaald. Deze werden onder kraanwater gespoeld om eventueel op de larve aanwezige nematoden te verwijderen. De larven van de controlebehandelingen werden alleen als ze dood waren verwijderd. De larven werden afzonderlijk in reageerbuisen met vochtig gemaakte potgrond in het donker bij kamertemperatuur weggezet. Na drie dagen werd het aantal dode larven bepaald. Na 7 dagen werden de dode larven gedissecteed en het aantal binnengedrongen nematoden bepaald.

## PROEF B

Op t=0 (7 dec.'93) werden de nematoden, of water in geval van de controle, toegediend. Er waren 6 waarnemingsdagen voor de behandelingen met nematoden bij 6u.12°C en 12°C, maar de controles en de behandelingen bij 15°C werden vaker waargenomen. De waarnemingsdagen zijn voor de verschillende behandelingen weergegeven in tabel 2.

Tabel 2: De waarnemingsdagen van proef B voor de behandelingen met nematoden (+) en de controles.

Waarnemingsdagen							
Beh.	t <sub>1</sub>	t <sub>2</sub>	t <sub>3</sub>	t <sub>4</sub>	t <sub>5</sub>	t <sub>6</sub>	t <sub>7</sub>
+ (9 en 12°C)	1	2	3	7	10	14	
+ (15°C)	1	3	7	10	14	17	27
contr.	1	3	7	10	14	17	27

Op de waarnemingsdagen werden steeds 20 larven (uit de behandelingen met nematoden bij 6u.12°C en 12°C) uit de vouwdozen gehaald, deze werden onder kraanwater gespoeld om eventueel op de larve aanwezige nematoden te verwijderen. De larven van de controlebehandelingen en de behandelingen bij 15°C werden alleen als ze dood waren verwijderd.

## RESULTATEN EN BESPREKING

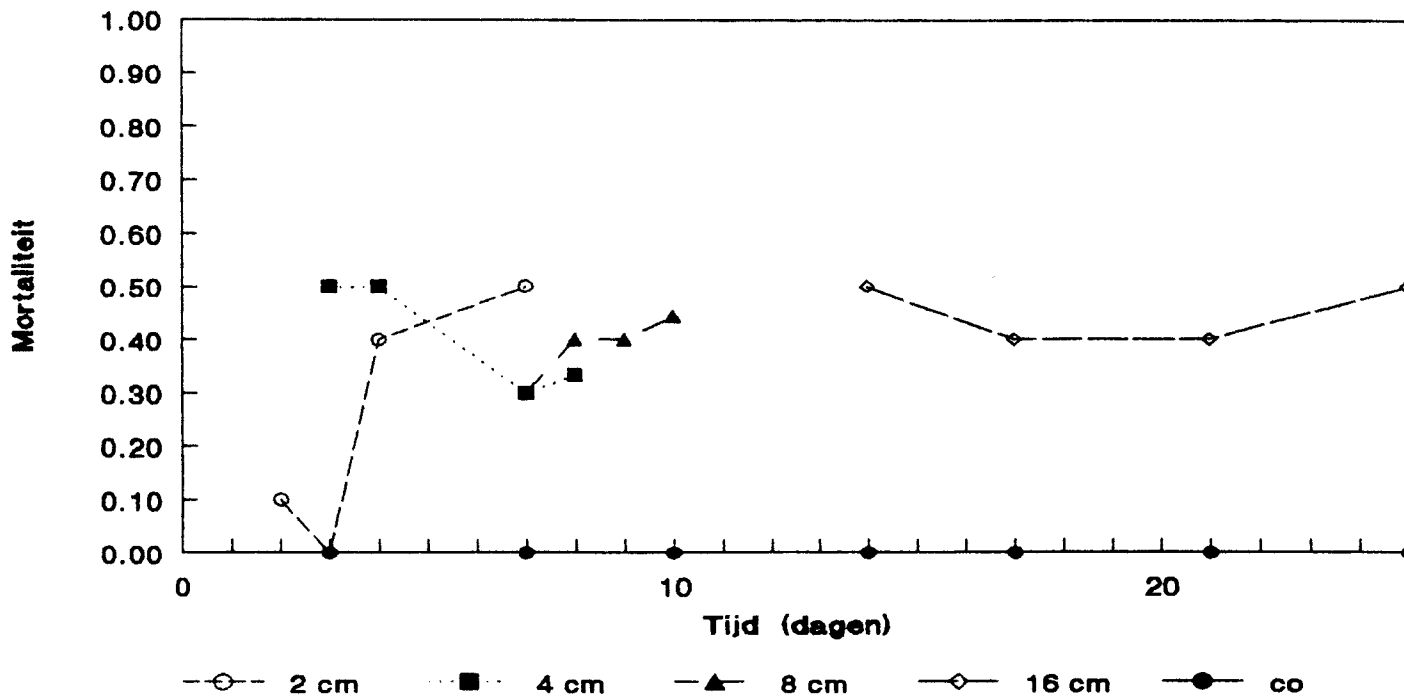
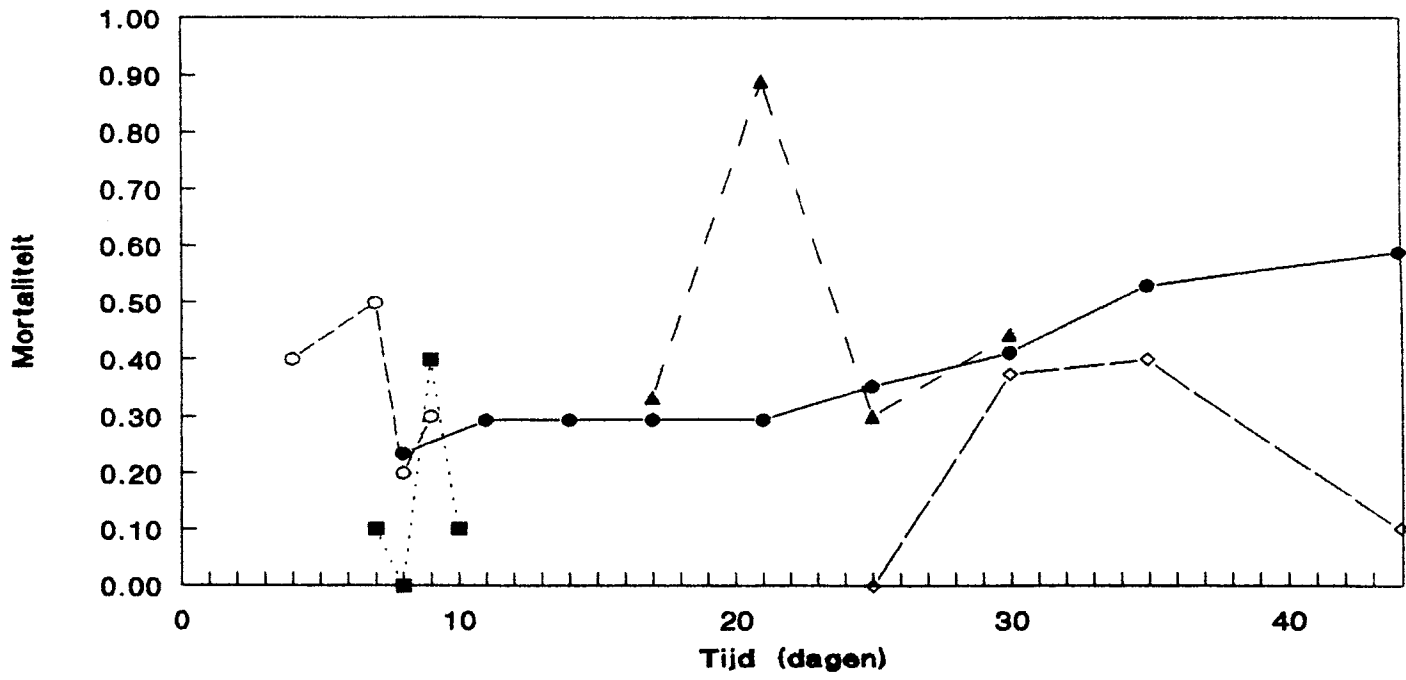
### PROEF A

In figuur 1 (A en B) is de mortaliteit tegen de tijd uitgezet. Opvallend is de hoge mortaliteit van de controle bij 9°C, terwijl de mortaliteit van de controle bij 12°C op nul blijft. Door deze hoge mortaliteit bij 9°C waren er geen verschillen tussen de met nematoden behandelde en de controle behandelingen. Omdat bij 12°C de larven allemaal in leven bleven, gaf dit geen enkele informatie over de variabiliteit. Vergelijking was hierdoor erg moeilijk. De analyse was daarom niet in relatie tot de controles uitgevoerd. De data en de statistische analyses zijn te vinden in basisinformatie 1a.

De gegevens werden verondersteld binomiaal verdeeld te zijn met een gegeven bovengrens. Voor de analyse kon het best worden overgegaan op logits:

$$\text{logit}(p) = \log(p/(1-p)), \text{ dus } p = e^{\text{logit}(p)} / (1 + e^{\text{logit}(p)})$$

Indien het totaal aantal dode larven bij 9°C werd vergeleken met het aantal bij 12°C, was er geen significant verschil (bij een onbetrouwbaarheid kleiner dan 5%) aan te tonen. Bij 9°C was de kans op een dode larve vrijwel konstant en ongeveer 30%, terwijl bij 12°C deze kans geleidelijk toenam met een toenemende dikte van de grondlaag. De onbetrouwbaarheid van deze uitspraak is echter 20%.



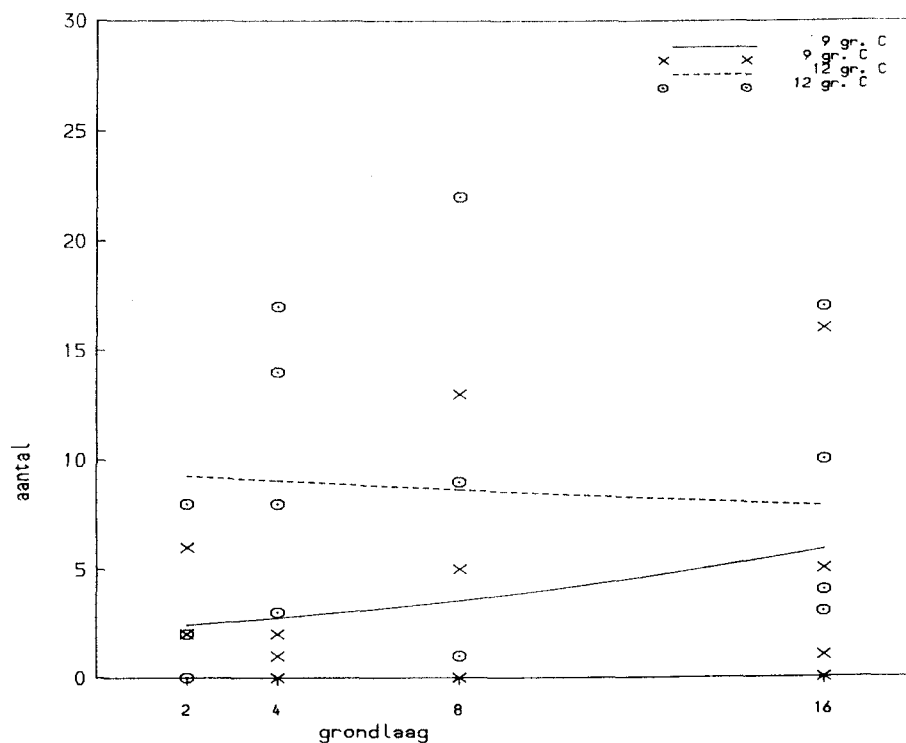
Figuur 1: De mortaliteit uitgezet tegen de tijd bij 9 (A) en 12°C (B).



Wanneer in de tijd werd gekeken, moest er vergeleken worden bij dezelfde tijdstippen. Hiervoor werd een voorspelling gemaakt bij 4, 7 en 14 dagen. Er was ook hier slechts sprake van een trend; bij 9°C bleef het aantal dode larven konstant, maar bij 12°C was er een geleidelijke toename zichtbaar. De onbetrouwbaarheid van deze uitspraak was echter groter dan 20%.

Indien er werd gekeken naar de mortaliteit van de larven waarin werkelijk nematoden waren binnengedrongen (figuur 2), was de kans op dode larven bij 12°C hoger dan bij 9°C met een onbetrouwbaarheid van ongeveer 3%. Deze berekende kansen waren resp. 25 en 14%. Noch van grondlaagdikte, noch van aantal dagen was enig effect aantoonbaar.

Verder is er gekeken naar het aantal nematoden in de geïnfecteerde larven. Hiervoor is de aanname van een poisson-verdeling het meest voor de hand liggend. Dit leidt tot een log-transformatie. Zelfs als er rekening wordt gehouden met het (kleine) aantal geïnfecteerde larven, is het aantal nematoden bij 12°C nog beduidend hoger dan bij 9°C. Hoe dikker de laag, hoe kleiner het verschil (figuur 2). De onbetrouwbaarheid is ongeveer 1%. Wanneer de tijd ook in de analyse werd betrokken (weer met een voorspelling op de dagen 4, 7 en 14), werd er een temperatuurseffect gevonden. Het aantal binnengedrongen nematoden is bij 12°C hoger dan bij 9°C, resp. 8.3 en 2.4 met een onbetrouwbaarheid van ongeveer 0.1%. Er was geen significante toename bij 12°C aan te tonen.



Figuur 2: Het totale aantal binnengedrongen nematoden tegen de grondlaagdikte (in cm) bij 9 en 12°C. Bij 12°C zijn de punten (2,88) en (8,86) buiten de grafiek gevallen.

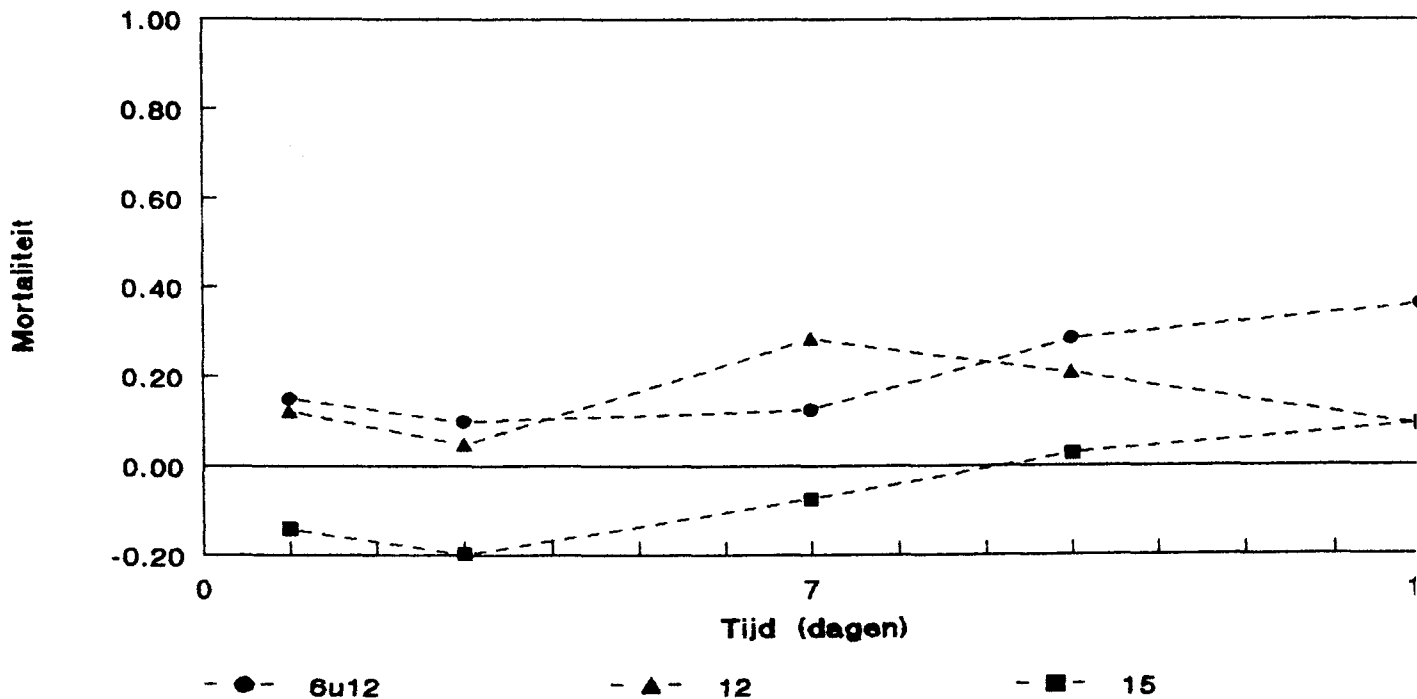
De kans op een dode larve neemt significant toe (met een onbetrouwbaarheid van 5%) met het aantal binnengedrongen nematoden. Hierbij is gekeken naar het totale aantal dode larven.

### PROEF B

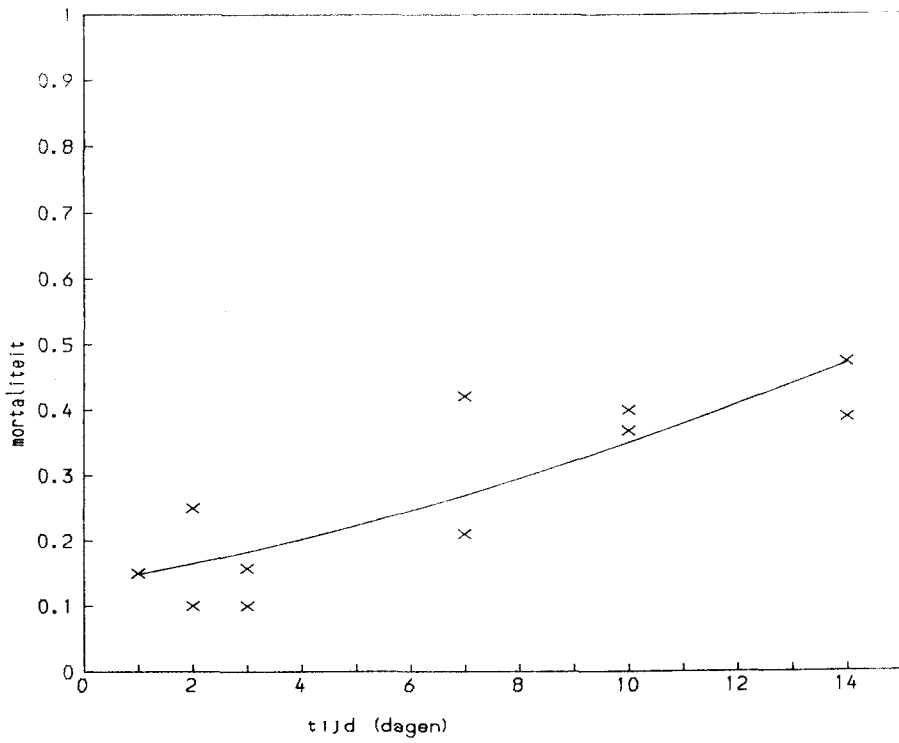
De resultaten van de proef zijn weergegeven in figuur 3. In deze figuur zijn de resultaten gecorrigeerd met de controles. De data zijn te vinden in basisinformatie 1b. Evenals in de vorige proef blijken de nematoden zeer slecht te werken. Dit is ook goed te zien aan de behandelingen bij 15°C, waar de sterfte van de controlebehandeling onverwacht hoog uitviel. De verwachting was dat bij 15°C de nematoden optimaal zouden werken, terwijl de larven in de controle bij deze temperatuur goed zouden overleven. Deze verwachting is niet uitgekomen.

Uit een variantie analyse bleek dat temperatuur geen significant effect had op de mortaliteit. Een lineair verband tussen tijd en mortaliteit is aangetoond ( $p = 6.6\%$ ) (figuur 4). Met behulp van een regressie-analyse werd ook geen verschil tussen de twee temperaturen aangetoond. Met een Chi-kwadraat toets konden de gegevens op dag 14 tegen elkaar getoetst worden, bij 9°C is er een significant verschil tussen de controle en de behandelingen met nematoden. Dit was niet het geval bij 12 en 15°C.

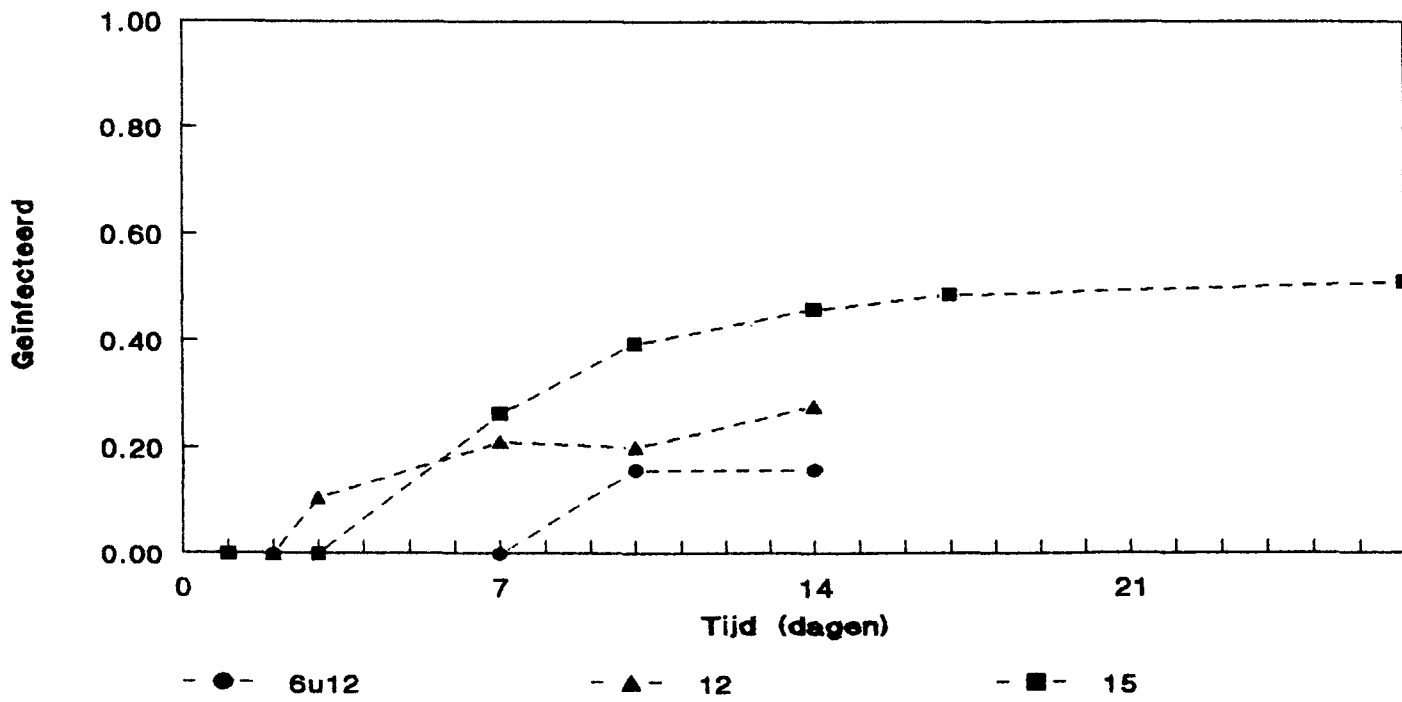
Het aantal geïnfecteerde larven uitgezet tegen de tijd (figuur 5), gaf een steigende trend, waarbij 15°C bovenaan lag. Het aantal binnengedrongen nematoden was laag (figuur 6), verschillen tussen de temperaturen konden vanwege de kleine aantallen larven niet getoetst worden.



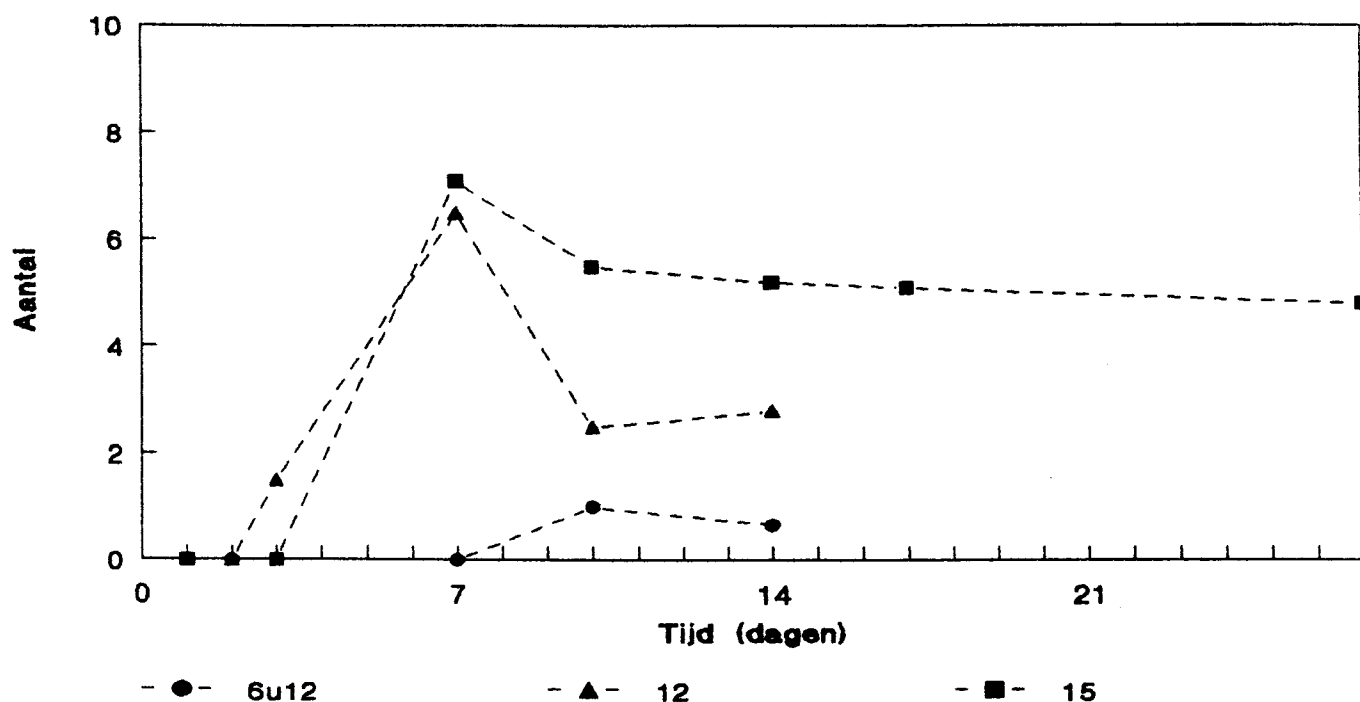
Figuur 3: De gecorrigeerde mortaliteit uitgezet tegen de tijd bij 6u.12°C, 12 en 15°C.



Figuur 4: Een lineair verband tussen mortaliteit en tijd.



Figuur 5: De fractie geïnfecteerde larven tegen de tijd bij 6u.12°C, 12 en 15°C.

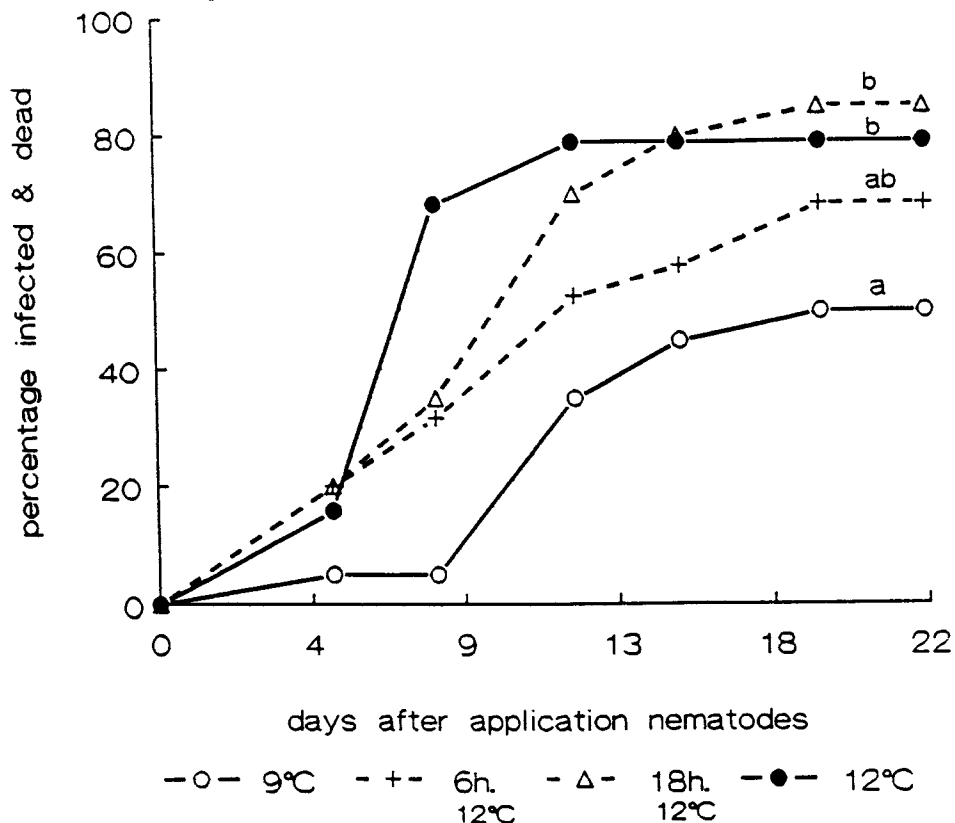


Figuur 6: Het gemiddeld aantal binnengedrongen nematoden bij 6 uur 12°C, 12 en 15°C.

De verwachting was het verkrijgen van een sigmoïde curve als de mortaliteit tegen de tijd werd uitgezet. Dit was gebaseerd op de resultaten van Van Tol (1993<sup>a+b</sup>) (figuur 7). Van Tol (1993<sup>a+b</sup>) deed de waarnemingen steeds aan dezelfde groep larven, zodat het verloop van de figuur steeds stijgend was. In de proeven A en B ging het bij iedere waarneming om een nieuwe groep larven, zodat het verloop van de figuur (figuur 1) grilliger werd. In figuur 7 was er sprake van een vertraging (= een verschuiving naar rechts), omdat hier de larven pas werden uitgehaald als ze dood waren en niet, zoals in de 2 proeven, al eerder. Bij lage temperaturen is de tijd tussen infectie en de dood van de larve onbekend, bij kamertemperatuur is deze ongeveer 1 dag. De verwachting was dus dat er voor de 4<sup>e</sup> dag bij 12°C al larven geïnfecteerd zouden worden. Bij een lagere temperatuur zijn de nematoden minder actief, zodat het langer kan duren tot de larven geïnfecteerd zijn. Een minder goede bestrijding kon eveneens te verwachten zijn bij een lagere temperatuur, dit werd ook gerapporteerd door Van Tol (1993<sup>a+b</sup>), Westerman (1993<sup>a+b</sup>) en Westerman en Van Zeeland (1989).

De laboratoriumproef van Van Tol (1993<sup>a+b</sup>) (figuur 7) werd in potjes met 50 ml grond uitgevoerd, zodat de afstand tussen de larve en de nematoden te verwaarlozen was. Dit zou kunnen betekenen dat met een grotere afstand het langer duurt tot een infectie plaats kan vinden. Grondlaagdikte had echter geen invloed op de infectiesnelheid. Een beperkende factor op de infectiesnelheid kon de penetratie van de larve zijn. Deze was moeilijk apart te onderzoeken. Zonder omringende grond zou de nematode veel moeilijker kunnen penetreren. Een kleiner oppervlak van de larve komt in contact met het vloeibare medium van de ne-

matoden, zodat dit de kans op penetratie verlaagt. Bij een geringe hoeveelheid grond (met een verwaarloosbare afstand tussen larve en nematode) maakt de larve heel gemakkelijk "gangen en kamertjes" waardoor het contact met de grond -en dus met de nematode- ook verkleind wordt. In de laboratoriumproef van Van Tol (1993<sup>a+b</sup>) was dit geen probleem, omdat de grond regelmatig door elkaar geschud werd. Zodoende is getracht om via een omweg de penetratieduur te kunnen bepalen. Omdat de resultaten van proeven betreffende de afstand tussen de larve en de nematoden zich niet leenden voor verdere berekeningen, kon de penetratieduur niet bepaald worden.



Figuur 7: De werking van UK-H-211 op de larven van *O. sulcatus* bij verschillende temperatuurregimes.

In de laboratoriumproef van Van Tol (1993<sup>a+b</sup>) was de mortaliteit maximaal 80% bij 12°C, terwijl deze in de proeven A en B aanzienlijk lager uitviel bij deze temperatuur (50%). Het verschil is voor een deel met de proefopzet te verklaren. Van Tol (1993<sup>a+b</sup>) schudde om de 3 of 4 dagen de potjes leeg om de larve op te zoeken. Deze behandeling maakt de kans op een treffen van een larve groter, indien de nematoden niet actief zouden zoeken. Door de grond waren ook wortelstukjes gemengd. Het zou kunnen zijn dat dit ook een positieve invloed had op infectie, omdat de nematoden de wortels misschien als "leidraad" naar de larve gebruiken, zodat ze gerichter een larve kunnen vinden. De nematoden kunnen misschien ook gemakkelijker via de mond van een larve naar binnen als deze aan het eten is. In de proeven betreffende de invloed van de verticale afstand tussen larve en nematode waren alleen onderin wortelstukjes gelegd. De nematoden hadden dus niet de mogelijkheid om via de wortels de larven op te zoeken.

De proeven waren met gezeefde grond uitgevoerd. Er was dus geen sprake van een bodemstructuur, zoals dat in het veld het geval is. De grond was wel wat aangestampt, maar was nog steeds vrij luchtig. De vorming van een lokstof (vb. CO<sub>2</sub>) in een gradiënt was mogelijk, omdat de grond niet door elkaar geschud werd, maar door de luchtige grond kan een CO<sub>2</sub>-gradiënt misschien moeilijk opgebouwd worden, of het duurt erg lang voor er een gradiënt is. Het zou ook kunnen zijn dat 1 larve te weinig lokstof produceert om de nematoden aan te trekken. Gaugler et al. (1980 en 1991) concludeerde dat CO<sub>2</sub> een lokstof voor insecteparasitaire nematoden was. Andere lokstoffen als Na<sup>+</sup>-, Mg<sup>+</sup>- en Ca<sup>2+</sup>-ionen werden gerapporteerd door Pye en Burman (1981). Verder kunnen nematoden in het veld gebruik maken van natuurlijke poriën en scheuren. Na een behandeling met nematoden wordt ook aangeraden het perceel goed te beregenen, zodat de nematoden ook inspoelen. Bij deze proeven was dit onmogelijk, omdat het hier alleen om de actieve beweging van de nematoden ging.

#### VOORLOPIGE CONCLUSIE

De mortaliteit lag erg laag (50%), er kon geen temperatuurseffect en geen effect van de dikte van de grondlaag bepaald worden. Er werd geen sigmoïde curve verkregen indien de mortaliteit tegen de tijd werd uitgezet.

De werking van de *Heterorhabditis*-stam UK-H-211 als biologische bestrijder was in verhouding tot voorgaande jaren niet optimaal. Dit kan liggen aan de kweekmethode, opslag en behandeling (vb. transport) van de nematoden voor gebruik.

#### LITERATUUR

Gaugler, R., LeBeck, L., Nakagaki, B. en Boush, G.M. (1980). Orientation of the entomogenous nematode *Neoaplectana carpocapsae* to carbon dioxide. *Environmental Entomology* 9: 649-652.

Gaugler, R., Campbell, J.F., Gupta, P. (1991). Characterisation and basis of enhanced host-finding in a genetically improved strain of *Steinernema carpocapsae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 57: 234-241.

Pye, A.E. en Burman, M. (1981). *Neoaplectana carpocapsae*: Nematode accumulations on chemical and bacterial gradients. *Experimental Parasitology* 51: 13-20.

Van Tol, R.W.H.M. (1993<sup>a</sup>). Influence of temperature on the control of the black vine weevil with strains of some insect-parasitic nematodes. IOBC/WPRS In Press.

Van Tol, A.I. (1993<sup>b</sup>). Biologische bestrijding van de gegroefde lap-snuitkever *Otiorhynchus sulcatus* Fabricius (Coleoptera: Curculionidae). Landbouw Universiteit Wageningen 30p.

Westerman, P.R. en Van Zeeland, M.G. (1989). Comparison of *Heterorhabditis* isolates for control of *Otiorhynchus sulcatus* at low temperatures. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Universiteit Gent* 54(3b): 1115-1123.

Westerman, P.R. (1993<sup>a</sup>). Infectivity and pathogenicity of the insect parasitic nematodes *Heterorhabditis* spp. en *Steinernema* spp. for *Otiorhynchus sulcatus* at different temperatures. In Abstracts of the 4<sup>th</sup> meeting of the IOBC/WPRS working group on insect pathogens and insect parasitic nematodes. p. 37.

Westerman, P.R. (1993<sup>b</sup>). The vertical migration ability of *Heterorhabditis* spp. en *Steinernema* spp. at 9°C, and the relationship to efficacy against *Otiorhynchus sulcatus* at 9°C. In Abstracts of the 4<sup>th</sup> meeting of the IOBC/WPRS working group on insect pathogens and insect parasitic nematodes. p. 38.