

**Patogenisitas Nematoda Entomopatogen terhadap Hama Uret Tebu
Lepidiota stigma (Coleoptera: Scarabaeidae)
(Pathogenicity of Entomopathogenic Nematode on Sugarcane White Grub
Lepidiota stigma [Coleoptera: Scarabaeidae])**

IGAA Indrayani¹, Subiyakto¹, dan Chaerani²

¹Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat, Jl. Raya Karangploso, Km. 4, Kotak Pos 199, Malang 65152, Indonesia
Telp. (0341) 491447, Faks. (0341) 485121

*E-mail: indrayanigustiagung2016@gmail.com

²Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111, Indonesia

Diajukan: 12 Januari 2018; Direvisi: 31 Oktober 2018; Diterima: 27 November 2018

ABSTRACT

Sugarcane (*Saccharum officinarum*) is one of high-value commodities in Indonesia for producing sugar. Sugarcane production recently reduced due to insect pests attacked, mainly white grub *Lepidiota stigma* (Coleoptera: Scarabaeidae). Utilization of entomopathogenic nematodes (EPN) is one of the alternative control methods for sugarcane white grub. The aim of the present study was to select the higher pathogenicity of EPN isolates for controlling the sugarcane insect pest. The study was conducted in Insect Pathology Laboratory of Indonesia Sweeteners and Fiber Crops Research Institute. Nine isolates of EPN, e.g. DKS-1, AGH-1, DKH-1, DKH-5, NH-1, NH-2, PH-1, PH-2, and PH-4 and one untreated control were tested for their pathogenicity against sugarcane white grub, *L. stigma*. Each treatment was arranged in Completely Randomized Design with three replications. Every treatment consisted of 30 individuals of the third instar of white grub which treated by 2×10^4 infective juvenile or IJ of EPN isolates. Parameter observed was the mortality of sugarcane white grub, *L. stigma*. The result showed that all of EPN isolates tested were promising pathogenic against the white grub with about 10 to 80% of the average percentage of mortality. However, DKS-1 and PH-1 showed more pathogenic against *L. stigma* with about 80–90% and 70–80% of white grub mortality, respectively. The highest enhancement of white grub mortality occurred at 72 hours after treatment and it was showed by DKS-1 and PH-1 isolates which increased the percentage of white grub mortality about 57.1 and 50%, respectively. Obtaining the promising isolates of NPS with different host seeking strategies will potentially increase the effectivity of control against white grub with the result to increase the yield of sugarcane.

Keywords: Entomopathogenic nematode, pathogenicity, mortality, infective juvenile.

ABSTRAK

Tanaman tebu (*Saccharum officinarum*) merupakan salah satu komoditas bernilai ekonomi tinggi di Indonesia karena memproduksi gula. Salah satu penyebab menurunnya produksi tebu beberapa tahun terakhir adalah akibat serangan hama uret *Lepidiota stigma* (Coleoptera: Scarabaeidae). Pemanfaatan nematoda patogen serangga (NPS) merupakan salah satu alternatif pengendalian hama uret pada tebu yang cukup efektif. Penelitian ini bertujuan untuk menyeleksi isolat-isolat NPS yang sangat patogenik terhadap hama uret tebu, *L. stigma*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Serangga, Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat, Malang. Sembilan perlakuan menggunakan isolat NPS, yaitu DKS-1, AGH-1, DKH-1, DKH-5, NH-1, NH-2, PH-1, PH-2, dan PH-4 serta 1 kontrol (tanpa perlakuan), diuji patogenisitasnya terhadap hama uret tebu, *L. stigma*. Setiap perlakuan disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga kali ulangan. Setiap perlakuan terdiri atas 30 ekor uret instar 3 yang diperlakukan dengan NPS pada dosis 2×10^4 juvenil infeksi (JI)/ml. Parameter yang diamati adalah mortalitas uret *L. stigma*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat DKS-1 dan PH-1 memiliki tingkat patogenisitas yang tinggi terhadap hama uret tebu, *L. stigma* dengan rerata mortalitas uret mencapai 70–90%. Peningkatan persentase mortalitas hama uret tertinggi terjadi pada 72 jam setelah perlakuan, terutama pada isolat DKS-1 dan PH-1, berturut-turut sebesar 57,1 dan 50%. Diperolehnya dua isolat NPS unggul dengan strategi pencarian inang yang berbeda (menyergap atau memburu) diharapkan dapat meningkatkan efektivitas pengendalian hama uret tebu dengan NPS sehingga akan berdampak pada peningkatan produksi tebu.

Kata kunci: Nematoda patogen serangga, patogenisitas, mortalitas, juvenil infeksi.

PENDAHULUAN

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan salah satu tanaman penghasil gula terbesar di Indonesia. Namun, dalam beberapa tahun terakhir produktivitas tebu mengalami penurunan yang cukup signifikan dan salah satu penyebabnya adalah serangan serangga hama uret (Coleoptera: Scarabaeidae). Lebih dari 200 spesies serangga hama dilaporkan berpotensi merusak tanaman tebu, dan yang paling serius mengakibatkan kerugian secara ekonomi adalah hama uret (Cock dan Allard 2013; Way et al. 2013). Spesies hama uret yang banyak merusak tanaman tebu, antara lain *Dermolepida albohirtum* dan *Antitrogus consanguineus* (Samson et al. 2010), *Leucopholis lepidophora* (Pradnya dan Mohite 2014), *Lepidiota stigma* (Sushil et al. 2006), *Holotrichia serrata* (Manisegaran et al. 2011), dan *Cochliotis melolonthoides* dan *Brachylepiswernery* (De dan Ganeshan 2016). Spesies yang paling merusak tanaman tebu di Indonesia adalah uret *L. stigma*.

Hama uret merusak tanaman tebu, terutama tebu muda dengan cara memakan perakaran sehingga menyebabkan tanaman layu dan mati. Serangan pada tanaman tebu dewasa berpotensi menyebabkan gagal panen. Pada tingkat serangan parah, setiap rumpun tanaman tebu dapat ditemukan 5–10 ekor uret (Visalakshi et al. 2015). Populasi uret yang tinggi per rumpun tebu tidak hanya merusak perakaran, tetapi juga menyerang hingga ke pangkal batang. Oleh karena sifat hidupnya yang sangat kompleks dan sebagian besar dari siklus hidupnya berada di dalam tanah, maka uret termasuk hama yang cukup sulit dikendalikan.

Penelitian pemanfaatan nematoda patogen serangga (NPS) dalam pengendalian secara hayati uret pada tebu telah dilakukan di negara-negara seperti India dan Afrika Selatan. Di India, penggunaan NPS dapat membunuh hama uret tebu *Holotrichia serrata* Fab. instar 1 hingga 100% pada dosis rendah 80,25 juvenil infektif (JI) per ml hanya dalam waktu 5 hari (Supekar dan Mohite 2015). Di Afrika Selatan, penggunaan NPS juga efektif membunuh hama uret tebu *Hypopholis* sp. hingga 100% (Pillay et al. 2009). Selain di kedua negara tersebut, pemanfaatan NPS juga berkembang pesat di Jepang, Turki, Thailand, dan di

negara-negara Eropa, tetapi lebih banyak digunakan dalam pengendalian hama uret pada komoditas hortikultura, pertanian, dan kehutanan (Kaya et al. 2006; Maneesakorn et al. 2010).

Selain efektif terhadap hama uret tebu, keunggulan lain NPS adalah mudah diperbanyak secara massal baik *in vivo* maupun *in vitro* (Chaerani 2011; Upadhyay et al. 2015). NPS yang diketahui paling efektif terhadap hama uret tebu adalah *Steinernema* sp. dan *Heterorhabditis* sp. yang berturut-turut dari famili Steinernematidae dan Heterorhabditidae (Ngubane et al. 2012; Abdolmaleki et al. 2016). Tidak seperti patogen serangga lainnya, yaitu virus, bakteri, atau jamur yang membutuhkan waktu relatif lama (3–7 hari) untuk membunuh hama sasaran, NPS mampu menyebabkan mortalitas pada inangnya dalam waktu 24–48 jam karena dibantu oleh bakteri simbiosis masing-masing, yaitu bakteri *Xenorhabdus* sp. pada *Steinernema* sp. dan *Photorhabdus* sp. pada *Heterorhabditis* sp. (Dubey et al. 2013; Vashisth et al. 2013). Keefektifan NPS terhadap hama uret tebu dipengaruhi oleh virulensi dan patogenisitasnya, oleh karena itu memperoleh strain yang patogenik terhadap hama uret tebu *L. stigma* merupakan langkah awal yang cukup menentukan upaya pemanfaatan NPS dalam pengendalian hama uret pada tebu.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat NPS yang patogenik terhadap hama uret tebu *L. stigma*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Patologi Serangga, Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat (Balittas), Malang.

Isolat NPS dan Pembiakannya

Penelitian ini menggunakan dua kelompok spesies NPS berbeda, yaitu *Steinernema* sp. (DKS-1) dan *Heterorhabditis* sp. (AGH-1, DKH-1, DKH-5, NH-1, NH-2, PH-1, PH-2, dan PH-4). Kedua spesies NPS memiliki karakter yang berbeda, terutama dalam menemukan lokasi inang. *Steinernema* sp. digolongkan sebagai nematoda penyergap (*ambusher*), sedangkan *Heterorhabditis*

sp. sebagai pemburu (*cruiser*) (Lortkipanidze et al. 2016).

Perbanyakan massal setiap isolat dilakukan secara *in vivo* menggunakan inang ulat *Tenebrio molitor* yang diperoleh dari penjual pakan burung di sekitar lokasi penelitian. Ulat *T. molitor* adalah salah satu inang yang direkomendasikan dalam perbanyakan massal NPS, selain ulat *Galleria mellonella* (Christen et al. 2007). Teknik perbanyakan massal NPS mengacu pada metode *White trap* (White 1927 dalam Shapiro-Ilan et al. 2012), yaitu menggunakan cawan petri yang diisi akuades sebagai perangkap JI yang baru keluar dari tubuh ulat *T. molitor*. Metode *White trap* terdiri atas dua tahap, yaitu tahap 1 menginfeksi ulat *T. molitor* dengan masing-masing isolat NPS, kemudian diinkubasikan selama 1–3 hari pada suhu ruang (28–29°C). Tahap 2 memanen juvenil infeksi (JI) yang telah terperangkap di dalam air (*white trap*). Panen JI dilakukan dengan interval waktu 2 hari selama ± 10 hari, selanjutnya JI disimpan pada suhu 10–16°C (Lalramnghaki dan Lalramliana 2016) untuk mempertahankan viabilitasnya sekitar 1–2 hari sebelum diperlakukan pada inang.

Penyediaan Uret *L. stigma*

Penelitian ini menggunakan uret *L. stigma* instar 3 karena stadia ini yang paling efektif merusak tanaman tebu. Uret diambil dari lahan per-tanaman tebu yang endemik uret di wilayah Desa Banyuputih, Kecamatan Asembagus, Kabupaten Situbondo, Jawa Timur. Uret yang diperoleh dari lapang dibawa ke laboratorium dan dipelihara di dalam bak-bak plastik yang telah diisi campuran media tanah dan pasir (2:1), serta diberi potongan wortel segar sebagai pakan.

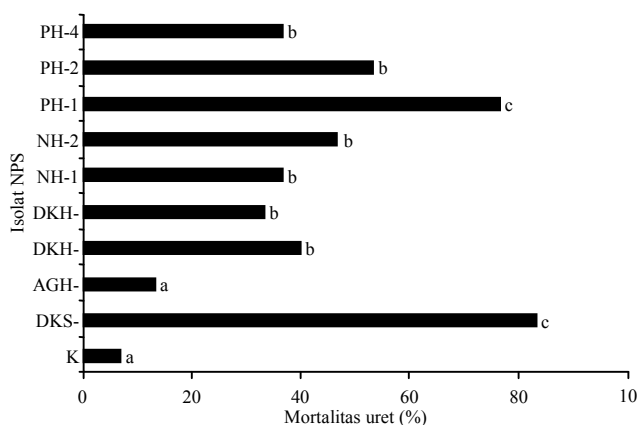
Patogenisitas NPS terhadap Uret *L. stigma*

Sembilan isolat NPS yang diuji sebagai perlakuan adalah (1) DKS-1, (2) AGH-1, (3) DKH-1, (4) DKH-5, (5) NH-1, (6) NH-2, (7) PH-1, (8) PH-2, dan (9) PH-4, serta satu kontrol (tanpa perlakuan). Setiap perlakuan disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang diulang tiga kali. Masing-masing perlakuan terdiri atas 30 ekor uret yang diletakkan secara individual di dalam pot plastik berdiameter 5 cm dan tinggi 7 cm. Penguji-

an ini menggunakan metode kolom pasir (Lortkipanidze et al. 2016) sebagai media penularan nematoda ke inangnya. Ke dalam setiap pot diisi 60 g media tanah berpasir yang diambil dari lokasi pengambilan uret dan media tersebut telah disterilisasi sebelumnya pada suhu 100°C selama 24 jam. Ke dalam pot juga dimasukkan potongan (2 cm²) wortel segar sebagai pakan uret. Pot yang sudah diinfeksi uret kemudian diinokulasi dengan 1 ml suspensi isolat NPS yang setara dengan dosis 2×10^4 JI/ml. Uret yang telah diperlakukan selanjutnya diinkubasikan pada suhu ruang (28–29°C) dan diamati perkembangannya setiap hari. Variabel yang diamati adalah mortalitas uret, yang dimulai 24 jam setelah perlakuan hingga semua uret mati. Data hasil pengamatan diolah dengan Sidik Ragam (ANOVA) dan perlakuan yang menunjukkan perbedaan nyata diuji lebih lanjut dengan Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Semua perlakuan NPS berpotensi menginfeksi uret tebu, *L. stigma*, namun hanya beberapa isolat yang menunjukkan efektifitas cukup tinggi (Gambar 1). Isolat dengan persentase mortalitas uret terendah (<20%) adalah AGH-1 yang tidak menunjukkan perbedaan nyata dengan mortalitas pada kontrol. Isolat-isolat NPS lainnya yang juga tidak menunjukkan perbedaan nyata satu sama lain dalam menyebabkan mortalitas uret adalah DKH-1, DKH-5, NH-1, NH-2, PH-2, dan PH-4 dengan kisaran mortalitas 30–50%. Isolat dari kelompok *Heterorhabditis* sp. yang menunjukkan mortalitas



Gambar 1. Mortalitas uret *L. stigma* pada berbagai isolat NPS.

uret *L. sigma* cukup tinggi sekitar 70–80% adalah isolat PH-1 yang keefektifannya sebanding dan tidak berbeda nyata dengan isolat DKS-1 dari kelompok *Steinernema* sp. yang mencapai mortalitas uret 80–90%.

Steinernema sp. dan *Heterorhabditis* sp. Merupakan NPS yang hidup dan menginfeksi serangga hama yang habitatnya di dalam tanah. Instar larva nematoda ini yang paling aktif menginfeksi inang serangga adalah instar 3 yang juga disebut juvenil infektif. Untuk menemukan lokasi inang (*host foraging*), kedua spesies NPS menggunakan strategi menyergap (*ambush*) atau memburu (*cruise*) (Lortkipanidze et al. 2016; Andaló et al. 2017). *Ambusher* biasanya menunggu kemudian menyergap inang yang lewat di dekatnya. Strategi ini sangat efektif terhadap inang-inang yang pergerakannya sangat aktif di dalam tanah, sedangkan *cruiser* tidak menunggu tetapi aktif memburu inangnya hingga ke lokasi-lokasi yang sulit dicapai di dalam tanah, sehingga NPS tipe ini lebih efektif terhadap inang-inang yang pergerakannya lambat, termasuk jenis-jenis uret.

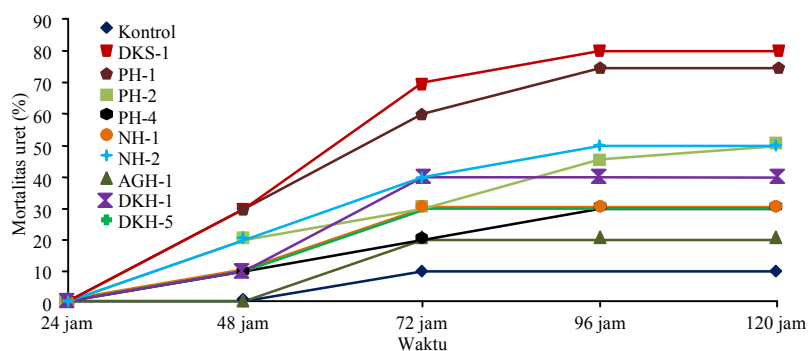
Perbedaan persentase mortalitas hama uret *L. sigma* pada isolat yang diuji kemungkinan ada hubungannya dengan strategi dalam menemukan inang. Untuk memastikan tipe strategi masing-masing isolat NPS, *ambusher* atau *cruiser*, tentunya diperlukan penelitian lanjutan yang lebih spesifik. Selain cara berburu inang (*foraging strategy*), beberapa faktor lain juga turut berperan dalam menentukan keefektifan NPS, yaitu strain NPS, spesies, dan lokasi inang, serta kondisi lingkungan mikro di dalam tanah, seperti tipe tanah, pH, suhu, dan kelembaban (Shapiro-Ilan et al. 2006; Kruitbos et al. 2010). Jenis tanah yang mengandung pasir lebih ideal untuk perkembangbiakan NPS karena mempermudah pergerakan nematoda dalam upaya menemukan serangga (Kapranas et al. 2018). Suhu dan kelembaban di dalam tanah juga mempengaruhi keberhasilan NPS dalam menemukan inangnya (Lee et al. 2016), karena pada suhu rendah (<25°C) menyebabkan NPS inaktif, sehingga mengurangi keefektifannya mengendalikan inang.

Setiap isolat NPS membutuhkan waktu yang berbeda-beda untuk mencapai mortalitas uret *L. sigma* tertinggi (Gambar 2). Semua isolat NPS

yang diuji, kecuali isolat AGH-1, mulai menyebabkan mortalitas uret pada 48 jam setelah perlakuan sebesar 10–20%. Pada 72 jam setelah perlakuan persentase mortalitas uret *L. sigma* mengalami peningkatan hingga mencapai 60–70%, terutama pada isolat DKS-1 dan PH-1, sedangkan isolat lainnya hanya sekitar 30–40%. Bahkan, pada 96 jam setelah perlakuan hanya isolat DKS-1 dan PH-1 yang mampu meningkatkan mortalitas uret *L. sigma* hingga mencapai 70–80% dibanding dengan isolat NPS lainnya.

Selain menunjukkan keefektifan masing-masing isolat NPS terhadap hama uret *L. sigma*, Gambar 2 juga mengindikasikan bahwa peningkatan tertinggi persentase mortalitas uret terjadi pada 72 jam setelah perlakuan, terutama pada isolat DKS-1 dan PH-1 masing-masing sebesar 57,1 dan 50% jika dibanding dengan persentase mortalitas pada 48 jam setelah perlakuan. Peningkatan persentase mortalitas hama uret *L. sigma* dari 72–96 jam relatif lebih rendah, yaitu rata-rata mencapai 12,5 dan 20% masing-masing pada isolat DKS-1 dan PH-1. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa masa kritis uret tebu *L. sigma* terhadap infeksi NPS terjadi sekitar 72 jam setelah perlakuan, hasil ini relatif lebih lama dibanding dengan infeksi NPS pada spesies serangga hama lainnya, yaitu sekitar 24–48 jam setelah perlakuan (Shaban et al. 2010). Meskipun demikian, Rathour et al. (2015) menyatakan bahwa NPS dengan kemampuan membunuh inang dalam 3–5 hari setelah menginfeksi masih dapat dikategorikan sebagai NPS yang patogenik. Kecepatan membunuh NPS terhadap inang merupakan refleksi dari daya bunuh bakteri simbiosis yang dibawa masing-masing spesies NPS di dalam intestinumnya, terutama jumlah bakteri simbiosis yang dilepas ke dalam hemolimfa inang untuk membunuhnya secara efektif (Sicard et al. 2006).

Untuk mengetahui potensi lebih jauh isolat DKS-1 dan PH-1 dalam pengendalian hama uret tebu, *L. sigma*, maka diperlukan kajian lanjutan, terutama untuk mengetahui LC-50 (Lethal Concentration 50%) dan LT-50 (Lethal Toxin 50%). Hal tersebut penting karena ketepatan konsentrasi dan kecepatan waktu membunuh sangat mempengaruhi keberhasilan pengendalian. Selain itu faktor penting lainnya dalam mengoptimalkan



Gambar 2. Mortalitas kumulatif uret *L. stigma* pada berbagai isolat NPS yang diamati pada interval waktu 24 jam.

pemanfaatan NPS untuk mengendalikan uret tebu *L. stigma* adalah teknik produksi massalnya, terutama prosedur penyimpanan yang mampu menjaga viabilitas nematoda hingga lebih dari 1 bulan tanpa menurunkan daya bunuhnya. Dukungan dari hasil kajian-kajian tersebut sangat diperlukan dalam upaya pengembangan NPS menjadi salah satu produk bio-pestisida yang efektif untuk mengendalikan hama uret pada tebu.

KESIMPULAN

Isolat NPS yang patogenik terhadap hama uret tebu *L. stigma* adalah DKS-1 (*Steinernema* sp.) dan PH-1 (*Heterorhabditis* sp.) dengan mortalitas uret mencapai kisaran 70–90%. Peningkatan persentase mortalitas uret *L. stigma* tertinggi terjadi pada 72 jam setelah perlakuan, yaitu sebesar 57,1 pada isolat DKS-1 dan 50% pada isolat PH-1. Diperolehnya dua isolat NPS yang patogenik terhadap hama uret *L. stigma* dengan strategi pencarian inang yang berbeda (menyergap atau memburu) ini, diharapkan kegiatan pengendalian hama uret pada tebu lebih efektif sehingga berdampak pada peningkatan produksi tebu.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdolmaleki, A., Maafi, Z.T., Dastjerdi, H.R., Naseri, B. & Ghasemi, A. (2016) Isolation and identification of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria from Kurdistan Province in Iran. *Crop Protection*, 5 (2), 259–271. doi: 10.1016/j.cip.-2008.01.006.
- Andaló, V., Moreira, G.F. & Junior, A.M. (2017) Host-seeking behavior of the *Heterorhabditis amazonensis* nematode in response to stimulant sources. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 47 (3), 265–272. doi: 10.1590/1983-40632016v4745395
- Chaerani (2011) Pembiakan nematoda patogen serangga (Rhabditida: *Heterorhabditis* dan *Steinernema*) pada media semi padat. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, 11 (1), 69–77.
- Christen, J.M., Campbell, J.F., Lewis, E.E., Shapiro-Ilan, D.I. & Ramaswamy, S.B. (2007) Responses of the entomopathogenic nematode, *Steinernema riobrave* to its insect hosts, *Galleria mellonella* and *Tenebrio molitor*. *Parasitology*, 134 (Pt 6), 889–898. doi:10.1017/S0031182006002101.
- Cock, M.J.W. & Allard, G.B. (2013) Observations on white grubs affecting sugar cane at the Juba Sugar Project, South-Western Somalia, in the 1980s and implications for their management. *Insects*, 4 (2), 241–272. doi:10.3390/insects4020241.
- De, C. & Ganeshan, S. (2016) Sugarcane white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) in Africa and Indian Ocean Islands: Their pest status and the potential for fungal entomopathogenic control. In: *Proceeding of the 89th Annual Congress-South African Sugar Technologists' Association*. Durban, South Africa, pp. 116–124.
- Dubey, J., Tiwary, B.N. & Ganguly, S. (2013) Biological control of insect pests using entomopathogenic nematodes. In: Maramorosch, K. & Hirumi, H. (eds.) *Practical Tissue Culture Applications*. Rio de Janeiro, Elsevier Inc., pp. 387–398.
- Kapranas, A., Maher, A.M.D. & Griffin, C.T. (2018) The influence of organic matter content and media compaction on the dispersal of entomopathogenic nematodes with different foraging strategies. *Parasitology*, 144, 1956–1963. doi:10.1017/S003118-2017001317.
- Kaya, H.K., Aguilera, M.M., Alumai, A., Choo, H.Y., de la Torre, M., Fodor, A. & Ganguly, S. (2006) Status of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria from selected countries or regions of the world. *Biological Control*, 38, 134–155. doi:10.1016/j.biocontrol.2005.11.004.

- Kruitbos, L.M., Heritage, S., Hapca, S. & Wilson, M.J. (2010) The influence of habitat quality on the foraging strategies of the entomopathogenic nematodes *Steinernema carpocapsae* and *Heterorhabditis megidis*. *Parasitology*, 137 (2), 303–309. doi:10.1017/S0031182009991326.
- Lalramnghaki, H.C.V. & Lalramliana, V. (2016) Effect of temperature on the infectivity of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) isolated from Mizoram, Northeastern India. *Science Vision*, 16 (1), 21–26.
- Lee, J.H., Dillman, A.R. & Hallem, E.A. (2016) Temperature-dependent changes in the Host-seeking behaviors of parasitic nematodes. *BMC Biology*, 14 (36), 1–17. doi:10.1186/s12915-016-0259-0.
- Lortkipanidze, M.A., Gorgadze, O.A., Kajaia, G.S., Gratiashvili, N.G. & Kuchava, M.A. (2016) Foraging behavior and virulence of some entomopathogenic nematodes. *Annals of Agrarian Science*, 14 (2), 99–103. doi:10.1016/j.aasci.2016.05.009.
- Maneesakorn, P., An, R., Grewal, P.S. & Chandrapatya, A. (2010) Virulence of four new strains of entomopathogenic nematodes from Thailand against second instar larva of the Japanese beetle, *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Thai Journal of Agricultural Science*, 43 (2), 61–66.
- Manisegar, S., Lakshmi, S.M. & Srimohanapriya, V. (2011) Field evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin against *Holotrichia serrata* (Blanch) in sugarcane. *Journal of Biopesticides*, 4 (2), 190–193.
- Ngubane, N.P., Hatting, J.L. & Truter, M. (2012) Entomopathogens associated with African and Mauritian Scarabaeidae affecting sugarcane. In: *Proceeding of the 89th Annual Congress-South African Sugar Technologists' Association*. Durban, South Africa, pp. 114–117.
- Pillay, U., Martin, L.A., Rutherford, R.S. & Berry, S.D. (2009) Entomopathogenic nematodes in sugarcane in South Africa. In: *Proceeding of the 89th Annual Congress-South African Sugar Technologists' Association*. Durban, South Africa, pp. 538–541.
- Pradnya B.M. & Mohite, P.B. (2014) Bioefficacy of different species of entomopathogenic fungi against white grub, *Leucopholis lepidophora* (Blanchard) infesting sugarcane in Maharashtra. *Asian Journal of Biological Science*, 9 (2), 15–40.
- Rathour, B., Mohite, P.B. & Gite, R.B. (2015) Bioefficacy of entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis indica* against white grub, *Phyllognathus dionysius* Feb. under laboratory condition. *Journal of Global Biosciences*, 4 (12), 1278–1282.
- Samson, P. R., Bade, G.S. & Harris, W.J. (2010) Efficacy of Biocane™ against southern one-year canegrub, *Antitrogus consanguineus*. In: *Proceedings of the Australian Society of Sugar Cane Technology*, 32, pp. 50–61.
- Shaban, H.E., Helal, I.B., Shamseldean, M.M. & Seif, A.I. (2010) Virulence of *Steinernema* and *Heterorhabditis* entomopathogenic nematodes (Rhabditida) from Egypt against the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) and American cockroach, *Periplaneta americana* (Blattodea: Blattellidae). *The Egyptian Journal of Experimental Biology (Zoology)*, 6 (2), 239–245.
- Shapiro-Ilan, D.I., Gouge, D.H., Piggot, S.J. & Fife, J.P. (2006) Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. *Biological Control*, 38, 124–133. doi:10.1016/j.biocontrol.2005.09.005.
- Shapiro-Ilan, D.I., Han, R. & Dolinski, C. (2012) Entomopathogenic nematode production and application technology. *Journal of Nematology*, 44 (2), 206–217.
- Sicard, M., Hinsinger, J., Le Brun, N., Pages, S., Boemare, N. & Moullia, C. (2006) Interspecific competition between entomopathogenic nematodes (*Steinernema*) is modified by their bacterial symbionts (*Xenorhabdus*). *BMC Evolutionary Biology*, 6, 1956–1963. doi:10.1186/1471-2148-6-68.
- Supekar, S., & Mohite, P. (2015) Utilization of entomopathogenic nematodes against white grub, *Holotrichia serrata* FAB infesting sugarcane. *Journal of Global Biosciences*, 4 (8), 3178–3181.
- Sushil, S.N., Mohan, M., Selvakumar, G. & Bhatt, J.C. (2006) Relative abundance and host preference of white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) in Kumaon Hills of Indian Himalayas. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 76 (5), 338–339.
- Upadhyay, D., Mandjiny, S., Bullard-dillard, R., Storms, M., Menefee, M. & Holmes, L.D. (2015) Lab-scale *in vitro* mass production of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* using liquid culture fermentation technology. *American Journal of Bioscience and Bioengineering*, 3 (6), 203–207. doi:10.11648/j.bio.20150306.19.
- Vashisth, S., Chandel, Y.S. & Sharma, K. (2013) Entomopathogenic nematodes-A review. *Agricultural Reviews*, 34 (3), 163–175. doi:10.5958/j.09760741.-34.3.001.
- Visalakshi, M., Bhavani, B. & Rao, S.G. (2015) Field evaluation of entomopathogenic fungi against white grub, *Holotrichia consanguinea* Blanch in sugarcane. *Journal of Biological Control*, 29 (2), 103–106.
- Way, M.J., Mwelase, Z.I., Magagula, N. & Matimba, J. (2013) Surveying white grubs (Scarabaeidae) in the Swaziland sugarcane industry: The 2006–2012 surveys. In: *Proceeding of the 89th Annual Congress-South African Sugar Technologists' Association*. Durban, South Africa, pp. 295–300.