



***Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhrer, 1934) Nickle 1970 – háďatko borovicové: hrozba pre európske lesy**

Bursaphelenchus xylophilus (Steiner & Buhrer, 1934) Nickle 1970 – pinewood nematode: a threat to European forests

Andrea Čerevková^{1*}, Manuel Mota^{2,3}, Paulo Vieira²

¹Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, SK – 040 01 Košice, Slovenská republika

²NemaLab-ICAAM & Dept. Biologia, Universidade de Évora, 7002–554 Évora, Portugal

³Lab. de Nematologia, INIAV/ Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Sistemas Agrários e Florestais e Sanidade Vegetal, Av. da República, Quinta do Marquês 2784–159 Oeiras, Portugal

Abstract

Bursaphelenchus xylophilus is the main causal agent of the pine wilt disease and a worldwide pest with high economic impact. As a serious invasive and destructive species, it is listed as a quarantine pest in the legislation of more than 40 countries. *B. xylophilus* was reported for the first time in Europe in Portugal in 1999 and in 2008 the whole country has been considered an affected area. In 2008, presence of *B. xylophilus* was confirmed in Spain. This paper reports on the biology, introduction, spread and the control of *B. xylophilus* as potential risk element in European coniferous forests.

Keywords: *Bursaphelenchus*; pine wilt disease; pathway spread survey

Abstrakt

Bursaphelenchus xylophilus – háďatko borovicové je pôvodca náhleho hynutia borovic a celosvetovo rozšírený patogén s veľkým ekonomickým významom. Ako závažný invázny druh je zaradený do zoznamu karanténnych druhov vo viac ako 40 krajinách. V Európe bol zaznamenaný prvý výskyt v Portugalsku v roku 1999 a v 2008 bola celá krajina označená ako napadnutá oblasť. V roku 2008 bol potvrdený jeho výskyt v Španielsku. Práca sumarizuje poznatky o biológii, rozšírení a ochranných opatreniach proti *B. xylophilus* ako možnom riziku pre ihličnaté lesy Európy.

Kľúčové slová: *Bursaphelenchus*; náhle hynutie borovic; možnosti rozšírenia

1. Úvod

Les okrem nesporného ekologického a estetického významu má 15 % podiel na celkovej svetovej ekonomike (Costanza et al. 1997). V Európe lesy pokrývajú 44 % územia čo tvorí až 25 % celkovej rozlohy sveta.

Výmera lesných pozemkov v Slovenskej republike v roku 2011 dosiahla 2 mil. ha z toho porastovej pôdy bolo 1,94 mil. ha. Z hľadiska drevinovej skladby na Slovensku prevládajú listnaté dreviny s podielom 60,5 % s vysokým zastúpením buka a duba. Ihličnaté dreviny tvoria 39,5 % s vysokým zastúpením smreka a borovice (Anonymous 2012).

Jedno z najzávažnejších ochorení, ktoré spôsobuje vädnutie a hynutie borovic (Pine Wilt Disease, PWD) je zapríčinené háďatkom *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhrer, 1934) Nickle, 1970. Ako významný patogén je zaradený medzi karanténne druhy EPPO List A1, No. 158 (OEPP/EPPO, 1986).

Približne 70 % druhov rodu *Bursaphelenchus* sa vyskytuje na borovici *Pinus* spp. (Braasch 2004). Po tom čo v 30 rokoch minulého storočia došlo k rozšíreniu a následným enormným škodám v ázijských krajinách bol jeho výskyt v roku 1999 zaznamenaný aj v Európe – v Portugalsku (Mota et al. 1999).

Hynutie borovic nespôsobuje len háďatko samotné, ale je vyvolané aj v synergii s hubami žijúcimi v hostiteľských drevinách. Rýchle usychanie drevín v dôsledku infekcie háďatkami je spôsobené dysfunkciou cievného systému.

2. Taxonomické zaradenie *B. xylophilus*, hostiteľske rastliny, symptómy

Taxonomické zaradenie *B. xylophilus* je nasledujúce: kmeň Nematoda, oddelenie Secernentia, rad Aphelenchida, podrad Aphelenchina, nadčelaď Aphelenchoideoidea, čelaď Aphelenchoididae, podčelaď Rhadinaphelenchinae, rod *Bursaphelenchus*.

Rod *Bursaphelenchus* v súčasnosti zahŕňa okolo 100 druhov (Hunt 2008). Počet druhov vzrástol od roku 1956 zo 14 (Rühm 1956) najmä vďaka globálnym molekulárnym taxonomickým štúdiám. Na Slovensku bolo zaznamenaných 9 druhov (Tenkáčová & Mitúch 1987; Világiová 1990). Ryss et al. (2005) rozdelili druhy rodu *Bursaphelenchus* do šiestich skupín a to *xylophilus*, *hunti*, *aberrans*, *eidmanni*, *borealis* a *piniperdae*. Skupina *xylophilus* podľa Braascha (2008) zahŕňa druhy *B. baujardi* Walia, Negi, Bajaj & Kalia, 2003; *B. conicaudatus* Kanzaki, Tsuda & Futai, 2000; *B. doui* Bra-

*Corresponding author. Andrea Čerevková, e-mail: cerev@saske.sk, phone: +421 55 62 227 87

asch, Gu, Burgermeister & Zhang, 2005; *B. fraudulentus* Rühm, 1956; *B. kolymensis* Korentchenko, 1980; *B. luxuriosae* Kanzaki & Futai, 2003; *B. mucronatus* Mamiya & Enda, 1979; *B. singaporensis* Gu, Zhang, Braasch & Burgermeister, 2005 a *B. xylophilus*. V roku 2009 (Braasch et al. 2009) rozšírili túto skupinu o ďalšie novoobjavené druhy: *B. macromucronatus* Gu, Zheng, Braasch & Burgermeister, 2008; *B. populi* Tomalak & Filipiak, 2010; *B. firmae* Kanzaki, Maehara, Aikawa, & Matsumoto, 2012; *B. gillanii* Schönfeld, Braasch, Riedel, & Gu, 2013; *B. paraluxuriosae* Gu, Wang, Braasch, Burgermeister, & Schröder, 2012; *B. koreanus* Gu, Wang & Cheng, 2013. Niektoré druhy rodu *Bursaphelenchus* sú parazitické, ale väčšina sú mykofágne a živia sa hubami na rozkladajúcom sa dreve stromov. Ekonomický význam má karanténny druh *B. xylophilus*. Hostiteľskými rastlinami *B. xylophilus* je najmä rod *Pinus* spp., ktorý je v Európe jedným z najrozšírenejších, a zastúpený najmä druhmi *P. sylvestris* L., *P. nigra* Arnold a *P. pinaster* Ait. Okrem borovice *B. xylophilus*, napáda aj ďalšie dreviny: *Abies* spp., *Chamaecyparis* spp., *Cedrus* spp., *Larix* spp., *Picea* spp. a *Pseudotsuga* spp. Výnimkou je *Thuja plicata* D. Don ex Lamb., ktorá sa zdá byť imúnna voči vektorom prenášajúcim nematódy a teda aj voči nematódam rodu *Bursaphelenchus* (Tóth 2011). V Portugalsku *B. xylophilus* spôsobuje škody na ich pôvodnom druhu, borovici prímorskej *Pinus pinaster* Ait., ktorá zaberá celkovo tretinu rozlohy lesných porastov v krajine. V 20. storočí v Portugalsku až 80 % lesov pozostávalo len z 3 hlavných rodov drevín: borovica, eukalyptus a dub (cezminovitý a korkový). Borovica prímorská *Pinus pinaster* Ait., ktorá je náchylná na PWD, bola zastúpená v 62,5 %, za ňou nasledovali najmä v severnej časti krajiny *P. pinea* L. a *P. sylvestris* L. (Rodrigues 2008).

Najnápadnejším symptómom napadnutia drevín háďatkom *B. xylophilus* je náhle usychanie. Po infekcii, háďatká prenikajú do cievnych zväzkov dreviny, kde po rozmnožení upchávajú cievy a spôsobujú zníženie a neskôr **aj zastavenie** toku vody a následne žltnutie, sčervenanie, usychanie a opadávanie ihličia ako dôsledok zablokovania vodného mechanizmu. Napadnutý strom do 1–3 mesiacov odumiera (Obr. 1).

3. Morfológia, životný cyklus *B. xylophilus*, vektory

Morfologická identifikácia *B. xylophilus*, najmä jeho odlišenie od iných druhov *Bursaphelenchus*, je značne náročná. Ide o tenké nitkovité „červy“ veľkosti okolo 1 mm ťažko pozorovateľné voľným okom. Spoľahlivá je molekulárna detekcia s použitím PCR amplifikácie ITS a IGS sekvencií ribozomálnej DNA s využitím druhovo špecifických primerov, reštrikčných enzýmov metódou RFLP (Burgermeister et al. 2005, 2009), alebo použitím metódy real time-PCR (François et al. 2007; Leal et al. 2007). Okrem toho je v súčasnosti výskum v oblasti diagnostiky zameraný na detekciu ochorenia priamo bez extrakcie háďatiek a následnej nákladnej diagnostiky s použitím drahých špecializovaných zariadení, alebo náročnej znalosti morfologickej charakteristiky. Príkladom je metóda LAMP (loop-mediated isothermal amplification) (Kikuchi et al. 2009), ktorá v budúcnosti môže byť potenciálne použitá v lesných podmienkach.

Vektormi prenášajúcimi nematódy *B. xylophilus* sú chrobáky rodu *Monochamus* (Coleoptera, Cerambycidae). V Portugalsku sa vyskytuje jediný druh *M. galloprovincialis* (Olivier 1795), ktorý zabezpečuje prenos a rozširovanie



Obr. 1. Borovica prímorská – *Pinus pinaster* s typickými symptómami poškodenia háďatkom borovicovým – *Bursaphelenchus xylophilus* (Foto: Červenková)

Fig. 1. Maritime pine – *Pinus pinaster* with typical symptoms of pine wood nematode – *Bursaphelenchus xylophilus* damage.

nematód (Sousa et al. 2001). Na Slovensku máme zastúpených ako potenciálnych prenášačov päť druhov: *M. galloprovincialis*, *M. galloprovincialis pistos* (Germaer 1818), *M. saltuarius* (Gebler 1830), *M. sartor* (Fab. 1787), *M. sutor* (L. 1758) (<http://www.faunaeur.org>).

Životný cyklus *B. xylophilus* prechádza cez 4 larválne štádiá. K prvému zvliekaniu dochádza ešte vo vajíčku následne sa liahne larva L2, ktorá sa trikrát zvlieka a mení na dospelého jedince, samčeka alebo samičku (Wingfield 1987). Životný cyklus *B. xylophilus* zahŕňa fytofágnu aj mykofágnu fázu. Zdrojom infekcie je napadnuté a poškodené drevo alebo odumierajúce stromy, na ktorých sa hádatká živia hubami (mykofágná fáza). Napadnuté, odumierajúce stromy a drevo sú zároveň atraktívne pre samičku vektora, ktorá doň kladie 80–150 vajíčok. Vyliahnuté larvy vektora sa živia rozkladajúcim sa drevom a po zakuklení do kukly prenikajú larvy hádatiek štvrtého štádia. **Prenos na zdravé stromy zabezpečujú** novo vyliahnuté chrobáky, ktoré hádatká prenášajú v tracheách. Pri úživnom žere chrobákov na kôre stromov, sa hádatká dostávajú cez priechody alebo požerky do cievnych zväzkov dreveniny, kde sa ďalej rýchlo rozmnožujú (Wingfield 1983, 1987). Celý vývinový cyklus pri 25 °C trvá len 4–5 dní (Ishibashi & Kondo 1977; Mamiya 1984). K rýchlemu rozmnoženiu hádatiek dochádza vo všetkých častiach napadnutej dreveniny s výnimkou ihličia, šišíek a semien. Hádatká boli pozorované aj v koreňovom systéme, kde pravdepodobne zároveň dokážu prežívať po odumretí alebo zoťatí stromu. Po infekcii strom odumiera za 30–40 dní.

4. Rozšírenie a ekonomický význam

B. xylophilus je pôvodne severoamerický druh, ktorý vo svojej domovine spôsobuje len nepatrné škody. Vďaka voľnému a globálnemu prevozu tovarov a najmä cirkulácií neopracovaného dreva (napr. neošetrené drevené palety) a drevených produktov sa rozšíril na ďalšie svetové kontinenty. V Japonsku sa objavil začiatkom 20. storočia (Nickle et al. 1981; Mamiya 1983; Malek & Appleby 1984) odkiaľ sa ďalej rozšíril do Číny, Taiwanu, Kórey. Podľa Mamiya (2004) *B. xylophilus* v Japonsku každoročne poškodí 1 milión m³ dreva pôvodných ázijských druhov borovic *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc., *P. thunbergii* Parl. a *P. luchuenensis* Mayr. čo od roku 1945 predstavuje 26 milión m³. Okrem priamych ekonomických strát narastajú aj nepriame straty, tvorené nákladmi na kontrolné a ochranné opatrenia. Len Japonsko každoročne investuje do kontrolných opatrení 10 mil. dolárov (Kulinich & Kolossova 1993). V roku 2000, bolo v Japonsku napadnutých hádatkom *B. xylophilus* 580 000 ha čo predstavuje asi 28 % všetkých borovicových porastov. Z ekologického hľadiska v napadnutých porastoch dochádza k zmenám v zložení lesných spoločenstiev, vznikajú zmeny v biodiverzite, poškodzuje sa prirodzený habitat a dochádza k pôdnej a vodnej erózii.

V Európe bol prvý výskyt *B. xylophilus* zaznamenaný v roku 1999 v Portugalsku v prístavnom meste Setubal 30 km na východ od Lisabonu (Mota et al. 1999). V roku 2008 bol jeho výskyt potvrdený v centrálnej časti Portugalska a v nasledujúcom roku aj na ostrove Madeira, ktorého lesy sú zaradené do svetového dedičstva UNESCO (Fonseca et

al. 2012). V roku 2008 bol zaznamenaný výskyt na severozápade Španielska (Abelleira et al. 2011). V roku 2009 niekoľko krajín EU (Nemecko, Fínsko) potvrdilo výskyt *B. xylophilus* a jeho vektorov v zásielkach dreva a obalovom drevenom materiáli smerujúcom z Portugalska. Napriek vynaloženiu 24 miliónov eur v rokoch 2001–2009 (EPPO, 2009) nebolo ochorenie spôsobujúce usychanie borovic zastavené resp. zničené. V Portugalsku je poškodených 1 milión hektárov, čo je 34 % z celkovej lesnej plochy krajiny (Mota et al. 1999; Sousa et al. 2001). Hádatko borovicové je jednou z najväčších súčasných hrozieb pre európske borovicové porasty s odhadovanou mortalitou > 50 % borovic. Jeho zavlečenie a rozšírenie môže spôsobiť veľké škody v európskych lesoch. Riziko rozšírenia sa ešte znásobuje, ak sú prítomné vektory. Primárnym, potenciálnym zdrojom nákazy je dovezenie hádatiek a vektorov v zásielkach borovicového dreva alebo v drevených obalových materiáloch (Braasch 2000). Soliman et al. (2012) odhadujú, že pri nekontrolovanom rozšírení *B. xylophilus* bude zasiahnutých 10,6 % študovaného územia EU do roku 2030, čo sa odhaduje na celkovú ekonomickú stratu 22 miliárd eur.

5. Ochranné opatrenia

Napriek celosvetovému významu *B. xylophilus* ako karanténneho druhu a jeho ekonomickému významu pre lesné hospodárstvo a s ním súvisiacich priemyselných odvetví sú zatiaľ jedinou spoľahlivou ochranou preventívne opatrenia. Na Slovensku ÚKSÚP vykonáva prieskum výskytu hádatka borovicového od roku 2003 v lesných porastoch, lesných škôlkach, verejnej zeleni, u výrobcov dreva a dreveného obalového materiálu a na hraničných inšpekčných staniách (Barok 2013). Základne preventívne opatrenia spočívajú v zabezpečení hygieny porastov (odstraňovať poškodené stromy a následná asanácia insekticídmi alebo odkôrnením) zvýšiť pozornosť najmä u porastov s borovicami a v prípade potreby a podozrenia zavlečenia *B. xylophilus*, kontaktovať inšpektorov Lesníckej ochrannej služby Banská Štiavnica (Kunca & Gallo 2013).

Chemické látky (etylén dibromid, alebo dibromochloropropane), ktoré sa v minulosti používali najmä v Ázii, boli stiahnuté z trhu z dôvodu ich neselektívneho charakteru, vysokého nebezpečenstva pre životné prostredie, vyšším nákladom a zníženej účinnosti po opakovaných aplikáciách (Oka et al. 2000). Po období leteckej aplikácie širokospektrálnych insekticídnych postrekov v Japonsku v 70. rokoch, od ktorých sa upustilo, sa v dnešnej dobe výskum orientuje na insekticídy s nízkymi vedľajšími účinkami (Wang et al. 2010); využitie biologických agensov (Naves et al. 2005; Maehara 2008; Wang et al. 2011), alebo náročné a dlhodobé šľachtiteľské procesy zamerané na odolnosť a toleranciu lesných drevín.

Alternatívou je použitie injekčnej aplikácie prípravkov na báze avermectín, emamectín benzoate alebo abamectín, pri ktorých bol zaznamenaný nematocídny efekt na *B. xylophilus* (Takai et al. 2003).

6. Záver

Bursaphelenchus xylophilus je karanténny druh, ktorý predstavuje veľké nebezpečenstvo pre lesné ekosystémy tak z ekologického ako aj ekonomického hľadiska. V Európe sú ohrozené najmä druhy: *P. sylvestris*, *P. nigra* a *P. pinaster*. Na Slovensku, je vysoké riziko zavlečenia a rozšírenia *B. xylophilus* najmä z dôvodu zastúpenia hostiteľských drevín, prítomnosti vektorov a priaznivých klimatických podmienok. Zavlečenie *B. xylophilus* do nových oblastí je priamo spojené s celosvetovým obchodom a transportom drevených produktov. Viaceré druhy hádatiek boli potvrdené v drevených obalových materiáloch, drevených produktoch a výrobkoch dovezených z rôznych krajín čo **zdôrazňuje význam** globálneho obchodu v otázke zavlečenie tohto patogéna do Európy. Prevencia pred zavlečením *B. xylophilus* je monitoring hádatiek a ich vektorov, zabránenie v transporte kontaminovaného dreva, výrub napadnutých a monitorovanie zdravých stromov. Európska únia prijala nové obmedzenia a opatrenia, aby bola zabezpečená ochrana nenapadnutých území, zároveň, ak je to možné, došlo k odstráneniu toto ochorenia z oblasti Európy (CEC 2009).

Podakovanie

Tento článok vznikol v rámci riešenia projektu „Centrum excelentnosti biologických metód ochrany lesa“ (ITMS: 26220120008) na základe podpory Operačného programu Výskum a vývoj, financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja (0,5) a ŠF OPV 1.2/02-SORO Výskumno-vzdelávacie parazitologické centrum SAV (kód ITMS: 26110230045), aktivita 1.2.: Podpora výskumno-vzdelávacieho programu postdoktorandov a zamestnancov (0,5).

Literatúra

- Abelleira, A., Picoaga, A., Mansilla, J. P. et al., 2011: Detection of *Bursaphelenchus xylophilus*, causal agent of pine wilt disease on *Pinus pinaster* in northwestern Spain. *Plant disease* 95: 776.
- Anonymous, 2012: Zelená správa, Správa o lesnom hospodárstve v Slovenskej republike za rok 2011. Dostupné na internete: <<http://www.mpsr.sk/index.php?navID=123&id=7199>>.
- Barok, S., 2013: Opatrenia akčné plány, legislatíva a doterajšie výsledky monitoringu hádatka borovicového v SR. In: Kunca, A. (ed.): Aktuálne problémy v ochrane lesa 2013. Zborník referátov z 22. ročníka konferencie. Zvolen: NLC, s. 93–95.
- Braasch, H., 2000: *Bursaphelenchus xylophilus* in Europa. 52 Deutsche Pflanzenschutzang. Herausgegeben von der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Heft 376, Berlin, 222 p.
- Braasch, H. 2004: Morphology of *Bursaphelenchus xylophilus* compared with other *Bursaphelenchus* species. In: Mota, M., Vieira, P. (ed.): The Pinewood Nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. Nematology Monographs and Perspectives, Leiden, The Netherlands: E.J. Brill 1:127–143.
- Braasch, H., 2008: The Enlargement of the xylophilus Group in the Genus *Bursaphelenchus*. In: Mota, M., Vieira, P. (eds.): Pine Wilt Disease: A Worldwide Threat of Forest Ecosystems. Springer Netherlands, p. 139–149.
- Braasch, H., Burgermeister, W. & Gu, J., 2009: Revised intra-generic grouping of *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937 (Nematoda: Aphelenchoididae). *Journal of Nematode Morphology and Systematics* 12:65–88.
- Burgermeister, W., Metge, K., Braasch, H. et al., 2005: ITS-RFLP patterns for differentiation of 26 *Bursaphelenchus* species (Nematoda: Parasitaphelenchidae) and observations on their distribution. *Russian Journal of Nematology* 13:29–42.
- Burgermeister, W., Braasch, H., Metge, K. et al., 2009: ITS-RFLP analysis, an efficient tool for differentiation of *Bursaphelenchus* species. *Nematology* 11:649–668.
- CEC (Comission of the European Communities) 2009: Commission staff working document concerning the control of the pinewood nematode in the forestry sector, in the European Union, Brussels, Belgium. Dostupné na internete: <http://ec.europa.eu/food/plant/organisms/imports/roadmap_renewned_strategy_en.pdf>.
- Costanza, R., D'Arge, R., de Groot, R. et al., 1997: The value of the world's ecosystem service and natural capital. *Nature* 387: 253–260.
- EPPO 2009: Report of a Pest Risk Analysis for *Bursaphelenchus xylophilus*. 09/15450.
- Fonseca, L., Cardoso, J. M. S., Lopes, A. et al., 2012: The pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, in Madeira Island. *Helminthologia* 49:96–103.
- François, C., Castagnone, C., Boonham, N. et al., 2007: Satellite DNA as a target for TaqMan real-time PCR detection of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Molecular Plant Pathology* 8:803–809.
- Hunt, D. J., 2008: A checking of the Aphelenchoidea (Nematoda: Tylenchina). *Journal of Nematode Morphology and Systematics* 10:99–135.
- Ishibashi, N., Kondo, E. 1977: Occurrence and survival of the dispersal forms of pine wood nematode, *Bursaphelenchus lignicolus*, Mamiya and Kiyohara. *Applied Entomology and Zoology* 12:293–302.
- Kikuchi, T., Aikawa, T., Oeda, Y. et al., 2009: A rapid and precise diagnostic method for detecting the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* by loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *Phytopathology* 99:1365–1369.
- Kulinich, O., Kolossova, V., 1993: [Pinewood nematode – a potential danger for the coniferous forest of Russia]. *Zashchita Rasteni* 8:22–24.
- Kunca, A., Galko, J., 2013: Monitoring hádatká borovicového v zmysle platných právnych noriem a usmernení EÚ. In: Kunca, A. (ed.): Aktuálne problémy v ochrane lesa 2013. Zborník referátov z 22. ročníka konferencie. Zvolen, NLC, s. 97–100.
- Leal, I., Green, M., Allen, E. et al., 2007: Application of a real-time PCR method for the detection of pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, in wood samples from lodgepole pine. *Nematology* 9:351–362.
- Maehara, N., 2008: Reduction of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae) population by inoculating *Trichoderma* spp. into pine wilt-killed trees *Biological control* 44:61–66.
- Malek, R. B., Appleby, J. E., 1984: Epidemiology of pine wilt in Illinois. *Plant Disease* 68:180–186.
- Mamiya, Y., 1983: Pathology of pine wilt disease caused by *Bursaphelenchus xylophilus*. *Annual Review of Phytopathology* 21: 201–220.
- Mamiya, Y., 1984: The pine wood nematode. In: Nickle, W. R. (ed.): Plant and insect nematodes. New York and Basel. Marcel Dekker: 589–627.
- Mamiya, Y., 2004: Pine wilt disease in Japan. Pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. Book Series: Nematology Monographs and Perspectives 1:9–20.
- Mota, M. M., Braasch, H., Bravo, M. A. et al., 1999: First record of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and in Europe. *Nematology* 1:727–734.

- Naves, P., Kenis, M., Sousa, E., 2005: Parasitoids associated with *Monochamus galloprovincialis* (Oliv.) (Coleoptera: Cerambycidae) within the pine wilt nematode-affected zone in Portugal. *Journal of Pest Science* 78:57–62.
- Nickle, W. R., Golden, A. M., Mamiya, Y. et al., 1981: On the taxonomy and morphology of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhner 1934) Nickle 1971. *Journal of Nematology* 13:385–392.
- OEPP/EPPO 1986: Data sheets on quarantine organisms List A1, No. 158, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 16:55–60.
- Oka, Y., Koltai, H., Bar-Eyal, M. et al., 2000: New strategies for the control of plant-parasitic nematodes. Meeting on the Economic and Commercial Impact of Integrated Crop Management Location: London England. APR 03-04, 2000. *Pest management science* 56:983–988.
- Rodrigues, J., 2008: National eradication programme for the pinewood nematode in Portugal. In: M. Mota & P. Vieira (eds.), *Pine wilt disease: a worldwide threat to forest ecosystems*. Dordrecht: Springer, p. 5–14.
- Rühm, W., 1956: Die nematoden der ipiden. *Parasitol. Schriftenr* 6:1–435.
- Ryss, A., Vieira, P., Mota, M. et al., 2005: A synopsis of the genus *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937 (Aphelenchida: Parasitaphelenchidae) with keys to species. *Nematology* 7:393–458.
- Soliman, T., Mourits, M. C. M., Werf, W. et al., 2012: Framework for Modelling Economic Impacts of Invasive Species, Applied to Pine Wood Nematode in Europe. *PLoS ONE* 7(9): e45505. Dostupné na internete: doi:10.1371/journal.pone.0045505.
- Sousa, E., Bravo, M. A., Pires, J. et al., 2001: *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) associated with *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera; Cerambycidae) in Portugal. *Nematology* 3:89–91.
- Takai, K., Suzuki, T., Kawazu, K., 2003: Development and preventative effect against pine wilt disease of a novel liquid formulation of emamectin benzoate. *Pest management science* 59:365–370.
- Tenkáčová, I., Mitúch, 1987: Nematodes new for the fauna of the Czechoslovak Socialist Republic with the affinity to scolytids (Coleoptera: Scolytidae). *Helminthologia* 24:281–291.
- Tóth, A., 2011: *Bursaphelenchus xylophilus*, the pinewood nematode: its significance and a historical review. *Acta Biologica Szegediensis* 55:213–217.
- Világiová, I., 1990: Helmintofauna podkôrníkovitých (Coleoptera: Scolytidae) na Slovensku. (Kandidátska dizertácia), *Helminthologický ústav SAV*, 118 s.
- Wang, Y.Q., Zhang, L.Y., Lai, D. et al., 2010: The nematicidal and proteomic effects of Huanong AVM (analog of avermectin) on the pine-wilt nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Pesticide biochemistry and physiology* 98:224–230.
- Wang, C. Y., Fang Z. M., Wang, Z. et al., 2011: Biological control of the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* by application of the endoparasitic fungus *Esteya vermicola*. *Biocontrol* 56:91–100.
- Wingfield, M. J., 1983: Transmission of pine wood nematode to cut timber and girdled trees. *Plant Disease* 67:35–37.
- Wingfield, M. J., 1987: A comparison of the mycophagous and the phytophagous phases of the pine wood nematode. In: Wingfield, M. J. (ed.): *Pathogenicity of the Pine Wood Nematode*, Symposium Series, APS Press. The American Phytopathological Society, St Paul (US), p. 81–90.