

**Tűlevelű fákban élő, európai elterjedésű *Bursaphelenchus*-
fonálféregfajok kimutatása és azonosítása Magyarországon**

Doktori (PhD) értekezés

Tóth Ágnes

Gödöllő

2013

A doktori iskola

megnevezése: Növénytudományi Doktori Iskola
tudományága: Növénytermesztési és kertészeti tudományok
vezetője: Dr. Helyes Lajos
egyetemi tanár, az MTA doktora
Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Kertészeti Technológiai Intézet

Témavezető: Dr. Kiss József
egyetemi tanár, intézetigazgató, PhD
Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Növényvédelmi Intézet

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	5
1.1. A téma aktualitása, jelentősége.....	5
1.2. Célkitűzések.....	7
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	9
2.1. A <i>Bursaphelenchus</i> -fajok jellemzése.....	9
2.1.1. A <i>Bursaphelenchus</i> -genus rendszertani besorolása és fajspektruma.....	9
2.1.2. A <i>Bursaphelenchus</i> -fajok földrajzi elterjedése.....	12
2.1.3. A <i>Bursaphelenchus</i> -fajok biológiája.....	17
2.2. A <i>Bursaphelenchus</i> -fajok azonosítása molekuláris módszerekkel	31
2.3. A <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> jelentősége.....	34
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	39
3.1. A <i>Bursaphelenchus</i> -fajok és rovarterjesztőik felvételezési módszerei.....	39
3.2. A <i>Bursaphelenchus</i> -fajok laboratóriumi kimutatása és fenntartása.....	43
3.3. Az európai <i>Bursaphelenchus</i> -fajok alaktani bélyegei és azonosításának módszerei.....	44
4. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK	55
4.1. A magyarországi fenyvesekben felderített <i>Bursaphelenchus</i> -fajok azonosítása	55
4.1.1. A morfológiai határozás eredménye	55
4.1.2. A molekuláris azonosítás eredménye.....	66
4.2. A különböző molekuláris eljárások adaptálása és összehasonlítása	70
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	73
5.1. Az alkalmazott magyarországi felderítés.....	73
5.2. Az azonosítási módszerek alkalmazhatósága és megbízhatósága	74
5.3. Javaslatok.....	75
6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	77
7. ÖSSZEFOGLALÁS	79
8. SUMMARY	81
9. MELLÉKLETEK	83
M1. Irodalomjegyzék	83
M2. A szakirodalomban 2013 évig leírt <i>Bursaphelenchus</i> -fajok jegyzéke	110
M3. A fenyőféléken előforduló európai <i>Bursaphelenchus</i> -fajok, azok ismert elterjedési területe, tápnövényei és vektor rovarai (Braasch 2001).....	116
M4. A <i>Bursaphelenchus</i> -fajok természetes vektorai és tápnövényei (Ryss et al. 2005)	120

M5. Táptalajok, tartósító- és tápoldatok, antibiotikumok, baktérium törzsek, pufferek.....	131
M6. Publikációk jegyzéke.....	133
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	135

1. BEVEZETÉS

1.1. A téma aktualitása, jelentősége

A fenyőrontó fonálféreg, *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner és Buhner, 1934) Nickle, 1970 a tűlevelű növények hirtelen fenyőhervadás betegségének okozója (Kiyohara és Tokushige 1971), azonban képes fennmaradni élő fákban is. A *B. xylophilus* életmódja sajátos, életciklusa és terjedése szoros összefüggésben van rovarokkal, elsősorban a *Monochamus*-fajokkal (COLEOPTERA: Cerambycidae), amelyek a fenyőrontó fonálféreg terjesztő vektorai tűlevelű tápnövényeken.

Világszerte a *B. xylophilus* tekinthető az egyik legjelentősebb károsítónak az erdei ökoszisztémákban. Magyarország területén jelenleg nem fordul elő.

A súlyos környezeti és gazdasági következményeket előidéző kártevőt és néhány terjesztő vektor rovarát az EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization, Európai és Földközi-tenger Melléki Növényvédelmi Szervezet) 1985-ben, mint nagyon magas kockázatú károsítót vette fel zárlati listájára. A fenti regionális növény-egészségügyi szervezet besorolása szerint az EPPO-régióban előfordul, de nem terjedt el széles körben, és felderítését a nemzeti növényegészségügyi hatóságok végzik. Az EPPO Tanács 2010 szeptemberében a zárlati A1 listáról az A2 listára helyezte át, ugyanis a fenyőrontó fonálféreg az EPPO-régióban helyenként már jelen van. A károsító bekerülése, megtelepedése és terjedése ellen védekezési irányelv érvényes az Európai Unió (EU) teljes területén. A tagországok jogalkotásában zárlati növény-egészségügyi státuszú, így Magyarországon is annak minősül. A 7/2001. (I.17.) FVM rendelet 2. melléklete szerint a *B. xylophilus* Magyarországra behurcolása és terjedésének elősegítése tilos, ha meghatározott növényeken vagy növényi termékeken előfordul.

Az Európai Bizottság kutatási keretéből támogatott DAISIE (Delivering Alien Invasive Species Inventories for Europe) program az Invazív idegen fajok európai jegyzékét ismerteti. Az adatbázis a fenyőrontó fonálférget a biodiverzitásra, a gazdaságra és az egészségügyre legrosszabb hatású, azaz „a 100 legrosszabb” (100 of the Worst) besorolású fajlistán szerepelteti, mint az európai diverzitásra potenciális veszélyt jelentő fajt (DAISIE 2012).

Az Észak-Amerikában endemikus és ott kártételt nem okozó, általánosan elterjedt fonálférget a XX. század elején import amerikai fa- és fűrészáru szállítmányokkal Japánba is behurcolták, ahol gyors elterjedésének következményeként az egyik legjelentősebb erdőkárosítónak vált, katasztrofális pusztítást okozva az érzékeny, őshonos japán fenyőfajokon (Yano 1913; Nickle et al. 1981; Mamiya 1983). A kezeletlen, fertőzött faanyagok nemzetközi kereskedelmével a *B. xylophilus* Japánból Kelet-Ázsiába és Nyugat-Európába is eljutott és megtelepedett.

Az őshonos elterjedési területeket kivéve, világszerte e fonálféreg az egyik legfontosabb károsítója a fenyőknek és egyéb tűlevelűeknek, mivel a fertőzött, fogékony tápnövények elpusztulnak (Kobayashi et al. 1984; Kishi 1995; Evans et al. 1996).

Az első beszámoló a *B. xylophilus* európai előfordulásáról Portugáliából, 1999-ből származik (Mota et al. 1999), majd 2008-ban Spanyolország jelentette (Anonymous 2008), hogy a portugál határ mellett fenyőrontó fonálférget azonosítottak. A *B. xylophilus* további megtelepedése e doktori értekezés lezárásáig (2013 augusztusáig) nem ismert Európában. Azokon a területeken adott betelepülésének veszélye, ahol a tűlevelű erdőkben a vektor rovarok előfordulnak.

A fenyőrontó fonálféreg európai észlelésétől kezdve az EU teljes területén szigorú növény-egészségügyi intézkedéseket vezettek be a fonálféreg és a vektor rovarainak felderítésére. A lehetséges *B. xylophilus* okozta kártétel mortalitási kockázatát több mint 50%-ra becsülik Dél-Európa fenyveseiben.

Magyarországon az elmúlt közel fél évszázadban, a biotikus eredetű erdőkárokhoz hasonlóan, az abiotikus károk is növekvő trendet mutatnak (Hirka és Csóka 2010). A legtöbb erdőkár, valamint kárláncolat kialakulása leggyakrabban a nagy területű, egykorú, monokultúra jellegű állományokra jellemző. A fenyő fafajcsoporttal borított összes terület 210 600 ha, amely a teljes faállomány 11,3 %-a (KSH 2011). Magyarországon a XIX. századtól telepítettek tűlevelű növényeket, valamint az 1970-es években egy újabb fenyőtelepítési programot hajtottak végre. A fenyőállomány mára előregedett, egészségi állapota megrendült, ökológiailag instabil (Koltay 2001), ezáltal fokozott érzékenységet mutat a fenyőrontó fonálféregfajokkal szemben is, bizonytalanná, kockázatosná téve az erdőgazdálkodás eredményességét a fenyvesekben. Nemzetgazdasági szinten is fontos, hogy a hazai fenyvesek növény-egészségügyi ellenőrzése – a folyamatosan csökkenő erdőfelület ellenére – a *B. xylophilus* és egyéb *Bursaphelenchus*-fajok, valamint a terjesztő rovarok jelenlétére is kiterjedjen. A fertőzöttségi eredmények ismerete, illetve a fonálféregfajok diagnosztikai kimutatási módszereinek adaptálása e zárlati károsító elleni eredményes védekezés végrehajtásához járulhat hozzá.

A *Bursaphelenchus*-genus azonosított fajszáma a világon eddig mintegy 110. Európában tűlevelűekből közel 40 fajt azonosítottak. A fajok morfológiailag rendkívül nagy hasonlóságot mutatnak. Emiatt faji szintű határozásuk nehéz, mégis szükséges. A számos, kártételt nem okozó faj között a *B. xylophilus* kétséget kizáró meghatározása az alapja a rendkívül költséges és az ökoszisztémára is komoly hatást gyakorló felszámolási intézkedéseknek.

A legtöbb faj fásszárú növényekben él – leggyakrabban tűlevelűben (*Coniferales*) – életmódjuk mikofág, csak néhány faj fitofág. A kimutatott fajok – a *B. xylophilus* kivételével – nem okoztak gazdaságilag jelentős kárt természetes környezetükben (Braasch 2001).

1.2. Célkitűzések

A hazai szakirodalmat áttekintve megállapítható, hogy a *B. xylophilus* potenciális gazdasági kártételt okozó zárlati károsító. A kártevő magyarországi helye, szerepe, lehetséges károsítási foka még nem ismert. Az egész országot érintő felderítése 2003 óta megvalósul, de ennek mennyisége és minősége a károsító veszélyességéhez és betelepülésének kockázatához mérve nem elégséges.

Kutatómunkám célkitűzései a következők voltak:

- Nemzetközi felderítési protokoll bevezetése Magyarországon.
- Laboratóriumi kimutatási módszerek adaptálása.
- A fonálférgek morfológiai és molekuláris biológiai identifikációjára való előkészítés módszereinek adaptálása.
- Új, vagy a hazai faunára nézve új *Bursaphelenchus*-fajok klasszikus morfológiai azonosítása fénymikroszkóppal és pásztázó elektronmikroszkóppal.
- Új, vagy a hazai faunára nézve új *Bursaphelenchus*-fajok molekuláris biológiai azonosítása.
- Javaslat a *B. xylophilus* diagnosztikájának pontosítására.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A *Bursaphelenchus*-fajok jellemzése

2.1.1. A *Bursaphelenchus*-genus rendszertani besorolása és fajspektruma

A *Bursaphelenchus*-genust Fuchs (1937) alapította, típusfaja a *B. piniperdae*. Hunt (1993) tanulmánya szerint a genus az *Aphelenchida* rend, *Aphelenchina* alrend, *Aphelenchoidea* főcsalád, *Parasitaphelenchidae* család tagja.

A *Nematoda* törzs és az *Aphelenchida* rend – ahová a *Bursaphelenchus*-genus is tartozik – taxonómiája napjainkban is jelentősen változik. A genus a molekuláris filogenetikai elemzések (Blaxter et al. 1998; De Ley és Blaxter 2002) alapján az *Aphelenchoidea* főcsalád, *Tylenchomorpha* alrendág (infraordo), *Rhabditida* rendbe sorolható. Azonban az új, filogenetikai alapú taxonómiai rendszer még nem teljes, ezért a Hunt (1993) által javasolt rendszer a széles körben elfogadott és használt rendszertani besorolás.

A *Bursaphelenchus xylophilus* rendszertani besorolása alapján az *Animalia* ország/regnum, *Nemathelminthes* törzs/phylum, *Nematoda* osztály/classis, *Secernentia* alosztály/subclassis, *Aphelenchida* rend/ordo, *Aphelenchina* alrend/subordo, *Aphelenchoidea* főcsalád/superfamilia, *Parasitaphelenchidae* család/familia, *Bursaphelenchinae* alcsalád/subfamilia, *Bursaphelenchus* nem/genus tagja (De Ley és Blaxter 2004).

Az *Aphelenchoidea* főcsaládba tartozó családok és nemek a következők (a fő táplálkozási módok feltüntetésével a családnevek után):

Order *Aphelenchida*

Superfamilia *Aphelenchoidea*

Familia *Aphelenchoididae*: mikofág, rovarparazita, növényparazita

Subfamilia *Aphelenchoidinae*

Genera *Aphelenchoides*, *Laimaphelenchus*, *Megadorus*, *Ruehmaphelenchus*,
Schistonchus, *Sheraphelenchus*, *Tylaphelenchus*

Subfamilia *Anomyctinae*

Genus *Anomyctus*

Familia *Seinuridae*: ragadozó

Subfamilia *Seinurinae*

Genera *Seinura*, *Aprutides*, *Papuaphelenchus*, *Paraseinura*

Familia *Ektaphelenchidae*: rovarparazita, mikofág (?)

Subfamilia *Ektaphelenchinae*

Genera *Ektaphelenchus*, *Cryptaphelenchus*, *Cryptaphelenchoides**,

Ektaphelenchoides

Familia *Acugutturidae*: rovarparazita

Subfamilia *Acugutturinae*

Genus *Acugutturus*

Subfamilia *Noctidonematodae*

Genera *Noctidonema*, *Vampyronema*

Familia *Parasitaphelenchidae*: rovarparazita, mikofág, növényparazita

Subfamilia *Parasitaphelenchinae*

Genus *Parasitaphelenchus*

Subfamilia *Bursaphelenchinae*

Genera ***Bursaphelenchus***, *Rhadinaphelenchus***

Familia *Entaphelenchidae*: rovarparazita, mikofág (?)

Subfamilia *Entaphelenchidae*

Genera *Entaphelenchus*, *Peraphelenchus*, *Praecocilenchus*, *Roveaphelenchus*

A szakirodalomban több szerző (Baujard 1989; Giblin-Davis et al. 1989; Yeates et al. 1993; Ryss et al. 2005; Ye et al. 2007; Hunt 2008) a *Cryptaphelenchoides** és *Rhadinaphelenchus*** genusokat az *Ektaphelenchus* és a *Bursaphelenchus* szinonímiájaként közlik, illetőleg az *Ektaphelenchidae* és *Entaphelenchidae* családok mikofág táplálkozási lehetőségét is említik, de a szerzők szerint az életmód még nem megerősített és elfogadott (?).

További taxonómiai munka szükséges a *Bursaphelenchus*-fajok bővülő morfológiai meghatározása, illetve a főcsaládba tartozó genusok átfedéseinek tisztázása érdekében.

A *B. xylophilus* és a *B. cocophilus* a genusnak két különösen veszélyes, zárlati státuszú faja. A *B. xylophilus* a hirtelen fenyőhervadás okozója Ázsiában, Amerikában és Európában, a *B. cocophilus* pedig a pálma-vörösgyűrűség betegséget okozza a Karibi-térségben. A *Bursaphelenchus*-fajok csoportosításával és leírásával foglalkozó tanulmányok közül meghatározó Andrassy (1958), Goodey (1960), Baker (1962), Nickle (1970), Nickle és mtsai (1981), Tarjan és Baéza-Aragon (1982), Baujard (1989), Hunt (1993), Braasch (2001), Ryss és mtsai (2005), Hunt (2008) taxonómiai munkája.

A károsító tudományos neve: *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner és Buhrer, 1934) Nickle, 1970. A károsító köznapi neve fenyőrontó fonálféreg, valamint Kiefernholznematode (de), Kiefernwelke (de), pine wilt disease (en), pine wood nematode (en), nematodo de la madera del pino (es), dépérissement des pins (fr), nématode des pins (fr), nématode du bois de pin (fr), nematode del pino (it), dennenhoutnematode (nl), nemátode-da-madeira-do-pinheiro (pt), сосновая древесная нематода (ru), сосновая стволовая нематода (ru), tallvedsnematod (se).

A károsító Bayer (EPPO) kódja: BURSXY.

Szinonim nevei: *Aphelenchoides xylophilus* (Steiner és Buhner, 1934) és *Bursaphelenchus lignicolus* (Mamiya és Kiyohara, 1972).

A *B. xylophilus*-t először Steiner és Buhner 1934-ben írta le az Amerikai Egyesült Államokban – 1929-ben, Louisiana államban izolált *Pinus palustris* növénymintából –, mint *Aphelenchoides xylophilus*-t. Ekkor még nem kapcsolták hozzá a fonálféreg okozta fenyőhervadás betegséget. Később, 1972-ben Mamiya és Kiyohara is leírta ugyanezt a fajt *Bursaphelenchus lignicolus* néven. A fonálféreg-tápnövény kapcsolat összefüggésének feltárásával a *B. lignicolus*-t Japánban a hirtelen fenyőpusztulás fő okozójaként határozták meg. A két faj közti szinonímiát 1981-ben Nickle és mtsai bizonyították. Az Amerikai Egyesült Államokban elhalt és kiszáradó fenyőfákban *Bursaphelenchus*-fajokat izoláltak. A fonálféreg-tápnövény asszociáció hasonlított a Japánból már publikált interakciókra. Taxonómiai kutatásaik alapján arra a következtetésre jutottak, hogy a japán és az amerikai fonálféreg-populáció valamennyi egyede *B. xylophilus*. Nickle még egy korábbi tanulmányában, 1970-ben az *Aphelenchoides xylophilus*-t a *Bursaphelenchus*-fajok közé helyezte át.

A fonálférget 1979-ben újra „felfedezték” Columbia városban (Missouri) kipusztult *Pinus nigra* növényből (Amerikai Egyesült Államokban egzóta) begyűjtött minta vizsgálatakor, amit a Japánban epidemikus járványt előidéző fenyőhervadás betegség okozójaként határoztak meg (Dropkin és Foudin 1979).

Az Észak-Amerikában már több mint ötven éve ismert *B. xylophilus* nem veszélyezteteti Kalifornia túlevelű növényeit. Ennek ellenére e földrészen is kutatásokat végeznek patogenezisének megismerése céljából (Holdeman 1980).

A Bursaphelenchus-genus fajspektruma

Az *Aphelenchoidea* főcsalád érvényes (valid) elnevezett (nominális) fajainak száma folyamatosan bővül. Hunt az 1993-ban megjelent monográfiájában 47 nominális fajt (a species inquirendae, species incertae sedis, species indeterminatae és nomina nuda fajokat kivéve) sorol a *Bursaphelenchus*-genusba. Hunt 2008-ban közlte e tanulmány kiegészített és felülvizsgált változatát az *Aphelenchoidea* (NEMATODA: Tylenchina) taxon fajairól, köztük 94 valid *Bursaphelenchus*-fajról.

A 2013-ig leírt fajok száma 108 (Braasch, Gu és Brandstetter, 2007b; Devdariani, 1974; Fang, Zhao és Zhuo, 2002; Gu, Braasch, Zhen, Burgermeister és Lin, 2008a; Gu, Zheng, Braasch és Burgermeister, 2008b; Hunt 2008; Kakulia, Devdariani és Maglakelidze, 1980; Kanzaki, Maehara, Aikawa, Masuya és Giblin-Davis, 2011; Kanzaki, Maehara, Aikawa és Matsumoto, 2012; Kanzaki, Maehara, Aikawa és Togashi, 2008c; Li, Trinh, Waeyenberge és Moens, 2008; Kanzaki, Giblin-

Davis, Cardoza, Ye, Raffa és Center, 2008b; Tomalak és Filipiak, 2011; Wang, Yu és Lin, 2005; Wang és Zhang, 2007).

A szakirodalomban 2013-ig leírt *Bursaphelenchus*-fajokat az **M2. melléklet** ismerteti.

2.1.2. A *Bursaphelenchus*-fajok földrajzi elterjedése

A *B. xylophilus* egy rendkívül pusztító hatású károsító (Pérez et al. 2008), amely komoly fenyegetettséget jelent az ázsiai – Korea (Kwon et al. 2011), Japán (Mabuhay és Nakagoshi 2012), Kína (Cheng et al. 1983) –, valamint az európai országok – Portugália (Mota et al. 1999) és Spanyolország (Abelleira et al. 2011) – túlevelű ökoszisztémáira.

Az első járványt 1905-ben Japánban írták le, ahol az 1970-es években – az északi körzetek kivételével – a fenyőhervadás betegség már elterjedt az egész országban (Mamiya 1988; Kishi 1995; Yoshimura et al. 1999). Az 1980-as években a járvány kiterjedt sok más ázsiai országra is, köztük Kína, Tajvan, Hongkong és Korea túlevelű erdőire. Koreában először 1988 végén publikálták a járványokat *Pinus densiflora* és *P. thunbergii* állományokból (Enda 1989). 2009-ig több mint 5000 ha túlevelű erdőterület károsodott Koreában (Kwon et al. 2011).

A *B. xylophilus* endemikus faj azokban az észak-amerikai fenyveseiben, ahol a nyári hónapok izotermája nagyobb 20 °C-nál (Rutherford et al. 1992). A fertőzött területeken július/augusztusban 22-23 °C a középhőmérséklet (Mota et al. 1999).

A legtöbb EPPO-régió éghajlati adottsága hasonló a fenyőrontó fonálféreg jelenlegi elterjedési területéhez, beleértve az őshonos észak-amerikai területek klímáját is, ahol azonban a környezeti körülmények, valamint az őshonos fenyők toleranciája általában nem teszi lehetővé a hervadás tünet megjelenését, a fonálféreg szaprofita fázisban marad (Evans et al. 1996). Valamennyi EPPO-ország területén található túlevelű erdő, így a kártétel egész Európát érintheti.

A *B. xylophilus* előfordulását és elterjedését több tényező befolyásolja, ideértve az időjárási viszonyokat, a vektor rovarok repülési képességét, a talaj eutrofizációját, a topográfiai körülményeket, a mikorrhiza kapcsolatokat, a tünetmentes, de betegséghordozó fákat és az emberi tevékenységet (Futai 2008).

A nem őshonos szárazföldi gerinctelenek közül 1296 faj telepedett meg 2009-ig Európában. Ez a legnagyobb számú károsító csoport, s ide tartozik a Portugáliába behurcolt, fenyőerdőkre komoly veszélyt jelentő *B. xylophilus* is (Roques et al. 2009). A legfontosabb belépési helyek, ahonnan a fonálféreg leggyorsabban elterjedhet, elsősorban Kelet- és Észak-Európában találhatók. A kutatók modellszámítása alapján az általuk vizsgálati terület (30°É-72°É hosszúsági fok, 25°NY-40°K szélességi fok, azaz egész Európa az Urál-hegységig) több mint 50%-án bekövetkezhet a fonálféreg elterjedése 2030-ig, ha Magyarországra, Szlovákiába, Oroszországra, Lengyelországra, Horvátországra, Svédországra vagy Németországra behurcolják (Robinet et al. 2011).

Az emberi tevékenység kulcsfontosságú szerepet játszik a *B. xylophilus* nagy távolságú szétterjedésében. A fenyőrontó fonálféreggel fertőzött új területek egy része közvetlenül a főutak, ipari és kereskedelmi területek 1 km-es távolságán belül található. Robinet és mtsai 2011-ben ezt a megközelítést alkalmazták a fenyőrontó fonálféreg olyan megjelenési pontjainak meghatározásakor, ahonnan a *B. xylophilus* leggyorsabban elterjedhet egész Európában.

A *Bursaphelenchus*-genus elsősorban az északi féltekén terjedt el, de néhány fajt (*B. africanus*, *B. cocophilus*) dél-afrikai *Pinus radiata* ültetvényből is közöltek (Braasch et al. 2007a).

A *B. xylophilus* jelenlétét (1. **ábra**) három kontinensről (Észak-Amerika, Ázsia, Európa) publikálták. Fő elterjedési területe Észak-Amerika és Kelet-Ázsia.



1. **ábra:** A *Bursaphelenchus xylophilus* földrajzi elterjedési térképe (EPPO 2013b).

A faj az amerikai kontinens három országában fordul elő. Széles körben meghonosodott Kanadában és az Amerikai Egyesült Államokban (Ryss et al. 2005; Sutherland 2008). Kanada kilenc tartománya és két területe fertőzött, ezek a következők: Alberta, British Columbia, Manitoba, New Brunswick, Newfoundland, Nova Scotia, Ontario, Québec, Saskatchewan államok és Northwest Territories, Yukon Territory. Az Amerikai Egyesült Államok 34 államában előfordul: Alabama, Arkansas, California, Connecticut, Delaware, Florida, Georgia, Illinois, Indiana, Iowa, Kansas, Kentucky, Louisiana, Maryland, Massachusetts, Michigan, Minnesota, Mississippi, Missouri, Nebraska, New Jersey, New York, North Carolina, Ohio, Oklahoma, Oregon, Pennsylvania, South Carolina, Tennessee, Texas, Vermont, Virginia, West Virginia, Wisconsin. Mexikó területén néhány helyen jelent meg (Dwinell 1993).

Az ázsiai földrész négy országából közölték a faj jelenlétét. Japán területének három nagy szigete és további kisebb szigetek fertőzöttek, ezek: Honshu, Kyushu, Ryukyu Archipelago, Shikoku. Japánban 2000-ben mintegy 580 000 ha fenyőerdőt nyilvánítottak fertőzöttnek, mely a teljes fenyőerdő-terület közel 28%-a (Mamiya 2004). Kínában korlátozott az előfordulása, ott az alábbi tartományokban jelent meg: Anhui, Guangdong, Hubei, Jiangsu, Shandong, Xianggang (Hong Kong), Zhejiang. Meghonosodott Tajvan területén és részlegesen Koreában is. Japánban Mamiya és Kiyohara (1972), Kínában Cheng és mtsai (1983), Tajvanban Tzean és Jan (1985) és Koreában Yi és mtsai (1989) számoltak be elsőként a faj előfordulásáról.

Európában jelenleg Portugáliában és Spanyolországban fordul elő (Mota et al. 1999; Fonseca et al. 2010; Abelleira et al. 2011; Robertson et al. 2011). Először 1999-ben Portugáliában azonosították, ahol elterjedése viszonylag kis területre korlátozódott, egy fontos tengeri kikötő közelében (Setúbal-félsziget), mintegy 50 km távolságra a portugál fővárostól, Lisszabontól. 2008-ban a portugáliai szárazföld középső és déli részén (Coimbra, Alentejo megye) is azonosították, valamint 2009 novemberében Madeira szigetén is megtalálták, megközelítőleg 1000 km-re délnyugatra a kontinentális portugál résztől (Fonseca et al. 2010). 2010-től a *B. xylophilus* jelenléte Portugália teljes területén bizonyított.

Újabb európai előfordulását 2008 novemberében Spanyolország jelentette, ahol a portugál határtól 20 km-re lévő Villanueva de la Sierra (Sierra de Dios Padre erdőség, Cáceres tartomány, Extrémadura autonóm közösség) környezetében, egyetlen *Pinus pinaster* fenyőből 2008 októberében gyűjtött mintából azonosította az illetékes növény-egészségügyi laboratórium (Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino 2008). A fertőzött terület 12,5 km-re volt a Montehermoso-i fafeldolgozó központtól, ahol korábban egy Portugáliából érkező faanyagból már kimutatták a károsítót. A *B. xylophilus*-t valószínűleg Kelet-Ázsiából hurcolták be Portugáliába tengeri útvonalon keresztül, ez a korábbi portugál gyarmat, Makaó kiürítésekor (1998) történnhetett (Anonymous 2008).

A fenyőrontó fonálféreg első spanyolországi azonosítási időpontjától a hatóságok rendszeres mintavételt végeztek a portugál határon és az ország teljes területén. Ennek következtében további *B. xylophilus* járványkitörési pontokat azonosítottak. 2010 szeptemberében egy újabb régióban, Galícia Pontevedra tartományában, As Neves erdőben, frissen elpusztult *Pinus pinaster*-ből származó mintából határozták meg. A fertőzés helyszíne 5,9 km-re fekszik a portugál határtól. 2012-ben pedig Extrémadura régió Cáceres tartományának újabb pontjáról, a Valverde del Fresno területén lévő Monte Barroco Toiriña pusztuló hegyi fenyveséből származó hatósági mintákból mutatták ki a károsítót. Ez a járványkitörési pont 595 m-re esik a portugál határtól. Spanyolország növény-egészségügyi státusza a *B. xylophilus* jelenlétét tekintve jelenleg átmeneti, a fertőzött területek felszámolás alatt vannak (CIRCA 2012).

2009-ben több ország jelentette az EU Növényegészségügyi Állandó Bizottságának (Standing Committee on Plant Health), hogy élő *B. xylophilus* egyedeket és vektor rovarokat azonosított a Portugáliából érkező faanyag-szállítmányokon és fa csomagolóanyagon. A fertőzött tételeket az illetékes ország növény-egészségügyi hatósága megsemmisítette.

A Magyarországon 2003-tól végzett hatósági felderítési vizsgálatokban (2003-2012 időszak) zárlati fenyőrontó fonálférget nem azonosítottak (Tóth és Elekes 2013).

A leírt *Bursaphelenchus*-fajok száma évről évre növekszik. A fajokat korábban főként Európából (Braasch 2000) és az Amerikai Egyesült Államokból írták le (Massey 1974), azonban a portugáliai *B. xylophilus*-kimutatás következtében a genus taxonómiájának gyakorlati és globális jelentősége világszerte átértékelődött. Így az ázsiai országokban – főként Kína, Thaiföld, Japán – az újonnan leírt fajok száma emelkedő tendenciát mutat. Ilyen például a *B. okinawaensis*, amit *Monochamus maruokai* cincérből izoláltak a Japánhoz tartozó csendes-óceáni Okinava-szigeten (Kanzaki et al. 2008c).

Az európai túlelvű erdőkben az ezredfordulóig előforduló *Bursaphelenchus*-fajok elterjedését és a fajok morfológiai összefüggéseit, valamint csoportosítását Braasch 2001-ben publikálta. Az addig leírt 28 faj földrajzi elterjedését, tápnövényeit és terjesztő vektorait Braasch szintén 2001-ben foglalta össze (**M3. melléklet**). Ryss és mtsai 2005-ben jelentették meg a *Bursaphelenchus*-fajok természetes vektorainak és tápnövényeinek listáját (**M4. melléklet**), valamint 2008-ban a *Bursaphelenchus*-genus fajcsoportok biogeográfiai régiók szerinti csoportosítását (**1. táblázat**).

1. táblázat: A *Bursaphelenchus*-fajcsoportok elterjedése (Ryss et al. 2008 alapján).

Terület	Fajcsoportok					
	<i>hunti</i>	<i>aberrans</i>	<i>eidmanni</i>	<i>borealis</i>	<i>xylophilus</i>	<i>piniperdae</i>
Indo-Malaya	0	1	0	0	1	1
Afrika	0	0	0	1	0	0
Dél-Amerika	1	0	1	0	0	0
Közép-Amerika és Karibi-térség	1	0	0	0	1	0
Észak-Amerika 1	1	1	0	0	0	0
Észak-Amerika 2	0	0	0	0	1	1
Nyugat-Európa	1	1	1	1	1	1
Kelet-Európa	0	1	1	1	1	1
Dél-Ázsia	1	1	0	0	1	1
Nyugat-Ázsia	0	1	1	0	1	1
Kelet-Ázsia	1	0	0	1	1	1
Észak-Ázsia	0	0	0	1	1	1

Megjegyzés: A fajcsoport (1) jelen van és (0) nincs jelen az adott területen. Észak-Amerikában feltételezhető, hogy két biogeográfiai régió volt: Észak-Amerika 1, Észak-Amerika 2.

A *Bursaphelenchus*-genus a Pangea szuperkontinens középső részén alakulhatott ki a kontinentális lemezek határfelületén (karbon földtörténeti időszak). A *hunti*-csoport feltehetően amerikai eredetű, a *xylophilus*-csoport a Pangea északi Laurázsia pajzsában (karbon időszak alatt) jelenhetett meg, a mai Kelet-Ázsia területén. A *B. xylophilus* vélhetően Észak-Amerikában fejlődött ki, majd később elterjedt és megtelepedett Kelet-Ázsia tűlevelű erdőiben az ott honos *Bursaphelenchus*-fajokhoz hasonlóan. Kelet-Ázsiában a *xylophilus*-csoport egyéb fajai, azok érzékeny tápnövényei és rovar vektorai terjedtek el (Ryss et al. 2008).

A közép-európai *Bursaphelenchus*-fauna fajspektrumában és előfordulási gyakoriságában eltér a mediterrán térségétől. Közép-Európában a leggyakoribb a *B. mucronatus*, Dél-Európában pedig a *B. sexdentati*, *B. leoni* és *B. teratospicularis*. Annak ellenére, hogy *B. leoni*-t és *B. teratospicularis*-t alkalmanként Közép-Európában is azonosították, ezek tipikus mediterrán fajoknak tekinthetők, mert ott széles körben elterjedtek és gyakori az előfordulásuk. A *B. sexdentati*-t egész Európából leírták, de gyakrabban számoltak be jelenlétéről Dél-Európában. A *B. mucronatus* ritka az igazi mediterrán térségben, ahol a *Bursaphelenchus*-fajok *Monochamus* vektorai nem annyira elterjedtek, mint a kontinens többi részén. Észak-Olaszországban Caroppo és mtsai (1998) a dél- és közép-európai *Bursaphelenchus*-fajok együttes előfordulását észlelték (Braasch 2001).

A *Bursaphelenchus*-genus legelterjedtebb fajai az európai tűlevelűekben a *B. mucronatus* és *sexdentati*-csoport bizonyos tagjai (Braasch et al. 2004b).

A *B. mucronatus* gyakori az európai fenyőerdőkben. Japánban is megtalálható (Mamiya és Enda 1972). Ryss és mtsai (2008) közleménye (**M4. melléklet**) alapján ismert, hogy a *B. mucronatus*-t *Abies*, *Larix*, *Picea*, *Pinus* tápnövényeken, valamint vektorait (*Monochamus alternatus*, *M. galloprovincialis*, *M. sutor*, *M. saltuarius*, *Arhopalus rusticus*, *Spondylis buprestoides*) az alábbi országokban azonosították: Ausztria, Bulgária, Finnország, Franciaország, Görögország, Japán, Kína, Korea, Lengyelország, Németország, Norvégia, Olaszország, Oroszország, Portugália, Spanyolország, Svédország, Tajvan, Thaiföld, Törökország, Ukrajna.

A *B. vallesianus*-t Európában először *Pinus sylvestris*-en észlelték Svájcban (Braasch et al. 2004b). A faj jelenlegi elterjedési területe Európában Csehország (Gaar et al. 2006), Németország, Görögország, Svájc, Románia (Calin et al. 2013), Ázsiában pedig Kína (Zhejiang) és Törökország (Akbulut et al. 2008).

Magyarországról (Sopron) származó mintákból Schauer-Blume és Sturhan 1989-ben *B. fraudulentus*-t határozott meg *Quercus petraea*-n, melynek izolátumát is felhasználták molekuláris filogenetikai vizsgálataikban. A *B. mucronatus* és *B. vallesianus* magyarországi jelenlétéről tűlevelű fajokon először Tóth és Elekes (2011) számolt be, akik 2009-ben *B. mucronatus*-t azonosítottak *P. sylvestris*, *P. nigra* fajokból, valamint *B. vallesianus*-t *P. nigra* növényből.

2.1.3. A *Bursaphelenchus*-fajok biológiája

A *Bursaphelenchus*-fajok tápnövényei

A fenyőféléken előforduló *Bursaphelenchus*-fajok tápnövényeit Braasch (2001), valamint Ryss és mtsai (2005) részletesen ismertetik. Braasch (2001) szerint a legtöbb *Bursaphelenchus*-faj csak sínylődő és/vagy elpusztult fában kolonizál; néhány faj azonban előfordulhat egészséges fában is életmódtól, táplálékforrástól és vektoroktól függően. A *Bursaphelenchus*-fajok számos tűlevelűn élnek (EPPO 2009a). A legtöbb fonálféregfajt *Pinus*-fajokból azonosították, amelyek a tűlevelűek legnagyobb hányadát adják Európában. Az összes ismert *Bursaphelenchus* mintegy 70%-a kötődik tűlevelűekhez, főleg *Pinus*-fajokhoz (Vieira et al. 2003; Braasch 2004). A *Bursaphelenchus* genusnak az *Abies*-, *Picea*- és *Larix*-nemzetség fajai is tápnövényei. Egy fonálféregfajt, a *B. teratospicularis*-t örökzöld ciprusból (*Cupressus sempervirens*) is kimutatták. Különböző *Bursaphelenchus*-fajokkal végzett inokulációs kísérletekkel megállapították, hogy további fafajokból (M3. mellékletben felsoroltakon kívüli növényfajok) is kimutatható túlélő *Bursaphelenchus*. Az európai faállományból a *Bursaphelenchus*-fajok (a *B. xylophilus* is) főként a *Pinus pinaster*, *P. sylvestris* és a *P. nigra* növényeket veszélyeztetik. A *B. xylophilus*-t Portugáliában eddig egyedül *P. pinaster*-ből azonosították.

A *B. xylophilus* tápnövényei: *P. bungeana*, *P. densiflora*, *P. luchuensis*, *P. massoniana*, *P. mugo* – az előbb említett *P. nigra*, *P. pinaster*, *P. sylvestris* – *P. thunbergii*, *Abies* sp., *Cedrus* sp., *Larix* sp., *Picea* sp., *Pseudotsuga* sp., *Tsuga* sp. (Braasch 1983; EPPO 2013a). Több *Bursaphelenchus*-faj is előfordulhat egy növényben. Caroppo és mtsai (1998) egy olaszországi *P. pinaster* fából négy fajt (*B. leoni*, *B. mucronatus*, *B. teratospicularis* és *B. sexdentati*) izoláltak. A 2006/133/EK bizottsági határozat és az azt hatályon kívül helyező 2012/535/EU bizottsági végrehajtási határozat szerint a fenyőrontó fonálféregre fogékony növények az *Abies*-, *Cedrus*-, *Larix*-, *Picea*-, *Pinus*-, *Pseudotsuga*-fajok (a termések és a magok kivételével). Fogékony faanyagnak és fakéregnek minősül a tűlevelűek faanyaga és hántolt fakérge, a *Taxus* és *Thuja* kivételével. A *Thuja plicata* nem fogékony a *Monochamus* betelepedésére és így a fonálféreg bejutása kizárt.

Az EPPO Diagnosztikai Protokoll (EPPO 2009b) szerint a *Pinus*-fajok a legérzékenyebbek a fenyőrontó fonálféreg fertőzésre, de az *Abies*-, *Chamaecyparis*-, *Cedrus*-, *Larix*-, *Picea*- és *Pseudotsuga*-fajok is megfelelő tápnövények a fonálféreg szaprofita életszakaszában. Az EPPO-régió északi és középső területein a *P. sylvestris* a leginkább veszélyeztetett faj, míg a *P. nigra* és *P. pinaster* a régió déli és középső területein a leginkább fenyegetett tápnövény.

A *B. xylophilus* főként *Pinus*-fajokban él, mert valamennyi *Pinus*-faj élettelen fája táplálékforrásként szolgál a kifejlődéséhez. Ugyanakkor csak az alábbi fafajokat képes lábon álló élő faként megfertőzni és elpusztítani természetes körülmények között: *P. bungeana*, *P. densiflora*,

P. luchuensis, *P. massoniana* és *P. thunbergii* (Távol-Keleten őshonos), az európai *P. nigra* és *P. sylvestris* (Észak-Amerikában betelepített), valamint a *P. pinaster* (Portugáliába és Kínába betelepített) (Duncan és Moens 2006). Sok egyéb fafajról is publikálták, hogy a fenyőrontó fonálféreg elpusztította, azonban e kártétel csak üvegházi körülmények között, elsősorban magról nevelt, mesterségesen fertőzött növényeknél bizonyított (McNamara 2004). A tűlevelű tápnövények közül a *Larix*-, *Abies*- és *Picea*-fajok károsításáról kevesebb közlemény tudósít. Néhány esetben az USA-ban számoltak be fenyőrontó fonálféreg fertőzés következtében kipusztult *Picea pungens* és *Pseudotsuga menziesii* egyedekről is (Malek és Appleby 1984).

A toboztermő fajok közül a fenyőrontó fonálféregnek tápnövényei a *Cedrus*- (pl. *Cedrus libani* ssp. *atlantica*, *C. deodora*), *Larix*- (pl. *Larix decidua*, *L. laricina*) és *Abies*-fajok (pl. *Abies balsamea*), amelyekről leírták, hogy a *B. xylophilus* kipusztította azokat (Robbins 1982; Bowers et al. 1992).

Portugália és Spanyolország kezdeményezte a *Pinus pinea* levételét a fenyőrontó fonálféregre fogékony növényeinek listájáról, mert a *B. xylophilus* 1999-es portugáliai behurcolása óta nem észleltek fenyőrontó fonálféreg által károsított *P. pinea* növényeket.

Az EPPO/CABI 1996-ban publikálta a *B. xylophilus* és *Monochamus* vektorainak az EU területére vonatkozó károsító kockázatelemzését (pest risk analysis, PRA), amit 2009-ben korszerűsített (EPPO 2009c). Megállapították, hogy a *B. xylophilus* preferálja a *Pinus*-fajokat, de egyéb tűlevelűeket is képes megfertőzni, különösen az *Abies*-, *Picea*-, *Larix*-, *Cedrus*- és *Pseudotsuga*-nemzetségekbe tartozó fajokat. A *Monochamus* vektorok megtelepednek ezeken a növényeken és még néhány tűlevelűn (*Juniperus*-, *Chamaecyparis*-, *Cryptomeria*- és *Tsuga*-fajok), melyek így megfertőződhetnek. Sem a *Thuja*, sem a *Taxus* nem tápnövénye a *B. xylophilus*-nak és vektorainak.

Az Európai Bizottság 2011-ben felkérte az EFSA (European Food Safety Authority, Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság) növény-egészségügyi tudományos testületét, hogy készítsen egy tudományos állásfoglalást bizonyos tűlevelű fajokban (*Pinus pinea*) és nemzetségekben (*Chamaecyparis*, *Cryptomeria* és *Juniperus*) a *B. xylophilus* terjedésének növény-egészségügyi kockázatára vonatkozóan. Vizsgálták az említett növényeknek a *B. xylophilus* terjedésében betöltött szerepét a fertőzött növények, vagy kezeletlen növényi faanyagok kereskedelmi szállításán keresztül, valamint a fenyőrontó fonálféreg európai vektorfajokkal történő természetes terjedése esetén. A testület elemezte a portugáliai Troia-félszigeten végzett felmérésekről (Sousa et al. 2011b) benyújtott adatokat, ahol a *P. pinaster* és *P. pinea* együtt fordul elő, valamint vizsgálták a felmérésekhez kapcsolódó laboratóriumi eredményeket (Naves et al. 2006) a *Monochamus galloprovincialis* táplálkozási és tojáshelyválasztási preferenciájáról. A testület a szakirodalom átfogó felülvizsgálatát is elvégezte. A korlátozott számú adatból megállapították, hogy a *P. pinea*, *Chamaecyparis*-, *Cryptomeria*- és *Juniperus*-nemzetség növényei egyaránt sikeresen fenntartják a

Monochamus- és *B. xylophilus*-fajokat. A *Monochamus*-fajoknak ismert az érési táplálkozása és szaporodása – bár alacsony szinten – a *Chamaecyparis*-, *Cryptomeria*-, *Juniperus*-fajokon és valószínűsíthető a *P. pinea* növényen. A *B. xylophilus* átvihető ezekről a tápnövényekről és potenciálisan tovább terjedhet, ha a *Monochamus*-fajok szaporodása sikeres. A tanulmány további kutatást javasol a *B. xylophilus* ökológiájának és a fonálféreggel mesterségesen fertőzött fákban a fonálférgek túlélésének megismerése céljából. A rendelkezésre álló információk alapján a *Chamaecyparis*, *Cryptomeria* és *Juniperus* státusza a *Monochamus*-fajok és *B. xylophilus* fertőzése tekintetében alacsony fogékonyságú, valamint ezek a növények nem szenvednek hervadásos betegségben, és a *B. xylophilus* számára nem hatékony tápnövények. Azonban az lehetőség sem zárható ki, hogy a *B. xylophilus* szaprofita fázisában tünetmentes tápnövényként viselkednek. E növények, bizonyítékok hiányában, a fenyőrontó fonálféreg tápnövényének nem tekinthetők (EFSA 2012).

A hirtelen fenyőhervadás betegségre való fogékonyságot egyértelműen meg kell különböztetni *B. xylophilus* azon képességétől, hogy életciklusának mikofág szakaszában kolonizálódik az elpusztult fákban.

A *Bursaphelenchus*-fajok életmódja és egyedfejlődése

A *Bursaphelenchus*-genus alapítója (Fuchs, 1937) azokat a fonálférgeket sorolta e taxonba, amelyek kapcsolatban állnak rovarokkal és elpusztult vagy kiszáradó – elsősorban tűlevelű – növényekkel. A *Bursaphelenchus*-fajokról már sok éve ismert, hogy különböző élőhelyeken gombaevő szervezetekként vannak jelen. Számos fajtát és vektorát találták meg pusztuló, száradó, vagy már kipusztult tűlevelűben, néhány fajtát lombhullató fában (Fuchs, 1937; Rühm, 1956, 1960, 1964; Goodey, 1960; Baujard, 1980).

A legtöbb *Bursaphelenchus*-faj a fa rovarjárataiban lévő gombákon táplálkozik és a rovarok testére rátapadva, szállítóeszközként használja a rovarokat (ektoforézis). Ha csökken a tápanyag mennyisége, akkor számára kedvezőbb helyre viteti magát (Giblin 1985). A fajok entomofil és ekto-, ritkán endoforetikus fonálférgekként is ismertek (Hunt 1993, 2008; Giblin-Davis 1993).

Giblin-Davis és mtsai (2003) a rovarokkal szállított növényi fonálférgek evolúcióját tanulmányozták. A *Nematoda* törzsön belül sokszor alakul ki fonálféreg-rovartársulás, de ezekben a társulásokban növényparazitizmus csak a *Secernentia* alosztályhoz tartozó *Aphelenchida* és *Tylenchida* rend fajainál tapasztalható. A mikofágia az evolúció során valószínűleg fakultatív és obligát növényparazitizmushoz vezetett.

A *B. xylophilus* és *B. cocophilus* fajoknál a fonálféreg- és rovarpopuláció egyedeinek kapcsolatát Giblin-Davis (2004) a mutualizmus interakció-típusba sorolta. Az interakcióban megnyilvánuló előnyök Mamiya (1983), Giblin (1985), Giblin-Davis (1993) kutatásai szerint a

következők: a *B. xylophilus*-t a *Monochamus*-fajok, a *B. cocophilus*-t pedig a *Rhynchophorus palmarum* szállítja fáról-fára. A fonálféreg tápnövény-károsításukkal a vektorok szaporodására és terjedésére kedvező új költőhelyeket hoznak létre. Ez a két fonálféregfaj valószínűleg a rovarok által szállított mikofág ősekből fejlődött ki, és kifejlesztette azt a képességét, hogy növényeket parazitáljon, mivel képes volt arra, hogy táplálkozzék a tápnövény epithel sejtjeiben (Giblin-Davis et al. 2003).

Ismert, hogy növényi károsítók különböző stratégiákat fejlesztenek ki, amelyek lehetővé teszik számukra, hogy sikeresen megfertőzzék tápnövényeiket. A növényparazita fonálféreg ún. effektor fehérjét választanak ki a növényi sejtekben (Haegeman et al. 2012). Pektin-liáz enzimet mutattak ki *Bursaphelenchus*-fajokból is (Kikuchi et al. 2006), amely a sejt falon át a sejtbe történő bejutást segíti elő a pektin α -1,4-kötések hasításával.

Az *Aphelenchoidea* taxon érvényes fajainak száma 453, melyből 33 tartozik az *Aphelenchidae* és 420 pedig az *Aphelenchoididae* családba (Hunt 2008). Ez utóbbi családra jellemző genusok a következők: *Aphelenchoides* (153 faj), *Bursaphelenchus* (94 faj), *Seinura* (46 faj), *Cryptaphelenchus* (25 faj) és *Ektaphelenchus* (24 faj).

Az *Aphelenchoididae* 420 fajának mintegy 45%-ról leírták, hogy terjedésük rovarokhoz kötött, ekto- vagy ritkán endoforetikus. E fajok többségének legalább egy mikofág stádiuma van, bár vannak jelentős kivételek. Ezek az obligát fitoparazita életmódú fajok (pl. *B. cocophilus*, *Entaphelenchinae*- és *Schistonchus*-genus fajok). A trópusi és szubtrópusi területeken a tudomány számára eddig még nem leírt, főként rovarokhoz kötött életmódú fajok száma közel 1000.

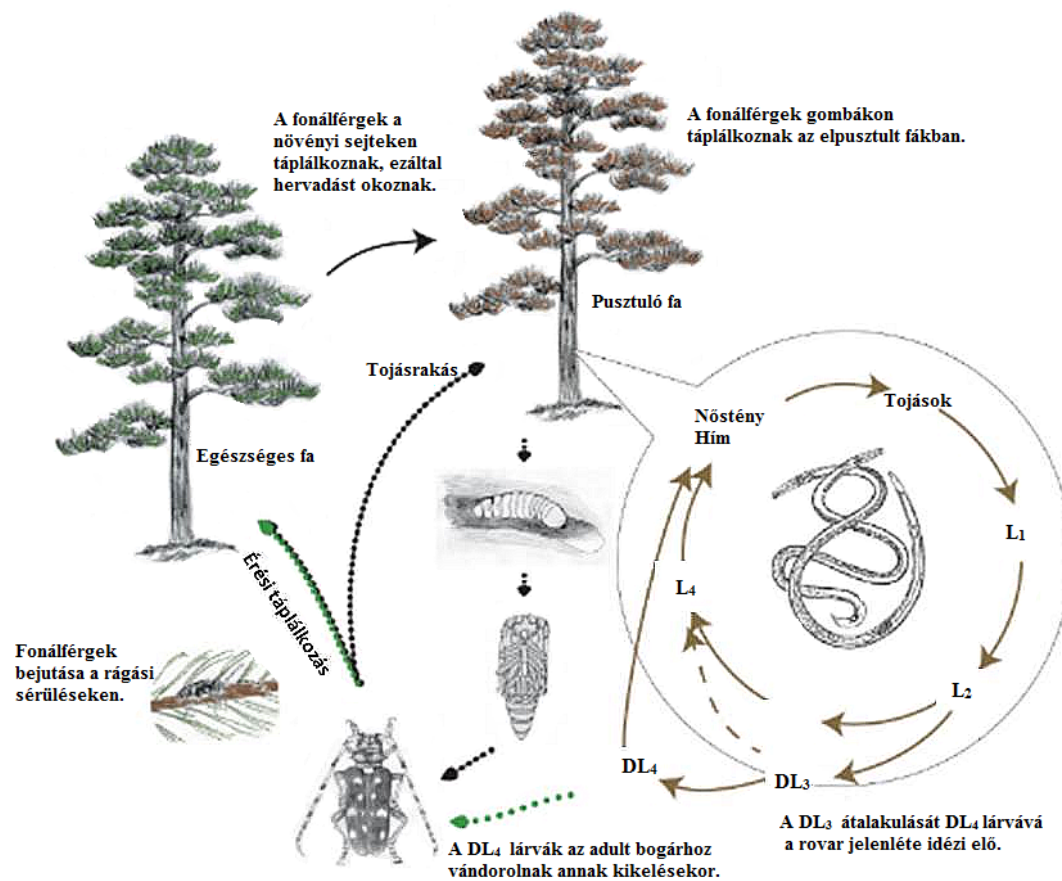
A *Bursaphelenchus*-genushoz 78 olyan mikofág vagy növényparazita faj tartozik, amely életciklusa fás szárú növényekkel (főként a *Pinaceae*-család fajai), rovarokkal (*Scolytidae*-, *Cerambycidae*-, *Curculionidae*- és *Buprestidae*-családba tartozó rovarok) és bazidiumos gombákkal van kapcsolatban (Ryss et al. 2008).

A Japánban előforduló *B. xylophilus* és *B. mucronatus* keresztezéséből létrejövő hibridek Mamiya (1986) szerint nem termékenyek. Francia kutatóknak (De Guiran és Boulbria 1986) azonban sikerült fertilis utódokat szaporítani franciaországi *B. mucronatus* és japán, valamint észak-amerikai *B. xylophilus* egyedek keresztezéséből, hasonlóképpen franciaországi és japán *B. mucronatus* egyedek egymás közötti szaporításával is. Ezen információk alapján De Guiran és Boulbria (1986) feltételezte, hogy a *B. xylophilus* és *B. mucronatus* "supra fajok", azaz közvetlenül vagy közvetve rendelkeznek a genetikai anyag kicserélésének képességével; patogenitásuk változó, a különböző intraspecifikus alakok földrajzi elterjedése kiterjedt, ezáltal rendszertani megkülönböztetésük bizonytalan. E fajokat a túlevelűekben élő, társult *Bursaphelenchus*-fajokkal együtt "fenyőrontó fonálféreg fajkomplexum"-nak nevezték el, amelynek angol rövidítése a PWNSC (pinewood nematode species complex) (Rutherford et al. 1990). A PWNSC-fajokhoz

sorolják a *B. mucronatus*-hoz morfológiailag hasonló *B. fraudulentus*-t is, azt feltételezve, hogy közös eredetűek, de e faj nem párosodik sem *B. mucronatus*, sem *B. xylophilus* egyedekkel.

A *B. xylophilus* kihasználja a *Monochamus*-fajok életciklusát, hogy új tápnövényekre juthasson. Az átvitelnek két útja van: új tápnövényekre átjutás a bogarak érési táplálkozásakor vagy azok tojásrakásakor (Wingfield 1987).

A *B. xylophilus* életciklusát, valamint a fertőzés és megbetegedés folyamatát a **2. ábra** szemlélteti (Mamiya 1983; Jones et al. 2008).



2. ábra: *A Bursaphelenchus xylophilus* életciklusa, valamint a fertőzés és megbetegedés folyamata (Mamiya 1983; Jones et al. 2008 alapján).

A fenyőrontó fonálféreg négy vedléssel fejlődik ki (L₁, L₂, L₃, L₄ lárvastádiumok és kifejlett egyed), a faszövetben szaporodik. A körülmények kedvezőtlené válásakor a *B. xylophilus* harmadik stádiumú lárvája kitartó, úgynevezett dauerlárvává alakul (DL₃). Amikor a vektor rovar imágójának jelenléte stimulálja, a dauerlárva negyedik stádiumú, szétszóródó, úgynevezett diszperzív lárvává alakul (DL₄). A kifejlett bogár megjelenésekor a fonálféreg a vektorokhoz jutnak és a szárnyfedők alatt vagy a légcsővekben megtelepednek. Így a rovarok egy további táplálékforrásra szállítják azokat. Az egészséges növények előzőnlése után a fonálféreg a

parenchima sejteken táplálkoznak, a szállítószöveteken keresztül vándorolnak és az egész fában szétterjednek. A fafajtól és a klimatikus körülményektől függően a fonálféreg szaporodása a fenyőhervadás betegség kialakulását eredményezheti. Ennek következtében a fa egy éven belül elpusztul. A növény pusztulásakor a *B. xylophilus* a fát károsító pl. *Ceratocystis*-, *Ophiostoma*-gombafajokon táplálkozik és gyorsan szaporodik. A sínylódó fa alkalmassá válik a vektorok tojásrakásához.

Miután a fonálférgekkel fertőzött bogár júniusban, illetve július elején elhagyja a bábkamrát, egy egészséges fa friss hajtásain egy hónapig érési táplálkozást folytat. A *B. xylophilus* lárvák a vektor érési táplálkozásakor hagyják el a rovar légzőnyílásait, és a bogarak táplálkozása során okozott rágási sérüléseken keresztül, a kéregszöveten áthatolva bejutnak a farészbe. Ezt az átviteli módot nevezik "*elsődleges átvitelnek*", mert a fogékony tápnövényben a primer fertőzést ez okozza. A fában néhány nap alatt kifejlett hím és nőstény fonálférgekké vedlenek. Ezután a fonálféreg – megfelelő körülmények között (25 °C feletti hőmérséklet) – gyorsan, biszexuálisan szaporodnak a gyantajaratokban, a kambiumban, a floemben és előzönlük a fa teljes gyantajarat-rendszerét, elárasztják az egész tápnövényt (Mamiya 1983). A juvenil szakasz dauer állapota nagyon fontos szerepet játszik a *B. xylophilus* okozta hirtelen fenyőhervadás betegség terjedésében. Ha a tápnövény élő sejtjei elpusztulnak, a fonálféreg átlép a mikofág fázisba és fennmarad, amíg gombaforrás rendelkezésre áll (Fukushige és Futai 1987; Wingfield 1987; Fukushige 1991; Warren et al. 1995; Maehara és Futai 1996, 2000).

Az érési táplálkozását befejező vektor rovar tojásait a száradó, pusztuló fa kéregrepedéseibe helyezi. A vektorok tojásrakásakor az egyéb okok miatt legyengült fák is megfertőződhetnek. Fűrészárun és kivágott növényi maradványon is előfordul a tojásrakás. A "*másodlagos átviteli módot*" először Wingfield publikálta (1983). Ekkor a *B. xylophilus* a *Monochamus* vektorok tojásrakásakor keletkezett sérülésen hatol be a fába. Ezt az átviteli módot a *B. mucronatus* (Schröder és Magnusson 1992) és *B. coccophilus* (Griffith 1987) esetén is igazolták. A tojásból kikelő cincér lárvák több hónapig fejlődnek, ősszel és télen közvetlenül a kéreg alatt táplálkoznak, majd befürjék magukat a farészbe és kora tavasszal bábozódnak. Sem a bábkamrában fejlődő rovarlárva, sem a báb nincs kapcsolatban a fonálférgekkel. Téltől kora tavaszig a fonálféreg a farészben vándorolnak, végül a bábbölcső mellett összegyűlnek, valószínűleg a báb által kibocsátott anyagok hatására. Ezek az L₃ stádiumú lárvák (kitartó alak) vastagabb kutikulával rendelkeznek, testükben lipidcseppek vannak, ezáltal ellenállnak a számukra kedvezőtlené váló körülményeknek. Kialakulásuk a körülmények kedvezőtlenebbé válása miatt következik be. A bábbölcső 1-2 mm-es körzetében felhalmozódnak, majd kora tavasszal L₄ állapotú lárvává fejlődnek. Az L₄ stádiumú lárvák nem rendelkeznek a táplálékfelvételhez szükséges szervekkel (szájszurony, nyelöcső és nyelöcsőmirigyek). Amikor a bogár a bábból kikel, a dauerlárva a rovar tracheájába és a

szárnyfedők alá (tor- és potrohszelvények közé) vándorol.

A lárva a bábbölcsőben található, kékülést okozó gombafajokkal is a vektorra juthat. Ekkor a fonálféreg a gomba hosszú nyakú peritéciumán gyülekeznek, majd rovarkeléskor átmásznak a bábbölcsőben lévő rovarra. A *Bursaphelenchus*-fajok fertőzése következtében a fenyő gyantaáramlása megszakad, így gyengül a fa szúfajok elleni védekezőképessége is. A szűbogarak hozzák magukkal a szíjács kékülését okozó gombafajokat, melyek a rovarra való jutáson kívül a fonálféreg táplálékaul is szolgálnak. A cincér májusban, júniusban fúrja ki magát a törzsből és egészséges növényre repül érési táplálkozás céljából. Ezzel egy új *Bursaphelenchus*-életciklus veszi kezdetét.

A *B. xylophilus* és a *Monochamus*-fajok kifejlődése is erősen függ a hőmérséklettől. A *B. xylophilus* gombakultúrán (*Botryotinia fuckeliana*, anamorf: *Botrytis cinerea*) tartható fenn laboratóriumi körülmények között. Életciklusa 15 °C-on 12 nap, 20 °C-on 6 nap, 30 °C-on 3 nap, ennél magasabb hőmérsékleten a fejlődés üteme pedig újra lassul (Futai 1980). Mamiya (1975c) szerint a *B. xylophilus* teljes életciklusa 25 °C-on 4 nap gombatáptalajon. Ezzel szemben Dwinell (1986) vizsgálatai alapján a fonálféreg-kifejlődéshez optimális a 35-40 °C-os faforgácshalom-hőmérséklet. A kikelés utáni negyedik napon kezdődik a tojásrakás, a tojások 26-32 óráig kelnek 25 °C-on. A sikeres kelési gyakoriság 25 °C és 30 °C-on magas: 95,7% és 100% (Hasegawa és Miwa 2008). Az egyedfejlődés hőmérsékleti küszöbértéke 9,5 °C gombatáptalajon (Mamiya 1975b; Tomminen 1993). A különböző éghajlati régiók populációinál eltérő a fejlődés hőmérsékleti tartománya és optimuma (Rutherford és Webster 1987).

Kedvező feltételek mellett (25 °C) a *B. xylophilus* teljes életciklusa a tojásból a kifejlett (adult) egyedé válásig 4-5 nap (Ishibashi és Kondo 1977; Mamiya 1984).

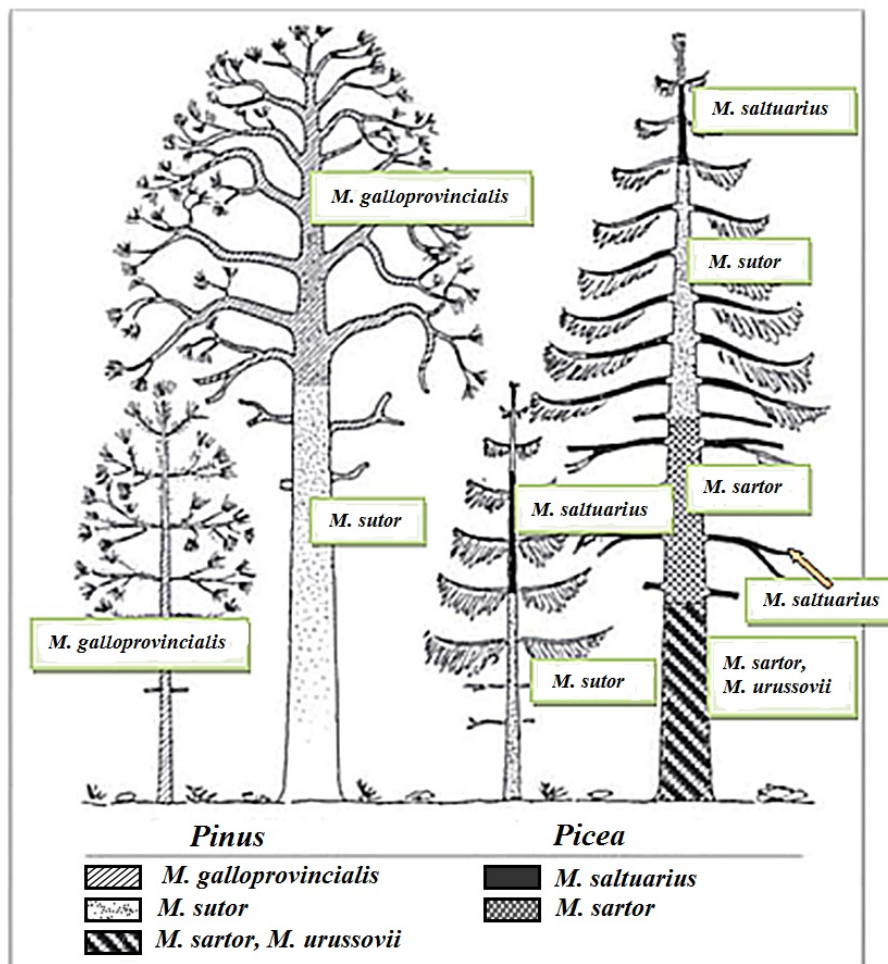
A *Bursaphelenchus*-fajok terjedése és vektor rovarai

A *B. xylophilus*-nak a fertőzött fából egy egészséges fába jutása elsősorban *Monochamus*-fajokkal történik. A rovarokkal történő fonálféreg-átvitel a vektorok érési táplálkozása vagy tojásrakása közben jöhet létre (Evans et al. 1996). A fonálféreg az egészségesnek látszó fákban a *Monochamus* érési táplálkozási helye köré csoportosulnak, illetve a gyengült vagy nemrég elpusztult növényekben a tojásrakási hely köré gyűlnek. A fenyőrontó fonálféreg, mint negyedik stádiumú diszperziós juvenil jut az új tápnövénybe.

A *B. xylophilus* a bogarak párosodásakor a hímből a nőtény bogárba juthat és fordítva (Arakawa és Togashi 2002; Lai 2008). Bizonyították, hogy az érési táplálkozáskor és a tojásrakáskor átjutott fonálféreg száma különböző, függ a vektorfajtól. Lai (2008) a fenyőrontó fonálféreg populációnak 87,5%-át azonosította a *M. alternatus* potrohából és szaporító rendszeréből, valamint megállapította, hogy a fonálféreg-átvitel fő útvonala a tojásrakás. Ezzel

szemben Naves és mtsai (2007) *Monochamus*-fajokkal végzett vizsgálatai szerint a legjelentősebb fonálféreg-továbbítás az imágók érési táplálkozásakor, életük első öt hetében történik.

Valamennyi európai *Monochamus* előnyben részesíti a fiziológiailag legyengült fákat a tojásrakáshoz. Rovarfajtól függően a tojásrakás helye különböző lehet, a korona vékony ágaitól a törzs alapi részéig. A *M. galloprovincialis* preferálja a vékony kérget, főleg a koronába helyezi tojásait, míg más fajok kevésbé következetesek a hely kiválasztásában. A **3. ábra** szemlélteti *Pinus*- és *Picea*-fajokon az európai *Monochamus*-fajok által kolonizált tápnövény-részeket. A bogarak többnyire egy tápnövényfajt részesítenek előnyben. A tápnövényválasztás a földrajzi helytől függően változhat, pl. a *M. sutor* általában a *Picea abies*-t választja, de az északi területeken a *Pinus sylvestris*-t. A vektorfajok élőhelyét tekintve is megfigyelhetők különbségek. Néhány faj, pl. a *M. sutor* a hegyvidéki területeket részesíti előnyben, egészen 1800 m tengerszint feletti magasságig, míg a *M. galloprovincialis* az alacsonyabb fekvésű területeket kedveli.



3. ábra: Az európai *Monochamus*-fajok (*M. galloprovincialis*, *M. saltuarius*, *M. sutor*, *M. sutor*, *M. urussovii*) kolonizációjában preferált tápnövény-részek (Hellrigl 1971; Schröder et al. 2009 alapján).

A fenyőrontó fonálféreg természetes terjedése vektor rovarok útján korlátozott (Braasch 2000). A fonálféreg és a vektoraik nemzetközi továbbterjedésének egyik oka a fertőzött faanyagok

és nem kezelt fa csomagolóanyagok szállítása (Evans et al. 1996). A szállítmányban előfordulhat a fonálféreg és annak vektora is. Japánból további ázsiai országokba (Kína, Korea, Tajvan) is behurcolták, ahol megtelepedése és elterjedése súlyos gazdasági károkat idézett elő (EPPO 1986). Európában mindenhol adott a *B. xylophilus* betelepülésének veszélye, ahol a tűlevelű erdőkben vektor rovarok előfordulnak. Észak-Európa 1980-tól tűlevelű fűrészárura és forgácsra importkorlátozásokat vezetett be, mert *B. xylophilus*-t azonosítottak Kanadából és az Amerikai Egyesült Államokból származó import fenyőforgácsban. Később ezeket a megszorításokat átvette az EU (Dwinell 1997).

Számos növény-egészségügyi intézkedést (a többször módosított 1976 december 21-i 77/93/EGK tanácsi irányelvet egységes szerkezetbe foglaló 2000/29/EK irányelv) vezettek be az EU-országok a *B. xylophilus* és vektorai fertőzött országokból történő behurcolásának és elterjedésének megelőzésére.

A *M. galloprovincialis* Európában széles körben elterjedt (kivéve az Egyesült Királyság, Írország és Ciprus). A Kaukázusban (Oroszország) is jelen van, valamint Észak-Afrikában, Kínában és Mongóliában is észlelték (Hellrigl 1971; Francardi és Pennacchio 1996). A *Monochamus*-fajok egészséges fáknak nem rakják le tojásaikat. A pusztuló vagy a nemrég elpusztult, illetve a frissen kivágott fákat preferálják (Linsley 1959; Hellrigl 1971; Linit 1987; Hanks 1999). A *B. xylophilus* portugáliai betelepítése előtt a *M. galloprovincialis*-t másodlagos erdei kártevőként tartották számon. Az európai előfordulású *Monochamus*-fajok biológiájáról, ökológiájáról az ezredfordulóig kevés tanulmány jelent meg. Hellrigl 1971-ben közölt erről adatokat.

Portugália kontinentális területén a fenyőrontó fonálféreg legfontosabb rovarterjesztője a *M. galloprovincialis* (Mota et al. 1999; Sousa et al. 2001, 2002; Naves et al. 2006, 2007). A 2012/535 EU végrehajtási határozat a *B. xylophilus* átvívó szervezetét és annak rajzási idejét a következők szerint határozza meg:

- A vektor: A *Monochamus*-nemhez tartozó bogarak.
- A vektor rajzási ideje: Az április 1-től október 31-ig tartó időszak, kivéve, ahol szakmai, tudományos okokból indokolt az ettől eltérő felderítési időtartam, figyelembe véve, hogy a valószínűnek tartott rajzási időszak elejéhez és végéhez biztonsági ráhagyásként további négy hét adható.

A PWNSC-fajok foretikus kapcsolatban állnak a vektor rovarokkal, főként *Monochamus*-fajokkal, s ezzel magyarázható a fonálféregfajok gyors terjedése fáról-fára. A *Monochamus*-fajok egymást átfedő elterjedési területei megtalálhatók Észak-Amerika (Linsley és Chemsak 1985), valamint Európa és Ázsia (Hellrigl 1971) erdős területein. Ez a körülmény számos lehetőséget ad a PWNSC-fajok genetikai állományának cseréjére. A *Monochamus*-genusnak földrajzi régióként eltérő fajai fordulnak elő, pl. a *M. alternatus* Japánban és Kínában, a *M. saltuarius* Japánban és Koreában, a *M.*

carolinensis, a *M. titillator* Észak-Amerikában, továbbá a *M. galloprovincialis* Európában (Mamiya és Enda 1972; Mamiya 1976; Linit et al. 1983; Luzzi et al. 1984; Sousa et al. 2001, 2002).

Napjainkban nem ismert a *Bursaphelenchus*-fajok és különböző rovertaxonok közötti összes társulás, de eddigi ismereteink szerint a legtöbb vektor rovar a *Scolytidae*-, *Cerambycidae*- és *Curculionidae*-családba tartozik (Braasch 2001; Ryss et al. 2005). A *Bursaphelenchus*-fajok fáról-fára átvitele kétféle: ektoforetikus, azaz a fonálférgek a rovar testére tapadva (légső környékén vagy a szárnyfedők alatt) terjednek, valamint endoforetikus, amikor a rovar szaporító szervében vagy keringési rendszerében tartózkodó fonálférgek kerülnek át másik tápnövényre. Így pl. a *B. abietinus* a *Pityokteines spinidens*, *P. curvidens* és *P. vorontzowi* szárnyfedői alatt (Braasch és Schmutzenhofer 2000), a *B. hylobianum* pedig a *Hylobius albosparsus* keringési rendszerében szállítódik (Korenchenko 1980). A *Cerambycidae* egyéb genusai (*Acalolepta*, *Acanthocinus*, *Amniscus*, *Arhopalus*, *Asemum*, *Corymbia*, *Neacanthocinus*, *Rhagium*, *Spondylis*, *Uraecha*, *Xylotrechus*) és más *Coleoptera*-fajok (pl. *Chrysobothris*, *Hylobius*, *Pissodes*) testén vagy testében is találtak *B. xylophilus*-t (EPPO/CABI 1996). A *Monochamus*-fajokban előforduló fenyőrontó fonálférgek egyedszáma rovaronként átlagosan 15 000, maximum 230 000 (Braasch 1983; Whitehead 1998). *M. saltuarius* imágókból közel 10 000 *B. xylophilus*-t izoláltak (Sato et al. 1987).

A *B. xylophilus* európai elterjedésű vektorai a következő bogárcsaládok fajai: *Cerambycidae* (*Monochamus galloprovincialis*, *M. saltuarius*, *M. sartor*, *M. sutor*, *M. urussovii*), *Scolytidae*, *Curculionidae*, *Buprestidae*-fajok.

Magyarországi túlevelűeken az alábbi cincérfajokat Kovács és Hegyessy (1995), valamint Kovács és mtsai (2000) közölték: *Ergates faber* (L., 1767), *Rhagium inquisitor* (L., 1758), *Corymbia rubra* (L., 1758), *Anastrangalia sanguinolenta* (L., 1761), *Leptura aurulenta* (Fabricius, 1792), *Stenurella melanura* (L., 1758), *Arhopalus rusticus* (L., 1758), *Asemum striatum* (L., 1758), *Tetropium gabrieli* (Weise, 1905), *Spondylis buprestoides* (L., 1758), *Molorchus minor* (L., 1758), *Semanotus undatus* (L., 1758), *Ropalopus macropus* (Germar, 1824), *Callidostola aenea* (De Geer, 1775), *Callidium violaceum* (L., 1758), *Monochamus galloprovincialis pistar* (Germar, 1818), *M. sutor* (L., 1758), *M. saltuarius* (Gebler, 1829), *Pityphilus decoratus* (Fairmaire, 1885), *Pityphilus fasciculatus* (De Geer, 1775), *Acanthocinus aedilis* (L., 1758), *Acanthocinus griseus* (Fabricius, 1792). Továbbá Kaszab (1971) a *Monochamus sartor* (Fabricius, 1787), *Tetropium fuscum* (Fabricius, 1787) és *T. castaneum* (L., 1758) előfordulását is ismertette.

A magyar hatósági laboratóriumok (Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉBIH), Növény-, Talaj- és Agrárkörnyezet-védelmi Igazgatóság (NTAI)) által meghatározott, *Bursaphelenchus*-fonálférgeket terjesztő rovarok a következők (EPPO/CABI 1996 nyomán): *Acanthocinus aedilis*, *A. griseus*, *Archopalus rusticus*, *Asemum striatum*, *Buprestis haemorrhoidalis*, *Cerambyx scopoli*, *Criocephalus rusticus*, *Dorcadion aethiops*, *D. pedestre*,

Hylobius abietis, *Hylotrupes bajulus*, *Lepturus rubra*, *Monochamus galloprovincialis* ssp. *pistor*, *M. sutor*, *Nivellia sanguinosa*, *Prionus coriarius*, *Rhagium bifasciatum*, *R. inquisitor*, *Rutpela maculata*, *Spondylis buprestoides*, *Strangalia melanura*, *Uleiota planata*.

A *B. xylophilus* képes vízjártyában mozogni, továbbá mesterséges közegben is, pl. az agarlemezen, valamint rövid távolságokat a fa felszínén is megtenni. A kifejlett *Monochamus* bogarakra felkúszik és lemászik (Bolla et al. 1989; Stamps és Linit 1998; Togashi és Arakawa 2003; Yamane et al. 2003). Kísérletekkel igazolták, hogy a *B. xylophilus* igen gyorsan átjut a fertőzött faanyagból az azzal érintkező szomszédos egészséges faanyagba kedvező körülmények között (25 °C, 70% feletti relatív páratartalom, valamint az átvevő fa nedvességtartalma a rosttelítettségi pont (átlagosan 30% fenyőknél) feletti) (Simpson és Barton 1991; Wiberg és Morén 1999; Berry és Roderick 2005).

Megállapították, hogy a *B. xylophilus*-t tartalmazó faanyag 40 hétig jelent átterjedési veszélyt, ha a fa nedvességtartalma 30% alatti (Sousa et al. 2011a). Ha a fonálféreggel fertőzött fa érintkezik olyan faanyaggal, aminek a nedvességtartalma meghaladja a 30%-ot, akkor a fonálféreg gyorsan átkerülhet a másik faanyagba. Ilyen esetekben a frissen fertőzött fatételben a kockázati időszak további 40 hétig is fennállhat. A kutatók arra a következtetésre jutottak, hogy a FAO ISPM 15 szabványnak (FAO 2002; 2009) megfelelő hőkezelésben vagy gázosításban részesült fa csomagolóanyag a fertőtlenítést követően – kedvező környezeti feltételek mellett – fenyőrontó fonálféreggel fertőzötté válhat. Ezért, ha *B. xylophilus*-t mutatnak ki a szabvány szerint jelölt fa csomagolóanyagban, az nem mindig tekinthető bizonyítéknak arra nézve, hogy a kezelés nem volt megfelelő, vagy azt nem hajtották végre. A faanyagok hőkezelése továbbra is hatékony módszer a *Monochamus* vektorok elpusztítására, mert ez az eljárás csökkenti annak a lehetőségét, hogy a fonálférgek fa csomagolóanyagokkal új területekre terjedjenek, még akkor is, ha a fa fenyőrontó fonálféreggel fertőződik a kezelés után.

A faanyag nedvességtartalmának fokozatos csökkenése befolyásolhatja a fonálféreg-túlélést, mivel csökkenti a rendelkezésre álló gomba-táplálékforrásokat.

A *B. xylophilus* világszerte gazdaságilag jelentős károsító az erdészet és a kapcsolódó iparágak számára, köztük a fa csomagolóanyag iparra, mégis nagyrészt ismeretlen a biológiája, ökológiája, hosszú távú életben maradása és fejlődése (Sousa et al. 2011b).

A *B. xylophilus* károsításának tünetei

A fenyőrontó fonálféreg kártétel hirtelen hervadással jellemezhető. A fertőzött növény általában 1-3 hónap alatt kiszárad. A fertőzés időrendi tünetei: a gyantafolyás jelentős csökkenése a sebekből, a transzspiráció csökkenése, illetve megszűnése a tűlevelekben, a tűlevelek hervadása, sárga, barna elszíneződése és végül a növény kiszáradása. Nagymértékű pusztulás augusztus

végétől várható, 30-50 nappal az első tünetek megjelenése után. Az egészséges tűlevelűeknél a gyantafolyás rövid idő alatt befedi a lehántott felületet, fonálféreg-fertőzéskor pedig nincs, vagy csökkent mértékű a gyantafolyás. Ezek a tünetek atipikusak, és más környezeti tényezők vagy egyéb patogének is kiválthatják. Nem ismert olyan megfigyelhető tünet, ami egyértelműen megkülönböztetné a fenyőrontó fonálféreg kártételét az egyéb okokból kialakuló pusztulás tüneteitől (Dwinell és Nickle 1989; Schröder et al. 2009).

Egy fertőzött növény mintegy 10 millió fenyőrontó fonálférget is tartalmazhat (Braasch 1983). A tápnövény kipusztulása után a *B. xylophilus* táplálékforrása különféle fakárosító gombákra cserélődik. A kipusztult fában lévő *Trichoderma*-fajok alkalmatlanok a *B. xylophilus* szaporodásához (Kobayashi et al. 1975).

A *Monochamus* vektorok jelenléte mellett számos további feltétel teljesülése szükséges ahhoz, hogy a betegség egy adott területen kialakuljon. Két fő kockázati tényezőt azonosítottak: a fogékony tápnövények jelenlétét és a megfelelő hőmérsékletet. A stresszes körülmények növelik a fák fogékonyságát és a kártétel kialakulásának kockázatát (Mamiya 1983; Ikeda 1996a,b).

Észak-amerikai és japán adatok alapján a hirtelen fenyőhervadás okozta fapusztulás bekövetkezése nagymértékben függ a nyári hőmérsékleti izotermáktól. A *B. xylophilus* jelentős károsítása azokon a területeken várható, ahol a júliusi, augusztusi középhőmérséklet a 20 °C-ot meghaladja (De Guiran 1990; Braasch és Enzian 2003). Azokon a területeken, ahol nyáron a középhőmérséklet 20 °C vagy annál alacsonyabb, nem jelentkezik a hervadás.

Észak-Amerikában (fogékony egzotikus fenyőkön) és Japánban a kártétel nem fordult elő fogékony növényeken, ha a legmelegebb hónap középhőmérséklete 20 °C-nál alacsonyabb, még akkor sem, ha a fonálféreg és a vektor jelen volt (Malek és Appleby 1984; Rutherford et al. 1990). A vízhiány magas hőmérséklettel párosulva növelte a fa fogékonyságát, és egyaránt kedvezett a *B. xylophilus* és vektora fejlődésének Japánban és Észak-Amerikában (Rutherford és Webster 1987).

Japánban a fapusztulás tünete erősebb, illetve a fertőzés terjedése is gyorsabb volt azokon a helyeken, ahol csapadék alig hullott, a hőmérséklet pedig 55 napon át magasabb volt, mint 25 °C (Takeshita et al. 1975). A nyári aszály gyorsította a terjedést, illetve a pusztulás mértéke is nőtt virulens *B. xylophilus* izolátummal végzett mesterséges fertőzéskor (Mamiya 1983).

A *B. xylophilus* fertőzése esetén megjelenhetnek a fenyőhervadás tünetei, de az is előfordulhat, hogy a tűlevelű egy bizonyos ideig tünetmentes marad (kísérleti eredmények szerint akár 14 évig is). Az ilyen látens fertőzés a fenyőrontó fonálféreg kulcsfontosságú biológiai sajátossága, s ez az egész EU-ra nézve meghatározó, még az Unió déli területein is, de kifejezetten az északra fekvő országokban (European Commission 2009).

Japánban a járványos hervadás feltétele a 24 °C feletti augusztusi középhőmérséklet. Ezért annak ellenére, hogy mind a *B. xylophilus*, mind a *Monochamus* elterjedt Japánban, a tengerszint

feletti magasság emelkedésével a hervadástünet mérséklődik (Rutherford et al. 1990).

A portugál Setúbal-félszigeten a *M. galloprovincialis* közreműködésével átvitt *B. xylophilus* megfertőzött és a fertőzést követően néhány hónap alatt kipusztított egy *P. pinaster*-t. A fertőzött területeken július, augusztusban 22-23 °C az átlagos középhőmérséklet (Mota et al. 1999.)

A fenyőhervadás komplex betegséget a rovarok, gombák, baktériumok és fonálférgnek együttes jelenléte váltja ki. Az időszakos szárazság és magas hőmérséklet által előidézett vízhiány-stressz a tápnövényekben fontos szerepet játszik a betegség kifejlődésében (Evans et al. 2008).

A *B. xylophilus* okozta fenyőhervadás kialakulásáról, patogenezisének mechanizmusáról több hipotézis ismert. Ilyen pl. a fitotoxinok okozta fenyőpusztulás; a fenyőfacellulázok celluláz hidrolizációja; a terpenoidok okozta üregesedés; a fenyő-vízoszloptörés. Sokáig úgy gondolták, hogy a fenyőrontó fonálféreg az egyedüli okozója a betegségnek (Mamiya 1975a,c; 1983; Nickle et al. 1981; Nobuchi et al. 1984; Myers 1988; Fukuda et al. 1992; Yang 2002), azaz a *B. xylophilus*-fertőzés hatására fitotoxinok, cellulázok termelődnek. A *B. xylophilus* invázió kiváltja a növény védekezését és stimulálja az üregekből a terpenoidok és etilének termelődését. Ezzel pedig vízoszloptörést és végül fenyőhervadást okoz. Több tanulmány szerint a fenyőhervadás betegség kialakulásában a fitotoxin-termelő baktériumok is rész vesznek (Zhao et al. 2003; Xie és Zhao 2008; Kwon et al. 2010; Wang et al. 2010). A baktériumok önmagukban nem képesek a betegség kiváltására (Zhao et al. 2003; Jones et al. 2008), azonban néhány kutató úgy gondolja, hogy mivel a baktériumok mind a növényen kívül, mind pedig azon belül előfordulnak, ezek szennyezők és nem patogének (Yang 2002). Az egymásnak ellentmondó tanulmányok, s az eltérő kísérleti adatok azt jelzik, hogy nincs egységes álláspont a baktériumok tényleges szerepéről a betegség kialakulásának összetett folyamatában. A legújabb kutatási eredmények alapján ismert, hogy léteznek fonálférgekhez kapcsolódó baktériumok, amelyek elsősorban toxinok kibocsátásával járulnak hozzá a fenyőhervadás betegség patogeneziséhez. Leggyakrabban a *Bacillus*-, *Pantoea*-, *Pseudomonas*- és *Xanthomonas*-nemzetség fajai fordulnak elő (Roriz et al. 2011).

Egészséges növényekben a vektorok érési táplálkozáskor megvalósuló *B. xylophilus*-átvitel okozhatja a fenyőhervadás kifejlődését. A bogarak által tojásrakási célra kiválasztott, legyengült vagy egyéb okokból elpusztult növényeket pedig a fenyőrontó fonálféreg már korábban megfertőzhette (Schröder és Magnusson 1992; Schröder et al. 2009).

A tojásrakás időszakában lejátszódó átvitelkor a fenyőrontó fonálférgnek viszonylag közel maradnak a belépési helyhez a növényben. Azonban amikor az átvitel az érési táplálkozáskor a fiatal hajtásokon keresztül megy végbe, illetve, ha a növény a fonálféreg miatt pusztul, a fonálférgnek szétterjednek az egész növényben (kivéve a tűleveleket és a tobozt), elpusztítják a fa szöveteit, a hámsejteket, az axiális és radiális gyantacsatornák parenchima sejtjeit, a kambiumot és a floémet, amely végül teljes fapusztuláshoz vezet. Több kutató arra az eredményre jutott, hogy

bizonyos körülmények között a fák semmilyen tünetet nem mutatnak, annak ellenére, hogy az érési táplálkozás ideje alatt a fonálféreg-fertőzés megtörtént a korábban egészséges növényekben. Az ilyen tünetmentes hordozó fák látenszen fertőzött növények (Futai 2003; Yang et al. 2003; Takeuchi és Futai, 2007; Futai és Takeuchi 2008). A környezeti tényezők és a tápnövény fiziológiai állapota fékezheti a populációfejlődést és növényi reakciót (Myers 1986). Ha a korona egyes részeiben a *B. xylophilus*-populáció előfordulása korlátozott, a növény a fertőzés utáni évben tünetmentes maradhat (Mamiya 2004), illetve tünetmentes lehet sok éven át, bár benne a fonálféreg életben vannak (Halik és Bergdahl 1994; Bergdahl és Halik 2003). A késleltetett tünetkifejlődés összefügghet a késői vegetációs időszakban bekövetkező fonálféreg-átvitellel.

A *Monochamus galloprovincialis* ssp. *pistor*, *M. sutor* és *M. sartor* egyedek Ausztriában szeptember végéig keltek és érési táplálkozást is végeztek. Feltételezve, hogy e bogarak is képesek a fonálféreg-átvitelre, a fák valószínűleg a következő vegetációs időszak előtt már megfertőződtek, mivel a növények élettani helyzete miatt a téli időszakban nincsen fertőzési tünet (Tomiczek és Hoyer-Tomiczek 2008).

A *B. xylophilus* megtalálható a fa gyökereiben is, s itt még még akkor is életben van a populáció, ha a fa már elpusztult, kiszáradt vagy kivágták. Az éghajlati viszonyoktól és a fakiszáradás sebességétől függően, fonálféreg a kipusztulást követő három évig mutatható ki a fenyőhervadás betegség miatt elpusztult fákból (Malek és Appleby 1984). A kivágott fa és vágási hulladéka órákon belül a rovarok tojásrakásához kedvező célponttá válik, s akár több hónapig is kedvező maradhat, a hőmérséklettől és a fa nedvességtartalmától függően. Ha a bogarak ezeken megtelepsznek, a fonálféreg-átjutás végbemegy. Ezért a *B. xylophilus* előfordulása vágási hulladékban, hasított faanyagban, szél törte fában jelezheti, hogy az ilyen növényi maradványok környezetében látenszen fertőzött növények fordulhatnak elő. Ez különösen fontos tény az olyan északi országokban, ahol a fenyőhervadás tünetek megjelenése nem várható (Wingfield 1983; Luzzi et al. 1984; Dwinell 1997).

A *Monochamus*-fajok kártételét az érési táplálkozáskor a fiatal hajtásokon jelentkező rágástünet, a rovarkifejlődés befejezésekor a 3 mm átmérőnél nagyobb kifurakodási nyílás jelzi a kéreg alatt. A jellegzetesen széles fejű pondró a kéreg alatt vagy az ovális lárvajáratokban található. Az imágó röpnílása kör alakú (EPPO/CABI 1996).

Az Észak-Amerikában őshonos *B. xylophilus* nem okoz jelentős mortalitást az ott honos tűlevelűeken (Linit 1988), hanem az egzótának számító európai fajokat, mint pl. a *P. sylvestris*-t pusztítja, jellemzően az USA melegebb déli területein és Kanadában (Dwinell és Nickle 1989). Ugyanakkor kártétele súlyos faveszteséget okozott Kína (Yang és Wang 1989), Japán (Kishi 1995), Tajvan (Tzean és Tang 1985), Korea (La et al. 1999) és Portugália (Mota et al. 1999) fenyveseiben. Japánban (Nagaszaki) a betegség első előfordulásáról először 1905-ben számoltak be (Yano 1913),

azonban a betegséget okozó ágenset nem tudták azonosítani egészen 1971-ig (Mamiya és Kiyohara 1972).

A *B. mucronatus* az Európában honos fenyőféléket nem károsítja. Ugyanakkor feltételezhetően veszélyt jelent az észak-amerikai tűlevelűekre, ha Európából (Oroszország) import faanyaggal behurcolják az Amerikai Egyesült Államokba (Braasch és Enzian 2003).

2.2. A *Bursaphelenchus*-fajok azonosítása molekuláris módszerekkel

A *Bursaphelenchus*-fajokat korábban kizárólag morfológiai bélyegek alapján különítették el (Tarjan és Baéza-Aragon 1982; Yin et al. 1988), noha az egymáshoz közelálló fajok nagyfokú fenotípusos hasonlóságot mutatnak. Ebből adódóan a fajok elkülönítése, kimutatása és meghatározása csupán morfológiai és morfometriai adatok alapján nem mindig lehetséges (Hunt 1993, 2008; Braasch 2001; Ryss et al. 2005; Giblin-Davis et al. 2006). A morfológiai jellemzők változékonysága és egymást átfedő mérettartományai miatt a *xylophilus*-csoport néhány tagjának fajszerű azonosítása nehézkes, köztük a gazdaságilag jelentős *B. xylophilus* és *B. mucronatus* fajoké is, ezért fehérje- és DNS-analízisen alapuló módszereket fejlesztettek a fajok azonosítására.

A molekuláris azonosítás egyaránt alkalmas élő és elpusztult fonálférgek kimutatására. A molekuláris technikákat ma már széles körben használják a *Bursaphelenchus*-fajok azonosítására (Hoyer et al. 1998; Kanzaki 2006, 2008; Ye et al. 2007).

Kezdetben a molekuláris diagnosztikai munka a *xylophilus*-csoport néhány fajának (*B. xylophilus*, *B. mucronatus*, *B. fraudulentus*) elkülönítésére irányult. A *B. xylophilus* és *B. mucronatus* izolátumok eltérő mértékű patogenitást mutatnak a különböző tűlevelű fajoknál. Tovább nehezíti a fajmeghatározást, hogy a kártételt okozó két *Bursaphelenchus*-fajnak több, morfológiailag csaknem azonos fajtársa is ismert, így például a *B. fraudulentus* és *B. sexdentati* (Braasch 2004). A pontos diagnosztikai munkát megnehezíti, hogy a molekuláris adatbázisban megtalálható információk néhány faj esetében igen hiányosak.

A *B. xylophilus* genomjáról ismert, hogy 74,56 Mb méretű, G+C tartalma közel 40% és legalább 18.074 gént kódol (Kikuchi et al. 2011).

Fehérje alapú módszerek

A *Bursaphelenchus*-fajok azonosítására és izolálására elsőként alkalmazott módszer a fehérje profilokon alapuló elválasztás (Hotchkin és Giblin 1984). Ilyen technika az enzimelektroforézis, mely elsősorban izoenzim-analízis (De Guiran et al. 1985).

A patogén és nem patogén PWNSC-izolátumok (Kiyohara és Bolla 1988) egymástól való elkülönítése patogenitási vizsgálatokkal és taxonómiai jellemzőkkel sok esetben nem kivitelezhető vagy megbízhatatlan eredményt ad. Sikerült néhány *Bursaphelenchus*-fajt egymástól

megkülönböztetni izoelektromos fókuszálás technikával (De Guiran et al. 1985). A fehérje alapú módszerek azonban csak korlátozott mértékben alkalmazhatók, mert a környezeti feltételek jelentős mértékben befolyásolják az enzimek expressziójának mértékét, ezáltal a kimutathatóságot (Harmey és Harmey 1993).

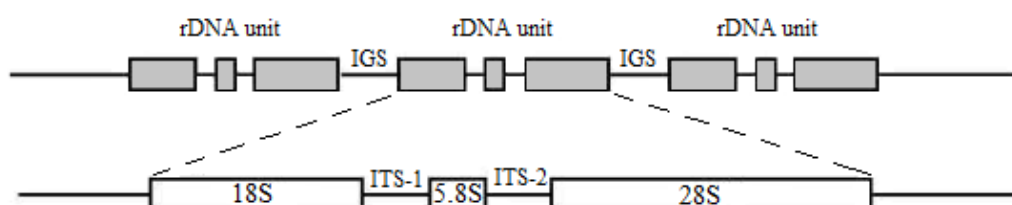
DNS-alapú módszerek

Napjainkban a DNS-alapú molekuláris eljárásokat már kiterjedten alkalmazzák a fonálféregfajok morfológiai meghatározásának kiegészítésére, megerősítésére, mivel az izoenzim módszernél gyorsabb és megbízhatóbb azonosítást tesznek lehetővé. A *Bursaphelenchus*-fajok genomi, riboszómális és mitokondriális DNS-elemzésével a faj specifikus és intraspecifikus csoportjainak az elválasztását is megpróbálták, több-kevesebb sikerrel (Curran et al. 1985; Williams et al. 1985; Kalinski és Huettel 1988).

A *B. xylophilus* DNS-alapú azonosításáról rendelkezünk a legtöbb információval, melynek egy része DNS-hibridizációs (Abad et al. 1991), túlnyomó többsége PCR-alapú vizsgálat (Harmey és Harmey 1993; Braasch et al. 1995, 1999; Hoyer et al. 1998; Iwahori et al. 1998; Mota et al. 1999; Zheng et al. 2003; Kang et al. 2004; Matsunaga és Togasi 2004; Burgermeister et al. 2005, 2009; Cao et al. 2005; Castagnone et al. 2005; Leal et al. 2005; Takeuchi et al. 2005; Castagnone-Sereno et al. 2008). A DNS-hibridizációs módszerek használhatósága korlátozott, mert nagy mennyiségű tisztított DNS szükséges a fajok azonosításához, valamint bonyolult és költséges technika szükséges ahhoz, hogy a fonálféregminta-vizsgálatok rutin módszerévé váljon.

A PCR-alapú módszerek fejlesztése elősegítette több olyan molekuláris módszer (RAPD-PCR, specifikus genomi régiók vizsgálata) kialakítását, amelyekhez már kis mennyiségű DNS is elegendő, és felhasználható a *Bursaphelenchus*-genus inter- és intraspecifikus változatainak azonosításában és filogenetikai elemzésében is. A fenyőrontó fonálféreg mennyiségi kimutatására a real-time PCR-en alapuló TaqMan módszert is használják (François et al. 2007).

A PCR-technikára épülő taxonómiai besorolás alapja a riboszómális DNS (rDNS) szekvencia analízise, amely régió génjei nagy kópiaszámban vannak jelen és egyaránt tartalmaznak konzervatív, illetve variábilis részeket (**4. ábra**).



4. ábra: A riboszómális gének elhelyezkedése (Reddy et al. 2005).

A PCR-módszerrel nyert azonos méretű amplifikátumok további vizsgálatára többféle eljárás alkalmazható. A molekuláris vizsgálatok túlnyomó része a specifikus genomiális DNS-régiók analízisén alapul. Ilyen jellegzetes szakasz a rDNS géncsalád, amely állatokban mintegy 100-500 kópiában fordul elő, és a 28S, az 5.8S, valamint a 18S riboszómális komponenseket kódolja. Az eukarióták túlnyomó többségében a géncsalád felépítése 5'-tól 3'-ig a következő: NTS (Non-transcribed Spacer), ETS (External Transcribed Spacer); a 18S gén; ITS-1 (Internal Transcribed Spacer), 5.8S gén; ITS-2; 28S gén és az IGS (Intergenic Spacer). Az IGS-régió után egy másik géncsalád-másolat következik (Gerbi 1985). Az ITS változékony régiói lehetőséget teremtenek az alacsonyabb taxonómiai szintek (genus, faj, fajon belüli törzsek) elkülönítésére.

Az ITS-régiók méretbeli különbözősége a növényparazita fonálférgek gyors elkülönítését teszi lehetővé, noha az említett szakaszok hosszúságának megállapítása önmagában nem elegendő ahhoz, hogy különbséget tudjunk tenni egy genuson belül. A fajok meghatározásához így elengedhetetlen a PCR-amplifikátumok RFLP-analízise (Restriction Fragment Length Polymorphism). A következő *Bursaphelenchus*-fajok PCR-RFLP-analíziséről számoltak be: *B. xylophilus*, *B. mucronatus*, *B. fraudulentus*, *B. leoni*, *B. sexdentati*, *B. poligraphi*, *B. borealis*, *B. fungivorus*, *B. eggersi*, *B. hoffmanni*, *B. hellenicus* (Hoyer et al. 1998; Iwahori et al. 1998; Braasch et al. 1999). Továbbá meghatározták a fajspecifikus ITS-RFLP mintázatokat a *B. abruptus*, *B. seani*, *B. nitidus*, *B. abietinus*, *B. pinophilus*, *B. hylobianum* és *B. tusci* fajokra (Metge és Burgermeister 2004). Ezzel az eljárással lehetővé vált több *Bursaphelenchus*-faj elkülönítése (Ferris et al. 1993; Vrain 1993; Zijlstra et al. 1995; Jones et al. 1997).

A fajspecifikus ITS-RFLP referencia-mintázatokat ugyanazon öt restrikciós enzim segítségével hozták létre 11 *Bursaphelenchus*-faj esetében (Braasch et al. 1999), majd 26 fajra bővítették 2005-ben, valamint két *B. mucronatus* intraspecifikus típus azonosítása is elvégezhető a mintázat alapján (Burgermeister et al. 2005).

Az amplifikált ITS-régiók öt restrikciós endonukleáz enzimmel (*RsaI*, *HaeIII*, *MspI*, *HinfI*, *AluI*) történő emésztése után kapott kép elemzése alkalmas a *Bursaphelenchus*-fajok azonosítására és az új fajleírások igazolására (Burgermeister et al. 2005, 2009; Giblin-Davis et al. 2005; Peñas et al. 2006). A *B. xylophilus* specifikus azonosításának megvalósításához a kutatók az ITS-szekvenciák alapján specifikus primer párokat terveztek, ezután pedig standard PCR (Kang et al. 2004; Li et al. 2004; Leal et al. 2005), vagy kombinált PCR-technikákat alkalmaztak, mint például a PCR-SSCP (Zhang et al. 2001), a duplex-PCR (Zhao et al. 2004; Matsunaga és Togashi 2004), a nested-PCR (Takeuchi et al. 2005) és a valós idejű PCR (Cao et al. 2005; Leal et al. 2007), illetve ezek kombinációját.

A különböző földrajzi eredetű izolátumok közötti rokonsági kapcsolatok értékelésére az rDNS ITS-régiók szekvenciáját is használják (Iwahori et al. 1998; Beckenbach et al. 1999; Kanzaki és Futai 2002; Metge és Burgermeister 2006; Lange et al. 2007).

Webster és mtsai 1990-ben génpecifikus DNS-próbát terveztek (pBx6 és pBm4), amelyeket dot-blot hibridizációs és RFLP-vizsgálatokban alkalmaztak. A *B. xylophilus*-ra és *B. mucronatus*-ra specifikus próbák segítségével sikerült – RFLP-t követő hibridizációs módszerrel – a fenyőrontó fonálféreg-fajkomplexum különböző *Bursaphelenchus*-fajainak elkülönítése.

Az RFLP-analízist követően egy, a *B. xylophilus* klónozásából származó, ismétlődő DNS-szakaszt (X14) alkalmaztak izolátumspecifikus DNS-ujjlenyomat (DNA fingerprints) előállítására céljából (Harmey és Harmey 1993). A tűlevelűekben élő növényparazita fonálféregfajok érzékeny és specifikus elkülönítésének alapját egy *B. xylophilus*-specifikus, klónozott szatellit-DNS szolgáltatja, amelyet dot-blot hibridizációs technikában és polimeráz láncreakción alapuló eljárásban alkalmaztak (Tarès et al. 1993, 1994).

Az ITS-RFLP-analízis jól használható eszköz a *B. xylophilus* lehetséges jelenlétének meghatározására mind a zárlati védekezésekben az import faanyag (Gu et al. 2006), mind pedig a nemzeti felderítésekben származó erdészeti faminták vizsgálatakor is (Mota et al. 1999; Polomski et al. 2006; Schönfeld et al. 2006). A fajok morfológiai jellemzésének kiegészítése céljából az újabb fajleírásokban már azonosítási feltételként beépítik az ismert ITS-RFLP adatokat.

2.3. A *Bursaphelenchus xylophilus* jelentősége

A *B. xylophilus* észak-amerikai őshazájában az ott honos fenyőféléken nem számít károsítónak, ám más földrészekben, ahová a faáru-kereskedelemmel behurcolták, jelentős kártevő és sikeres invazív növényparazita a tűlevelű növényekben (Schröder et al. 2009).

A fenyőrontó fonálféreg okozta betegség sok éven át járványszerűen terjedt Japánban, Kínában és a szomszédos ázsiai országok fenyveseiben, így az 1960-70-es évek végétől e térségben az egyik első számú fakárosítóvá vált. A *B. xylophilus* 2003-ra a japán fenyőerdő-terület közel 30%-át megfertőzte, és mintegy 1 millió tűlevelűt pusztított el, évente közel 0,7 millió m³ faanyag-vesztés okozva (Mamiya 2004). A károsítás visszafordíthatatlan folyamatokat idézett elő az őshonos erdei ökoszisztémákban, beleértve a biodiverzitás csökkenését, az élőhelyek pusztulását, valamint a fafajok összetételének megváltozását (Kiyohara és Bolla 1990; Suzuki 2002). Japánban évente 10 millió dollárt költöttek a fenyőrontó fonálféreggel kapcsolatos intézkedésekre (Kulinich és Kolossova 1993).

A FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations; Egyesült Nemzetek Élelmezésügyi és Mezőgazdasági Szervezete) 2010-es jelentése szerint Európában közel 1 milliárd ha erdő van, amelynek több mint 80%-a Oroszországban (az Uráltól keletre fekvő tajga

erdőterületét is beleértve) található. Az EU 27 tagállamának teljes erdő és fás területe mintegy 178 millió ha, ami közel 42%-os erdősültségnek felel meg. Az összes erdőborítottság közel 50%-a tűlevelű. Az EU rendelkezik a hatodik legnagyobb erdőterülettel a Földön, a világ erdeinek közel 4%-át adja (FAO 2010).

Magyarország 9,3 millió ha területének 20%-át, azaz 1,8 millió ha-t borítja erdő. Az élőfa 2011 évi készlete 362 millió m³, melynek 15%-a tűlevelű. 2011-ben a fenyő-fakitermelés 1 millió m³ volt. Az egyes fafajok közül az egyik legnagyobb arányú kitermelés az éghajlati adottságainkat nehezebben tűrő tűlevelűeknél figyelhető meg. A magyarországi fenyőfajok terület szerinti megoszlása a következő volt 2011-ben: *P. sylvestris* 123 000 ha, *P. nigra* 64 000 ha és egyéb tűlevelű 24 000 ha (KSH 2013).

Az erdők és a fa-alapú iparágak kulcsfontosságú szerepet játszanak az éghajlatváltozás mérséklésében. Az EU erdei fa-biomassza állománya legalább 96 milliárd tonna szén-tárol. Az erdők további értékekkel bírnak, különösen a tájkép, rekreáció és a biológiai sokféleség tekintetében. Az Egyesült Királyság erdészeti kutatóintézetének 2010-i becslése alapján a táj szénmegkötésének értéke az Unió 27 tagállamának erdeiben közel 56 milliárd EUR.

Szabályozási és ellenőrzési intézkedések hiányában a *B. xylophilus*-fertőzés az EU 27 tagállamának erdőiben becslések szerint 39-49 milliárd EUR kárt okozna (FCEC 2012).

Soliman és mtsai (2012) gazdasági elemzése szerint egy ellenőrizetlen fenyőrontó fonálféreg invázió katasztrófális gazdasági következményeket okozhat az EU tűlevelű erdészeti ágazatában. A kutatók számítása szerint a portugál belépési pontból kiinduló, nem kellően felügyelt invázió 2030-ig várhatóan az Unió vizsgált területének 10,6%-át érintheti. A szabályozatlan *B. xylophilus*-szétterjedés által okozott favesztesség 22 év múlva elérheti a 22 milliárd EUR-t, ami az EU összes *B. xylophilus*-fogékony tűlevelű faértékének 3,2%-a. A szociális jólét-csökkenést pedig 2030-ban 218 millió EUR összegre becsülik.

A fenyőrontó fonálféreg 1999-től bizonyítottan jelen van Portugáliában, és a jelentős mértékű EU-támogatás – 24 millió EUR 2001-2009 évek alatt – ellenére sem sikerült a fertőzést felszámolni. Portugáliában a *P. pinaster* a leginkább érintett fafaj, 1 millió ha területet borít, ez a teljes erdőállomány 34%-a (Mota et al. 1999; Sousa et al. 2001). A *P. pinaster* kiemelkedő a portugál fatermékek és gyanta előállításában, valamint a tengerparti futóhomok megkötésében, a *P. pinea* pedig a kiváló minőségű fenyőmagja miatt keresett exportáru. Spanyolországban a hatósági ellenőrzésekre és intézkedésekre 2009-ben 0,344 millió EUR-t, míg 2010-ben 3 millió EUR-t fordítottak.

Az EU Növény-egészségügyi Állandó Bizottság a társfinanszírozási programok költségvetéséből 2012-ben Portugáliának 7,6 millió EUR-t, Spanyolországnak pedig 2,27 millió EUR-t elkülönített, hogy megfékezzék a súlyos károkat okozó organizmusok terjedését. Portugália

a teljes összegből 3,9 millió EUR-t fordított a *B. xylophilus* járványkitörések elleni védekezési intézkedésekre, 3,7 millió EUR-t pedig a fenyőrontó fonálféreg jelenléte miatt körülhatárolt területek védelmére és a kötelező növény-egészségügyi intézkedésekre. Spanyolország a teljes támogatási összeget a sikeresen izolált fenyőrontó fonálféreg-járványkitörési helyek (Extramadura és Galícia, összesen három helyszínen) kötelező intézkedéseinek finanszírozására használhatta fel.

A 2000/29/EK (2000. május 8.) növény-egészségügyi keretirányelv szerint a *B. xylophilus* az EU-tagállamokban zárlati károsító. A jogszabály védekezési intézkedéseket ír elő a veszélyes károsító Közösségbe való behurcolása ellen, és Közösségen belüli terjedésének megakadályozására növényen vagy növényi terméken.

A fenyőrontó fonálféreg növény-egészségügyi besorolása: EPPO A2 lista, 158 (korábban A1 no. 158) (EPPO 2012a), és 2000/29/EK Tanácsi irányelv (2000. május 8.) II. melléklet A rész I. szakasz a) no. 8.

Magyarországi hatósági státusza: A növény-egészségügyi feladatok végrehajtásának részletes szabályairól szóló 7/2001. (I. 17.) FVM rendelet 2. számú melléklete alapján: 2/A/I. listán a 8. sorszámon szerepel.

A károsító korai észlelése a felderítési és megsemmisítési programok megvalósításának előfeltétele, éppúgy, mint károsító kockázatelemzési protokollok kidolgozása és a károsító mentes területek (pest free area) meghatározása (Schrader és Unger 2003).

Az EU-országok a *B. xylophilus* és vektorai fertőzött országokból történő behurcolásának és megjelenésének megelőzésére számos növény-egészségügyi intézkedést vezettek be. Mindezek ellenére a fenyőrontó fonálféreg európai jelenlétének első bizonyítékát 1999-ben megtalálták Portugáliában (Okland et al. 2010). A *B. xylophilus* terjedéséről, behurcolásának lehetséges útvonaláról, valamint a védekezési eljárásokról (mind a fonálféreggel fertőzött, mind mentes területeken) a következő jogszabályok rendelkeznek: 2001/218/EK, 2006/133/EK, 2009/420/EK, 2012/535/EU.

A *B. xylophilus* továbbterjedésének megakadályozására az izolálás, a tisztító vágás, illetve a fertőzött növények, növényi részek kivágás utáni, valamint még az intézkedés évében elvégzett megsemmisítése az egyetlen ma ismert és kötelezően alkalmazandó eljárás (2012/535/EU).

A védekezési eljárások között elsőként említhető a hatósági növény-egészségügyi előírások betartása, valamint a fa csomagolóanyagok kezelése, rezisztens túlelű fajok ültetése, a vektorok elleni védekezés, illetve nematicid szerek injektálása fertőzött növényekbe. A Japánban alkalmazott védekezési eljárásnak része a vektor rovarok (*Monochamus alternatus*) elleni inszekticides légi permetezés, a fertőzött fák törzsének injektálása nematicid szerekkel, valamint erdőirtás és a növényi részek elégetése azokon a nagy kiterjedésű területeken, ahol más védekezési mód nem valósítható meg, továbbá rovarcsapdázás, biológiai védekezés és a fanemesítési program beindítása.

Ezek a tevékenységek néhány pozitív eredményt adtak, de a *B. xylophilus* terjedésének és fertőzőképességének megakadályozása érdekében a jelenleg alkalmazott intézkedés-sorozat összességében sikertelen. A kártétel megelőzésére a gyakorlatban hatékonyan és eredményesen alkalmazható mechanikai, kémiai és biológiai védekezési eljárások egyelőre nem ismertek. A tűlevelű erdők *B. xylophilus* okozta veszélyeztetettségének csökkentésére a leghatékonyabb eljárás a preventív védekezés, azaz a fatermékek importjának szigorítása és a faanyag-szállítás ellenőrzési rendszerének javítása.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. A *Bursaphelenchus*-fajok és rovarterjesztőik felvételezési módszerei

Magyarországon 2003-tól irányítja és végzi a fenyőrontó fonálféreg, valamint terjesztő vektor rovarainak országos felderítését a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal, Növény-, Talaj- és Agrárkörnyezet-védelmi Igazgatóság Növény-egészségügyi és Molekuláris Biológiai Laboratóriuma (jogelőd: Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal Központ, Növény- és Talajvédelmi Igazgatóság, Központi Károsító Diagnosztikai Laboratórium (KKDL)). A KKDL Nematológiai Laboratórium munkatársaként 2005-től végeztem a terepi mintavételek egy részét a laboratórium által kiadott módszertani protokoll szerint, illetve a laboratóriumi vizsgálatokat és a fonálféreg-identifikációt. A morfológiai azonosítást kizárólag a KKDL Nematológiai Laboratórium, a terepi mintavételt pedig a megyei hatósági növény-egészségügyi felügyelők, valamint a laboratórium hajtotta végre.

A magyarországi felderítési protokollt a FAO (1998, 1999), az EPPO (EPPO 2009b,c, 2012b, 2013a), az Európai Bizottság (2000, 2009) által kiadott szabványok, útmutatók, valamint Schröder és mtsai (2009) közleménye alapján dolgoztuk ki.

A vizsgálatok helye

A *B. xylophilus* és a vektor rovarok felderítése fenyőfélékben, erdészeti területeken

A vizsgálatokat elsősorban azokban a megyékben (Bács-Kiskun, Baranya, Borsod-Abaúj-Zemplén, Csongrád, Győr-Moson-Sopron, Heves, Komárom-Esztergom, Nógrád, Pest, Somogy, Szabolcs-Szatmár-Bereg, Tolna, Vas, Veszprém, Zala) végeztük, ahol nagyobb kiterjedésű tűlevelű erdők találhatók.

Kiemelten azokat az erdőrészeket szemléztük, ahol bármilyen okból fenyőpusztulás volt tapasztalható, főleg *Pinus sylvestris* és *P. nigra* fajokon: így a meleg, száraz területeken fekvő, sínylódó erdőrészeket, az abiotikus kárt szenvedett növényeket (pl. széltörés, jégverés, viharkár, tűzkár), a cincérek és a kékülést okozó gombák által károsított fákat. A vizsgálatok helyszínének kiválasztásakor az erdészeti hatóság területet jól ismerő munkatársainak javaslata érvényesült.

Azokat a faállományokat is szemléztük, ahol a vektor rovarok károsításának nyomai (pl. *Monochamus*-fajoknál érési táplálkozás a fiatal hajtáson, 3 mm-nél nagyobb kifurakodási nyílás a kéreg alatt) megfigyelhetők voltak.

A *B. xylophilus* és a vektor rovarok vizsgálata veszélyeztetett területeken található fenyőfélékben

A veszélyeztetett területek esetleges fertőzöttségének felderítését az egész ország területén végeztük.

Veszélyeztetett területek: a veszélyforrások (lásd alább) körüli 5 km sugarú zóna (utca, park, védőfásor, természetes vegetáció stb.), ha azon belül található tűlevelű szoliter, facsoport, fásor, erdő, valamint azok 25 km sugarú zónája, ha azon belül kiterjedt tűlevelű erdő található.

A veszélyforrások típusai:

- import tűlevelű faanyag országba érkezési helyszíne (pl. Záhony, Eperjeske) és lerakata (pl. Baktalórántháza, Tuzsér) (**5. ábra**)
- különböző eredetű tűlevelű faanyagok lerakata
- fafeldolgozó üzemek (papírgyár, fűrésztelep, bútorgyár, ládagyár stb.)
- gyakori és tömeges faanyag-szállítás útvonalába eső közlekedési csomópontok (vízi, közúti, vasúti), átrakó- és kirakóhelyek
- repülőtér



5. ábra: Import faanyag Magyarországra érkezése a záhonyi növény-egészségügyi határállomáson
(Fotó: Tóth Á.).

A *B. xylophilus* és a vektor rovarok vizsgálata vágásterületeken, depókban lévő kivágott faanyagból és hántolt kéregből

A vágásterület és depó vizuális szemlézésekor az egy évnél nem régebben kivágott fatörzseket, faanyagot és hántolt kéreg tételeket vizsgáltuk. Elsősorban a rovar- és gombakártételt mutató fatörzseket, faanyagokat választottuk ki mintázásra.

A mintavétel

A mintavétel időpontja

A felderítést minden évben júniustól szeptemberig végeztük fenyőerdőkben, veszélykörzetekben és vágásterületeken, 2003-tól 2011-ig.

A mintavétel módszere

A faanyagú minták gyűjtése és mintavétele

A tűlevelű erdőállományban a pusztuló növény vagy növényi rész környékén négy, részlegesen károsodott törzsből faanyag mintákat gyűjtöttünk (átlagminta) (**6-7. ábra**). Egészséges állományban is legalább egy átlagmintát vettünk. Veszélyzónában teljesen egészséges tűlevelű fát, facsoportot is mintáztuk a látens fertőzés kiderítése érdekében.

2003-tól 2011-ig a vizsgálati mintaszám évente 120-300 között változott.

A mintavétel eszköze akkumulátoros fúrógép volt, amit erdészeti fúrókészlettel (17-20 mm átmérő) használtunk.

A mintavétel mélysége 4-6 cm volt.

A mintaszám tagonként, erdőrészletenként egy átlagminta, több pusztuló erdőrészlet esetén pedig 2-5 átlagminta volt.

A minta mennyisége legkevesebb 100 g (25 g/fúrás hely) volt.

A mintagyűjtés módja: Az átlagmintát a mintahelyen kijelölt négy fából vettük, lehetőség szerint a fatörzsek különböző szintjéből (alsó, középső), valamint, ha megfigyelhető volt rovarjárat, annak falából. A kontamináció elkerülése érdekében az egyes mintavételek után a fúrófejről és a kérgező késről eltávolítottuk a növényi maradványokat, majd az eszközöket 70%-os etil-alkoholba merítve fertőtlenítettük. A mintát nylonzacskóba gyűjtöttük és lezárva, adataival ellátva, a mintavétel napján vagy másnapján laboratóriumba szállítottuk fonálféreg-kinyerés céljából. A mintákat direkt napfénytől elzárva tároltuk.



6. ábra: Mintavétel fenyőkből (Fotó: Tóth Á.).



7. ábra: *Bursaphelenchus-fonálféregfajok kimutatásához begyűjtött növényi minták*
(Fotó: Tóth Á.).

A hántolt kéreg gyűjtése és mintavétele

A hántolt kéregtételből elsősorban hánccssövetet (floem) is tartalmazó darabokat válogattuk ki, ahol a hánccs felszínén járatok, ovális bemélyedések, röpnnyílás volt látható. Tünetek hiányában az egészséges kéregből is legalább egy átlagmintát vettünk.

A mintaszám 1 átlagminta/tétel volt.

A minta mennyisége legkevesebb 1kg volt.

A rovargyűjtés módszere

A rovargyűjtés a faanyag-mintavételi helyszínek környezetében, június elejétől minimum három erdőrészletben egyedi gyűjtéssel, vagy mintahelyenként 1-3 db vörösboros csalétekcsapda kihelyezésével történt. A csapda elkészítésénél és kihelyezésénél a Medvegy és mtsai (2007) által publikált módszer szolgált alapul. A fatörzseken, faanyagokon és a kérgen lévő hánccsrészen a 3 mm-nél nagyobb ki- és befurakodási nyílásokat és a rovarjáratokat jegyeztük fel. Ha élő lárva, báb gyűjthető volt, legalább család szintig meghatároztuk.

A gyűjtött és elölt imágókat szellős helyen, papírdobozban tároltuk. A lárva és báb anyagot 75%-os etil-alkoholban tartósítottuk.

A rovargyűjtést elsősorban a növény- és talajvédelmi laboratóriumok végezték, a rovarhatározást pedig Avar Kálmán, Domak Béla, Györffy dr. Molnár Júlia, Dr. Gyulai Péter, Lukács Mária, Szántóné Veszélka Mária és Dr. Szeőke Kálmán rovaratani mérnökszakértők.

3.2. A *Bursaphelenchus*-fajok laboratóriumi kimutatása és fenntartása

A fonálféreg kinyerését Baermann-tölcséres (Baermann 1917) eljárással – kisméretű faapríték, faforgács vízbe merítése – végeztem, átlagmintánként négy ismételtsben (25 g faanyag/tölcsér) (**8. ábra**). A kifuttatási idő 48 óra volt.



8. ábra: Laboratóriumi fonálféreg-kinyerés Baermann-tölcséres eljárással (Fotó: Tóth Á.).

A kinyert fonálféregket TAF-oldatban (**M5. melléklet**) tartósítottuk és “lassú glicerines” módszerrel preparáltam (Goodey 1963; Southey 1970; Elekes 1981).

A pásztázó elektronmikroszkóppal végzett határozás előkészítéséhez a *Bursaphelenchus* egyedeket Vieira és mtsai (2009) által közölt leírás szerint fixáltam. A dehidratálás (100%-os acetone, töménységi sor: 25, 50, 75, 90, 100%-os töménységű acetone sor), kritikusponton történő szárítás és aranyozás műveletek elvégzése (Eisenback 1985) után, ZEISS gyártmányú EVO 40XVP típusú scanning elektronmikroszkóppal készítettünk felvételeket, 10000-szeres nagyításban, az MTA Természettudományi Kutatóközpontban (jogelőd: MTA Kémiai Kutatóközpont).

A *Bursaphelenchus*-fajok tenyésztése, standard kontroll fajok fenntartása PCR-vizsgálatokhoz

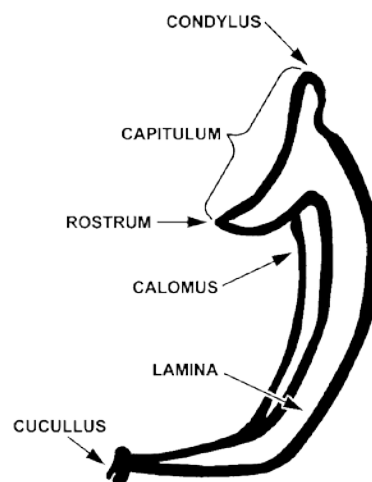
Amennyiben kizárólag lárva stádiumú, vagy lárva és nőtény fonálféreg fordult elő a mintákban, vagy több példány volt szükséges a határozáshoz, illetve PCR-vizsgálattal is elvégeztük a fajhatározást, akkor a kinyert élő *Bursaphelenchus*-fajnak vélt egyedeket *Botrytis cinerea* gombával fertőzött PDA-táptalajon (Potato Dextrose Agar; **M5. melléklet**) szaporítottam a megfelelő egyedszám és fejlődési stádium eléréséig (Futai 1980). A fonálféreggel fertőzött táptalajokat 25 °C-ra beállított termosztátba helyeztük, amely hőmérsékleten biztosított a fonálféreg szaporodása.

A PCR-vizsgálathoz szükséges standard kontroll fonálféreg egyedeket (*B. xylophilus*, *B. mucronatus*, *B. fraudulentus*) Portugáliából rendeltem meg (Mota M.M; NemaLab-ICAM /Instituto de Ciências Agrárias Mediterrânicas/, Departamento de Biologia, Universidade de Évora, 7002-554 Évora, Portugal) és PDA-táptalajon folyamatosan fenntartottam.

A kontroll fajok kódjelölése a következő volt: *B. xylophilus*: BURSXY-Pt-1, *B. mucronatus*: BURSMU-Pt-2 és *B. fraudulentus*: BURSFR-Pt-3.

3.3. Az európai *Bursaphelenchus*-fajok alaktani bélyegei és azonosításának módszerei

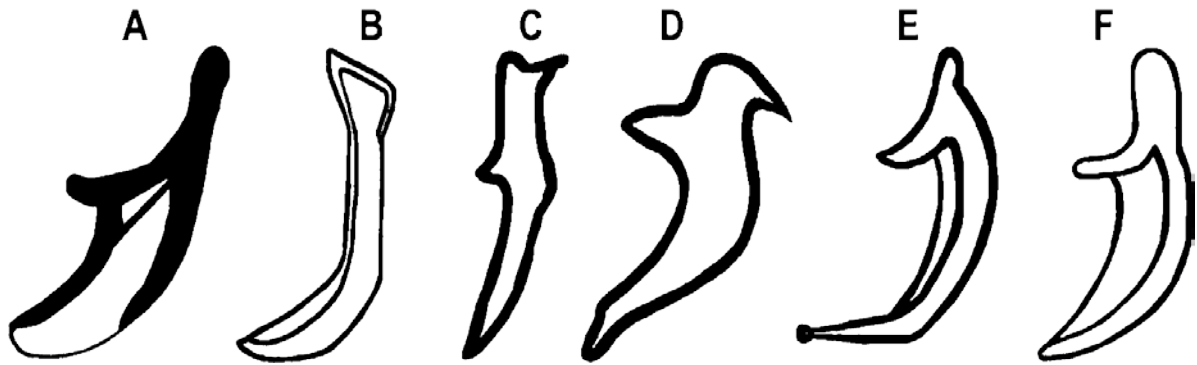
A fapusztulást előidéző *B. xylophilus* egyértelmű azonosítása érdekében szükséges a fajsztípus diagnózis, amelyben a morfológiai vizsgálat a rutindiagnosztika standard módszere (Coomans 2002). A *Bursaphelenchus*-fajok különböző kritériumok szerinti kisebb alcsoportokra különítését sok kísérlet, tanulmány előzte meg. E célra Tarjan és Baéza-Aragon (1982) javasolta először a spiculum (párvízcső) morfológiát (**9. ábra**). Ezt követően Giblin és Kaya (1983) alkalmazták a spiculum-formák szerinti elkülönítést az eltérő csoportokba tartozó *Bursaphelenchus*-fajoknál. Yin mtsai-val (1988) határozókulcsot készített a spiculum jellemzői alapján. Braasch (2004) kilenc csoportba sorolta az európai túlevelűekből 2001-ig kimutatott *Bursaphelenchus*-fajokat. Csoportosításának alapja főként az oldalvonalak száma, továbbá a hímeknél a kaudális papillák száma és elhelyezkedése, valamint a spiculum alakja volt, a nőstényeknél pedig a vulvalebeny (vulval flap) megléte és mérete, illetve a női farok alakja. Azonban ezek a karakterek nem használhatók az összes leírt fajnál, mert néhány morfológiai jellemző nem ismert bizonyos fajoknál.



9. ábra: A *Bursaphelenchus*-fajok spiculumának alkotóelemei oldalnézetben (Ryss et al. 2005).

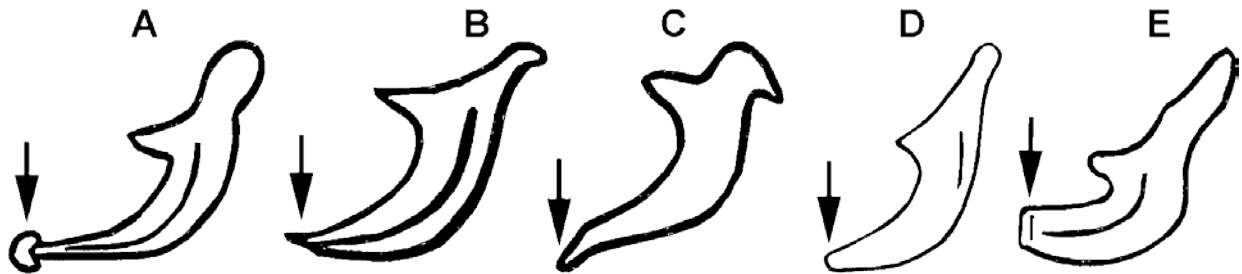
Ryss és mtsai (2005) a genus valamennyi fájára alkalmazható integrált morfológiai azonosító rendszer létrehozására törekedtek. Összegző tanulmányukban beszámolnak a világon előforduló *Bursaphelenchus*-fajokról, azok természetes terjesztőiről és tápnövényeiről, illetve a fajok határozóbélyegeiről. A kutatók 75 elfogadott fajt soroltak a *Bursaphelenchus*-genusba, a fajokat pedig morfológiai paraméterek (kizárólag a spiculum jellemzői alapján) hat csoportba

osztották (10-11. **ábra**). Ezek a csoportok (*aberrans*-, *borealis*-, *eidmanni*-, *hunti*-, *piniperdae*- és *xylophilus*-csoport) identifikációs egységeknek felelnek meg a fajok azonosításának megkönnyítése érdekében.



10. ábra: A *Bursaphelenchus*-fajok spiculum struktúrái fajcsoportonként (Ryss et al. 2005).

A: *hunti*-csoport; B: *aberrans*-csoport; C: *eidmanni*-csoport; D: *borealis*-csoport; E: *xylophilus*-csoport; F: *piniperdae*-csoport



11. ábra: A *Bursaphelenchus*-fajok spiculum csúcsainak típusai oldalnézetben (Ryss et al. 2005).

A: *cucullussal*; B: *hegyes, cucullus nincs*; C: *finoman lekerekített, cucullus nincs*; D: *szélesen lekerekített, cucullus nincs*; E: *szélesen levágott (csonka), cucullus nincs*

A *Bursaphelenchus*-fajcsoportok határozókulcsa (Ryss et al. 2005):

- 1) A *hunti*-csoport: a hím spiculum dorzális és ventrális tagjai nem kapcsolódnak a spiculum csúcsával, mely széles és tompa.
- 2) Az *aberrans*-csoport: a capitulum vaskos, a rostrum és a condylus nem emelkedik ki.
- 3) Az *eidmanni*-csoport: a spiculum egyenes, rajta kis rostrum helyezkedik el a hosszának középső részén.
- 4) A *borealis*-csoport: a condylus hátulsó része hajlított.

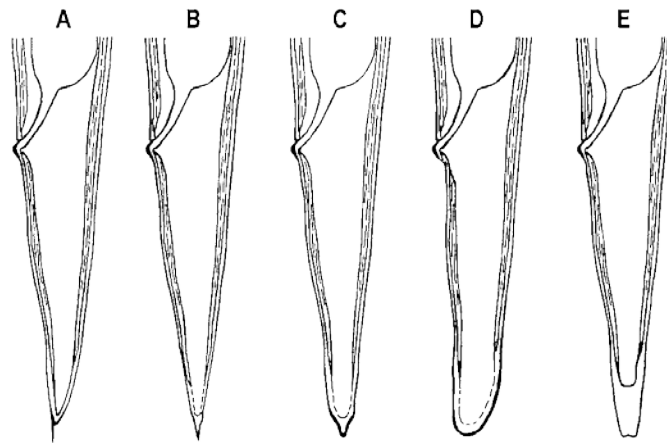
- 5) A *xylophilus*-csoport: a capitulum első része lapított, kis condylus, a spiculum test dorzális kontúrja az utolsó harmadában határozottan szögletes; cucullus rendszerint van.
- 6) A *piniperdae*-csoport: a capitulum első része homorú, a condylus megnyúlt, a spiculum test dorzális kontúrja egyenletesen íves vagy a közepénél szögletes; a cucullus általában hiányzik, de kisméretű cucullus előfordulhat.

A *Bursaphelenchus*-fajok fajcsoportokba sorolása (Ryss et al. 2005):

- A *hunti*-csoport tagjai: *B. hunti*, *B. cocophilus*, *B. dongguanensis*, *B. fungivorus*, *B. gonzalezi*, *B. kevinii*, *B. seani*.
- Az *aberrans*-csoport tagjai: *B. aberrans*, *B. idius*, *B. elytrus*, *B. sinensis*.
- Az *eidmanni*-csoport tagjai: *B. eidmanni*, *B. digitulus*, *B. erosus*, *B. steineri*, *B. teratospicularis*, *B. typographi*.
- A *borealis*-csoport tagjai: *B. borealis*, *B. cryphali*, *B. leoni*, *B. silvestris*, *B. tusciae*.
- A *xylophilus*-csoport tagjai: *B. xylophilus*, *B. abruptus*, *B. baujardi*, *B. conicaudatus*, *B. crenati*, *B. eroschenkii*, *B. fraudulentus*, *B. kolymensis*, *B. luxuriosae*, *B. mucronatus*.
- A *piniperdae*-csoport tagjai: *B. piniperdae*, *B. abietinus*, *B. bestiolus*, *B. chitwoodi*, *B. corneolus*, *B. eggersi*, *B. eremus*, *B. eucarpus*, *B. fuchsi*, *B. georgicus*, *B. glochis*, *B. hellenicus*, *B. hofmanni*, *B. hunanensis*, *B. hylobianum*, *B. incurvus*, *B. lini*, *B. maxbassiensis*, *B. minutus*, *B. naujaci*, *B. newmexicanus*, *B. nuesslini*, *B. paracorneolus*, *B. pinasteri*, *B. pinophilus*, *B. pityogeni*, *B. poligraphi*, *B. rainulfi*, *B. ratzeburgii*, *B. sachsi*, *B. scolysi*, *B. sexdentati*, *B. sutoricus*, *B. sychnus*, *B. talonus*, *B. thailandae*, *B. tritrunculus*, *B. vallesianus*, *B. varicauda*, *B. wekuae*, *B. wilfordi*, *B. willi*, *B. xerokarterus*.

Annak ellenére, hogy a *xylophilus*-csoport tagjai egyértelműen elkülöníthetők a többi csoport fajaitól a spiculum formája alapján, fajszerű azonosításuk nem egyszerű. E csoport bizonyos fajainak több morfometriai értéke egymást átfedő mérettartományba esik, és ez a populációk eltérő földrajzi helye szerint is változó.

A *xylophilus*-csoporton belül a fajok a női farok alakja alapján is megkülönböztethetők (**12. ábra**).



12. ábra: A *xylophilus*-csoport nőtényeinek farokcsúcs típusai (Ryss et al. 2005).

A: mucro; B: hegyes; C: finoman lekerekített (V-alak); D: szélesen lekerekített (U-alak); E: levágott

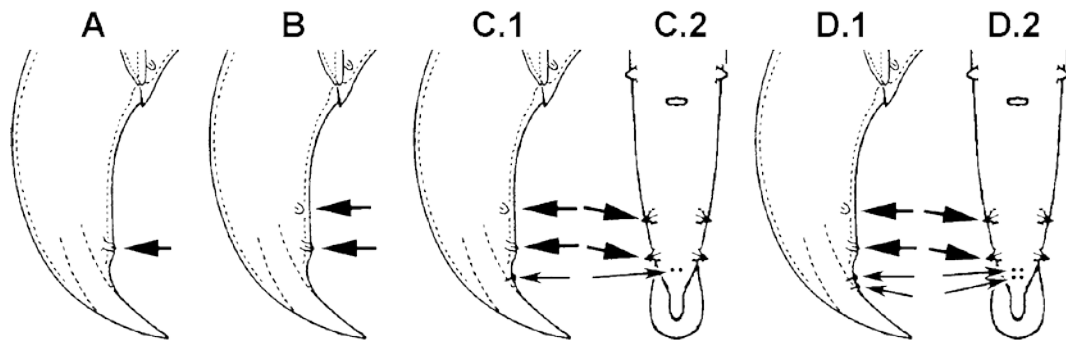
A *B. xylophilus*-nak két morfológiai formája alakult ki (Wingfield 1983) az észak-amerikai őshazában, amelyek egymástól eltérő patogenitással rendelkeznek (Li 2008). Az R-formatípus (rounded) esetén a nőtény farok lekerekített, a végén nincs ujszerű nyúlvány (mucro). Ezek az egyedek erősen patogének és már Ázsiában is jelen vannak. Az M-formatípushoz (mucronated) tartozó nőtény farok mucro-ban végződik és gyengébb patogenitású az R-formatípusnál.

A *B. xylophilus* nőtény M-forma farokalakja igen változatos, ezért rendkívül nehéz elkülöníteni a morfológiai hasonlóságot mutató nem patogén *B. mucronatus* fajtól, ahol a nőtény mucro-s farokvégződéssel rendelkezik (Wingfield 1983).

A *B. xylophilus* és a *B. mucronatus* nőtények közötti morfológiai hasonlóság miatt a határozást tovább nehezíti, ha a vizsgálandó mintában kizárólag hím vagy juvenil életszakaszú egyedek vannak, akkor a fajszerű identifikáció meglehetősen nehéz és gyakran megbízhatatlanná válhat önmagában a morfológiai adatok alapján (Bolla és Wood 1999; Braasch 2004). Továbbá a két faj képes a genetikai állományuk egymás közötti kicserélésére (De Gurian és Bruguier 1989), ezzel is veszélyeztetve a klasszikus, morfológiai identifikáció eredményének megbízhatóságát, valamint a különböző földrajzi izolátumok elkülönítését.

A *xylophilus*-csoport fajok azonosítási nehézségei miatt Braasch 2008-ban új rendszert dolgozott ki. Szerinte a *xylophilus*-csoport fajai a *Bursaphelenchus*-genus többi fajtól a négy oldalvonal megléte, a nőtényeknél a vulvalebeny megléte, a hímeknél a jellegzetes alakú spiculum (**10. ábra: „E”** és **11. ábra: „A”**) és a hét kaudális papilla elrendeződése (**13. ábra: „B”**) alapján

különböztethetők meg. A *xylophilus*-csoport fajai közül a *B. xylophilus*, *B. fraudulentus* (Rühm, 1956), *B. mucronatus* (Mamiya és Enda, 1979) és *B. kolymensis* (Korenchenko, 1980) évtizedek óta széles körben elterjedt. A csoport 2000-től öt fajjal bővült, ezek a következők: *B. conicaudatus* (Kanzaki, Tsuda és Futai, 2000), *B. luxuriosae* (Kanzaki és Futai, 2003), *B. doui* (Braasch, Gu, Burgermeister és Zhang, 2004a), *B. singaporensis* (Gu, Zhang, Braasch és Burgermeister, 2005) és *B. baujardi* (Walia, Negi, Bajaj és Kalia, 2003). Ezeket a fajokat főként Kelet- és Délkelet-Ázsiában találták meg.



13. ábra: A *Bursaphelenchus*-fajok hím posztanális papillapárjainak száma (Ryss et al. 2005).
Oldalnézetben: A: egy; B: kettő; C.1: három; D.1: négy. Hasi nézetben: C.2: három; D.2: négy.
(A nagy papillákat jelölik a vastag nyilak, a mirigypapillákat a vékony nyilak.)

A *B. xylophilus* alaktani leírása

A *B. xylophilus* karcsú testű, változatos testhosszú (0,6-1,3 mm) fonálféreg. A kutikula finoman gyűrűzött. A feji rész magas és elkülönült, az ajkak (6 db) gömbölyűek. A szájszurony gyengén fejlett, kis szuronygombokkal rendelkezik. A nyelőcső középbulbusa jól fejlett, a dorzális nyelőcsőmirigyek a középbulbusba torkollnak.

A hím farki vége ventráisan erősen hajlott, kúp alakú. A bursa (párzótáska) kicsi és terminalisan a farokcsúcsnál csak hát-hasi helyzetben látható. A spiculum jól fejlett, robosztus; erősen ívelt, nagy lekerekített csúccsal és élesen kiemelkedő rostrummal. A spiculum végén korong alakú nyúlvány (cucullus) található. A gubernaculum (vezetőpálca) hiányzik. Jellemző bélyeg a hím farok papilláinak száma és elhelyezkedése: egy pár adanális papilla közvetlenül az anus előtt, két pár posztanális és egy páratlan preanális papilla.

A nőstény viszonylag rövid, többnyire szélesen lekerekített farokkal, vagy terminális dudorszerű mucro-val rendelkezik. A kiválasztó szerv nyílása általában a középbulbus mögött fekszik. A vulva a testhossz 78-80%-nál nyílik, a felső ajak túlér a vulvanyíláson. A posztvulváris uterus zsák hosszú, a vulva-anus távolság $\frac{3}{4}$ részéig ér. A petefészek páratlan, nyújtott.

Morfológiai fajhatározás fénymikroszkóppal

A fajhatározást az előbbi irodalmak alapján Leica DM LB2 kutatómikroszkóppal (N=800-1000), a morфомetriai adatok felvételével, Leica IM 50 képanalizáló program alkalmazásával végeztük. A mikroszkópi határozás a *Bursaphelenchus*-fajok nőtény és hím egyedeinek alaktani bélyegei alapján, az eredeti fajleírások alaktani és morфомetriai (földrajzi lelőhely szerint eltérő populációk) adatainak összevetésével történt (2-4. táblázat).

2. táblázat: *A Bursaphelenchus xylophilus morфомetriája.*

Fajok	BURSXY	BURSXY	BURSXY	BURSXY	BURSXY
Jellemzők	Nickle et al. (1981) (n=5)	Mamiya és Kiyohara (1972) (n=30)	Mota et al. (1999) (Portugál) (n=12)	Peñas et al. (2008) (Portugal) (n=20)	Peñas et al. (2008) (Portugal) mucronate (n=10)
L (mm) ♂	0,56 (0,52-0,60)	0,73 (0,59-0,82)	1,03 (0,80-1,30)	0,57 (0,45-0,69)	0,85 (0,70-0,99)
a	40,8 (35-45)	42,3 (36-47)	49,4 (44-56)	46,0 (40,2-58,5)	54,3 (38,7-63,7)
b	9,4 (8,4-10,5)	9,4 (7,6-11,3)	13,3 (11,1-14,9)	9,6 (8,2-10,7)	12,4 (10,4-13,9)
c	24,4 (21-29)	26,4 (21-31)	28,0 (24-32)	21,6 (19,1-24,6)	25,3 (20,4-29,0)
Stylus (µm)	13,3 (12,6-13,8)	14,9 (14,0-17,0)	12,6 (11,0-16,0)	11,0 (10-14)	14,6 (11-18)
Spiculum (µm)	21,2 (18,8-23,0)	27,0 (25-30)	24,0 (22-25)	19,3 (16,5-24,0)	26,3 (23-28)
Jellemzők	Nickle et al. (1981) (n=5)	Mamiya és Kiyohara (1972) (n=30)	Mota et al. (1999) (Portugál) (n=12)	Peñas et al. (2008) (Portugal) (n=20)	Peñas et al. (2008) (Portugal) mucronate (n=10)
L (mm) ♀	0,52 (0,45-0,61)	0,81 (0,71-1,01)	1,05 (0,89-1,29)	0,59 (0,51-0,66)	0,97 (0,81-1,15)
a	42,6 (37-48)	40,0 (33-46)	50,0 (41-58)	41,9 (32,8-50,6)	53,9 (49,0-58,8)
b	9,6 (8,3-10,5)	10,3 (9,4-12,8)	13,8 (12,7-16,4)	10,1 (9,1-11,2)	13,3 (12,1-14,3)
c	27,2 (23-31)	26,0 (23-32)	26,6 (22-32)	25,4 (20,2-29,0)	24,4 (18,8-28,0)
Mucro (µm)	n.a.	nincs	n.a.	nincs	van
Stylus (µm)	12,8 (12,6-13,0)	15,9 (14,0-18,0)	12,3 (11,0-15,0)	11,2 (10,0-12,5)	14,7 (12,1-17,0)
Vulva %	74,7 (73-78)	72,7 (67-78)	73,3 (70-76)	71,5 (70,1-72,9)	72,6 (71,5-73,5)

Jelmagyarázat a 2-4. táblázathoz:

n: egyedszám, L: testhossz (mm), a: testhossz/legnagyobb testszélesség, b: testhossz/nyelőcső hossza, c: testhossz/farokhossz, V: a női ivarnyílás %-os helyzete a test hosszához viszonyítva, n.a.: nincs adat, BURSXY: *B. xylophilus*, BURSMU: *B. mucronatus*, BURSFR: *B. fraudulentus*, BURSV: *B. vallesianus*

3. táblázat: *A xylophilus-csoport téveszthető társfajainak morfometriája.*

Fajok	BURSMU	BURSMU	BURSMU	BURMU	BURSFRA
Jellemzők	Mamiya és Enda (1979) (n=35♂; n=40♀)	Kulinich et al. (1994) (n=40)	Palmisano et al. (1994) (Italy) (n=20♂; n=15♀)	Brzeski és Baujard (1997) (n=29♂; n=46♀)	Rühm (1956) (n=n.a.)
L (mm) ♂	0,79 (0,64-0,97)	0,628 (0,485-0,781)	0,51-0,81	0,70 (0,48-1,03)	0,645-0,685
a	44,0 (38,8-51,1)	37,0 (2,5-44,5)	33,0-47,6	4,3 (24,5-56,0)	32,7-36,9
b	11,4 (9,0-14,7)	10,0 (6,6-13,0)	7,0-13,5	10,0 (6,6-14,7)	8,6-9,3
c	29,1 (25,7-35,6)	22,7 (14,6-32,6)	18,4-34,6	24,7 (14,6-35,6)	20,5-27,4
Stylus (µm)	15,0 (14-16)	13,2 (12-14)	13-15	13,4 (11,5-17,5)	12-15
Spiculum (µm)	26,0 (23-29)	23,1 (18-31)	21-29	25,0 (16-32)	21-22
L (mm) ♀	0,87 (0,70-0,98)	0,84 (0,68-0,99)	0,565-0,846	0,78 (0,56-1,05)	0,675-0,900
a	41,8 (36,5-45,9)	38,8 (34,8-44,3)	33,5-44,3	39,5 (25-51)	32,1
b	12,6 (9,6-15,9)	11,5 (9,8-12,6)	8,2-12,5	10,6 (6,1-15,9)	9,6-12,0
c	26,2 (19,6-30,4)	24,8 (20,0-30,7)	19,5-28,0	25,1 (16,9-35,0)	21,4-25,7
Mucro (µm)	5	4-5	n.a.	n.a.	n.a.
Stylus (µm)	15,8 (14-16)	13,5 (12-15)	14-16	13,8 (12-16)	12-14
Vulva %	75 (73-77)	74,3 (70,6-77,7)	72-75	73,2 (66-78)	74-75

4. táblázat: *A piniperdae-csoport kimutatott fajának morfometriája.*

Fajok	BURSV A	BURSV A
Jellemzők	Braasch et al. (2004) (Switzerland) (n=10)	Akbulut et al. (2008) (Turkey) (n=10)
L (mm) ♂	0,613-0,918	0,736-0,850
a	22-46	28-41
b	9,2-12,2	9,5-12,0
c	20-37	25-42
Stylus (µm)	12-15	12,8-14,4
Spiculum (µm)	15-19	14,4-18,0
L (mm) ♀	0,688-1,063	0,696-0,914
a	31-42	36,5-46,0
b	8,7-15,7	10,3-15,6
c	28-42	37,6-49,8
Stylus (µm)	11-15	12,7-15,1
Vulva %	71-75	73-77

Morfológiai határozás elektronmikroszkóppal

A pásztázó elektronmikroszkóppal (scanning electron microscope, SEM) végzett morfológiai vizsgálat nélkülözhetetlen a *Bursaphelenchus*-fajok csoportba sorolásához, mivel az alapvető csoportképző morfológiai bélyegek, mint pl. az oldalvonalak száma, lefutása, vagy a farokpapillák fénymikroszkóppal nem, vagy csak nehezen láthatók.

Az európai *Bursaphelenchus*-fajok molekuláris biológiai azonosításának módszerei

A molekuláris vizsgálatokat a Szent István Egyetem Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar Növényvédelmi Intézet Mikrobiológiai és Környezettoxikológiai Laboratóriumában végeztük.

Az összehasonlító kontroll *Bursaphelenchus*-fajok portugál *Bursaphelenchus* tiszta tenyészetekből származó *B. xylophilus*-, *B. mucronatus*- és *B. fraudulentus*-izolátumok voltak.

A molekuláris vizsgálati minták a magyarországi hatósági mintagyűjtés növénymintái (NTAI KKDL) és portugál *Bursaphelenchus*-izolátumok (NemaLab-ICAM) voltak.

A Győr-Moson-Sopron és Szabolcs-Szatmár-Bereg megyei erdőterületeken a *P. nigra* és *P. sylvestris* növényekből 2010-ben gyűjtött és bizonytalan morfológiai határozási eredményt adott növényi minták területi azonosító adatait az **5. táblázat** tartalmazza.

5. táblázat: A növényi minták területi azonosító adatai (Győr-Moson-Sopron és Szabolcs-Szatmár-Bereg megye, 2010).

Erdőtulajdonos neve	Mintavétel helye		Fafaj	Tünet*	Mintavétel időpontja	Minta-jelölés
	Helység	Erdőrészlet				
Kisalföldi Erdőgazdaság Zrt. Kapuvári Erdészet	Vitnyéd	18C	<i>P. nigra</i>	0	2010.09.09	GY5
	Csapod	-	<i>P. sylvestris</i>	0	2010.08.02	GY421
	Vitnyéd	12D	<i>P. sylvestris</i>	4	2010.08.02	GY425
Levelek Község Önkormányzat	Levelek	Szenyvíz telep	<i>P. nigra</i>	3	2010.08.04	SZ458
Nyírerdő Zrt. Baktalórántházi Erdészet Fatelep	Ófehértó	ÓF17B	<i>P. sylvestris</i>	3	2010.08.05	SZ463

*=Tünet jelmagyarázat:

0: tünetmentes, 1: rovarfertőzött, 2: gombafertőzött, 3: tűlevélsárgulás, 4: fapusztulás

DNS-izolálás

A DNS-izolálást a vélhetően (előzetes morfológiai vizsgálat alapján) *Bursaphelenchus* sp. egyedeket tartalmazó – vagy morfológiailag bizonytalan eredményt adó – magyarországi növénymintákból kinyert fonálférgekből és a portugáliai összehasonlító standard *Bursaphelenchus*-

populációk különböző fejlődési stádiumú fonálféreg egyedeiből (kifejlett nőstény és hím, lárva) végeztük. 1, 5, 10 és 30 fonálféreg egyed alkotott egy mintamennyiséget.

A DNS-izolálás első lépéseként a sejtek feltárására több módszert kipróbáltunk, kiindulásként 30 egyedet (hím, nőstény és lárva) felhasználva.

- a) Az adott számú fonálférget 40 µl TE pufferben (10 mM Tris HCl, pH=8, 1 mM EDTA) összezuztam és 95 °C-on 10 percig forraltam 10 µl 20% Chelex®100 rezin (Bio-Rad Magyarország Kft.) jelenlétében. A rezint 5 perces 12000 *g*-n történő centrifugálással távolítottam el, majd a felülúszót közvetlenül használtam fel templátként a PCR-reakciókban.
- b) Az *a)* pontban leírt módszernek megfelelően a fonálférgeket 40 µl TE pufferben (10 mM TRIS HCl, pH=8, 1 mM EDTA) összezuztam és 100 °C-on 3 percig forraltam 10 µl 20% Chelex®100 rezin jelenlétében. A rezint 1 perces 3000 *g*-n történő centrifugálással eltávolítottam, majd a felülúszót közvetlenül használtam fel templátként a PCR-reakciókban.
- c) Az *a)* és *b)* pontokban leírt módszereket kombináltam a fenol-kloroformos DNS-tisztítással is, úgy, hogy a *b)* pontban kapott felülúszót közvetlenül fenol-kloroformmal kezeltem.
- d) A fonálférgek sejtjeinek feltárására a CTAB (hexadeciltrimetil-ammónium-bromid) alapú módszert és kloroform/izoamil-alkoholos, izopropanolos tisztítást is kipróbáltam (Takeuchi et al. 2005).
- e) Roche kit segítségével végzett feltárás

A nukleinsav tisztítását a kereskedelemben kapható QIAamp DNA Micro (DNeasy Plant Mini) Kit (Qiagen), valamint a High Pure PCR Template Preparation Kit (Cat. No. 1 796 28; Roche) készítménnyel végeztem.

A roncsolt fonálférgekhez 20 µl proteinázt adagoltam, majd (600 mAU/ml) 56 °C-on inkubáltam 3 órán át. Ezt követően a kit előírásainak megfelelően végeztem a DNS-izolálást.

A lízis modifikációt Burgermeister et al. (2009) alapján végeztem. A fonálférgeket csak fele (20 µl) mennyiségű TE pufferben dörzsöltem szét, ezután 20 µl 0,25 M NaOH oldattal kiegészítettem, majd 16 órán át szobahőmérsékleten hagytam. Ezt követően 2 percig 99 °C-on tartottam, majd szobahőmérsékletre történő visszahűtés után 20 µl 0,25 M HCl (pH=8,0) oldattal és 5-5 µl Tris-HCl és 2%-os Triton X-100 hozzáadásával a közeg pH=8-ra beállítottam.

A nukleinsav-kivonás minőségének ellenőrzését agaróz gélelektroforézissel (**M5. melléklet**) végeztem 1%-os agaróz gélen, 0,1 µl/ml etídium-bromid jelenlétében.

PCR (Polymerase chain reaction)

A fonálférgek molekuláris azonosítását több indítószekvenciával végeztem Ferris et al. (1993) és Vrain (1993) közleménye alapján. Az indítószekvenciákat a **6. táblázat** tartalmazza.

6. táblázat: A *Bursaphelenchus*-fajok kimutatására alkalmazott indítószekvenciák (Burgermeister et al. 2009).

Primer	Primer kód	Szekvencia (5'→3')	Referencia
Forward	F194	5'-CGT AAC AAG GTA GCT GTA G-3'	Ferris et al. 1993
Reverse	5368	5'-TTT CAC TCG CCG TTA CTA AGG-3'	Vrain 1993
Forward	F194+1	5'-CGT AAC AAG GTA CGT GTA GG-3'	Burgermeister et al. 2009
Reverse	5368-1	5'-TTC ACT CGC CGT TAC TAA GG-3'	Burgermeister et al. 2009
Forward	K1f	5'-AGT CGT AAC AAG GTA GCT GTA GGT GAA C-3'	Burgermeister et al. 2009
Reverse	K2r	5'-TTT CAC TCG CCG TTA CTA AGG GAA TCC-3'	Burgermeister et al. 2009

A reakcióelegy végtérfogata valamennyi reakció esetén 20 µl volt, mely 2 µl 10-szeres reakció puffert (Fermentas), 1,5 µl 25 mM MgCl₂-ot, 2 µl 2,5 mM dNTP mixet, 1-1 µl 40 µM primereket, 1 µl templát DNS-t, 0,2 µl (5U) Taq DNS-polimeráz enzimet (Fermentas) és 11,3 µl steril desztillált vizet tartalmazott.

A PCR-program a következő volt: denaturáció: 94 °C 2,5 perc; 40 ciklus: 94 °C 1 perc, 55 °C 1 perc, 72 °C 2 perc; végső elongáció 72 °C 5 perc.

A kapott PCR-amplifikátumokat agaróz gélelektroforézissel mutattuk ki és választottuk el 1,8%-os agaróz gélben, 1 µg/ml etidium-bromid jelenlétében. Az etidium-bromidot tartalmazó agaróz gélben a DNS-mintázatot UV-transzilluminátoron vizsgáltuk.

A fonálférgek PCR-RFLP képének meghatározása

A *Bursaphelenchus*-fajok azonosítása a riboszómális DNS adott régióinak felszaporítása után RFLP-analízissel történt. A tisztított PCR-termékeket restrikciós endonukleáz emésztéseknek vetettük alá 37 °C-on, *AluI*, *Hinfi* és *HaeIII* enzimek használatával (Promega, Madison, WI, USA). A fonálféreg-populációra jellemző RFLP-profil megállapítása kapilláris elektroforézises futtatás alapján történt Agilent 2100 Bioanalyser-rel, DNA 12000 Kit (Agilent Technologies, Waldbronn, Németország) alkalmazásával.

A DNS-fragmentum izolálása agaróz gélből, ligálás és *E. coli* plazmid transzformáció

Az agaróz gélből a megfelelő méretű fragmenteket GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit-tel (GE Healthcare, Amersham Biosciences) visszaizoláltuk, és pGEM®-T Easy Vector System-mel

(Promega) pGEM®-T Easy vektorba (3015 bp) építettük, majd *E. coli* DH5 α törzsbe transzformáltuk.

A kompetens *E. coli* DH5 α sejtek előállítása (Inoue et al. 1990)

Friss, 24 órás *E. coli* DH5 α tenyészetből oltókacs segítségével 250 ml SOB (Super Optimal Broth, **M5. melléklet**) tápoldatba oltottunk, majd 18 °C-on rázattuk (200-250 rpm), míg a minta OD₆₀₀ értéke elérte a 0,4-0,6-ot. Ezután a tenyészetet 10 percig jégen hűtöttük, és előhűtött centrifugációs csövekben 4000 rpm értéken, 4 °C-on centrifugáltuk 10 percig. A felülúszót leöntöttük, és a pelletet szuszpendáltuk 160 ml TB-oldatban, majd 10 percig jégen tartottuk. Ezután újra centrifugáltuk a sejteket, mint előzőleg, és a pelletet szuszpendáltuk 40 ml jéghideg TB-oldatban (**M5. melléklet**), amely 7% DMSO-t tartalmazott. A sejtsuszpenziót 200 μ l-enként előhűtött Eppendorf csövekbe adagoltuk. Az így előállított kompetens sejteket a felhasználásig -70 °C-on tároltuk.

A kompetens sejtek transzformálása plazmid DNS-sel (Inoue et al. 1990)

A pGEM®-T Easy Vector System-mel (Promega) végzett 10 μ l végtérfigatú ligálási reakció terméket hozzáadtuk a kompetens sejtsuszpenzióhoz és 30 percig jégen inkubáltuk. Ezután 1 percre 42 °C-os vízfürdőbe tettük, majd azonnal 2 percre jégre helyeztük. A sejteket 1 ml LB-oldathoz (**M5. melléklet**) adtuk, és 60 percig folyamatos rázatás mellett (200-250 rpm) növesztettük 37 °C-on, végül 100 μ l-enként szelektív táptalajra (LB_{Amp}, IPTG, X-Gal) szélesztettük. A beépített amplifikátum fragmentumok meglétét a transzformáns sejtekben kolónia-PCR-rel és agaróz gélelektroforézissel (1%-os agaróz gélen) ellenőriztük. A kolónia-PCR paraméterei megegyeztek a PCR-nél leírtakkal.

A plazmid DNS-izolálás és DNS nukleotid szekvencia-meghatározás

A lehetséges pozitív klónokból plazmid minipreparátumot tisztítottunk Wizard® Plus SV Minipreps DNA Purification System Kittel (Promega) a gyártó ajánlása szerint. A kinyert plazmidok nukleotid sorrendjének meghatározása a klónozó hely egyik oldaláról kiindulva T7 oligóval, a Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont (Gödöllő) DNS-szekvenáló és oligonukleotid szintetizáló laboratóriumában (Biomi Kft.), ABI PRISM 3100 (Applied Biosystems) típusú szekvenáló készülékkel történt. A szekvenálás eredményeként kapott kromatogram görbék elemzését és a szekvenciák javítását ChromasLite 2.01 (<http://www.techneysium.com.au/>) programmal végeztük. A javított szekvenciákat az NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) adatbázisban tárolt szekvenciákkal vetettük össze BLASTN kereséssel (Altschul et al. 1997).

4. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK

4.1. A magyarországi fenyvesekben felderített *Bursaphelenchus*-fajok azonosítása

4.1.1. A morfológiai határozás eredménye

A *Bursaphelenchus*-fajok felderítése céljából Magyarországon 2003 és 2012 között összesen 1356 helyszínen 1813 mintavétel történt. Kutatómunkám időszakában (2005-től 2011-ig) a vizsgálati helyek és a laboratóriumi határozásra begyűjtött minták száma évről évre emelkedett. A mintákban előforduló számos szaprofita fonálféreg mellett *Aphelenchoides* spp., *Laimaphelenchus* sp. és *Tylenchina* alrendbe tartozó fonálférgeket is azonosítottunk. A mintavételi és határozási eredményeket a 7. táblázat tartalmazza.

7. táblázat: A *Bursaphelenchus*-fajok országos felderítésének mintavételi adatai és határozási eredménye (2003-2012) (Tóth et al. 2012).

A vizsgálat éve	Vizsgálati helyek száma (db)		Mintasám (db)		<i>Bursaphelenchus</i> -fajokkal fertőzött minták száma (db) és az azonosított <i>Bursaphelenchus</i> -fajok
	Erdő ¹	Veszélykörzetben található erdő ¹	Erdő ¹	Veszélykörzetben található erdő ¹	
2003	71	0	123	0	0
2004	58	24	92	38	0
2005	69	19	120	22	0
2006	76	20	118	24	0
2007	114	33	149	51	0
2008	128	25	226	36	0
2009	140	30	267	38	6, <i>B. mucronatus</i> 3, <i>B. vallesianus</i>
2010	146	27	221	31	4, <i>B. mucronatus</i> 2, <i>B. vallesianus</i>
2011	121	22	140	25	4*, <i>B. mucronatus</i> **
2012	224	9	83	9	0**

Jelmagyarázat:

¹= lábon álló fa, illetve a területen depóban tárolt, egy évnél nem régebben kivágott vagy kidőlt fa

*= NÉBIH NTAI szóbeli közlése

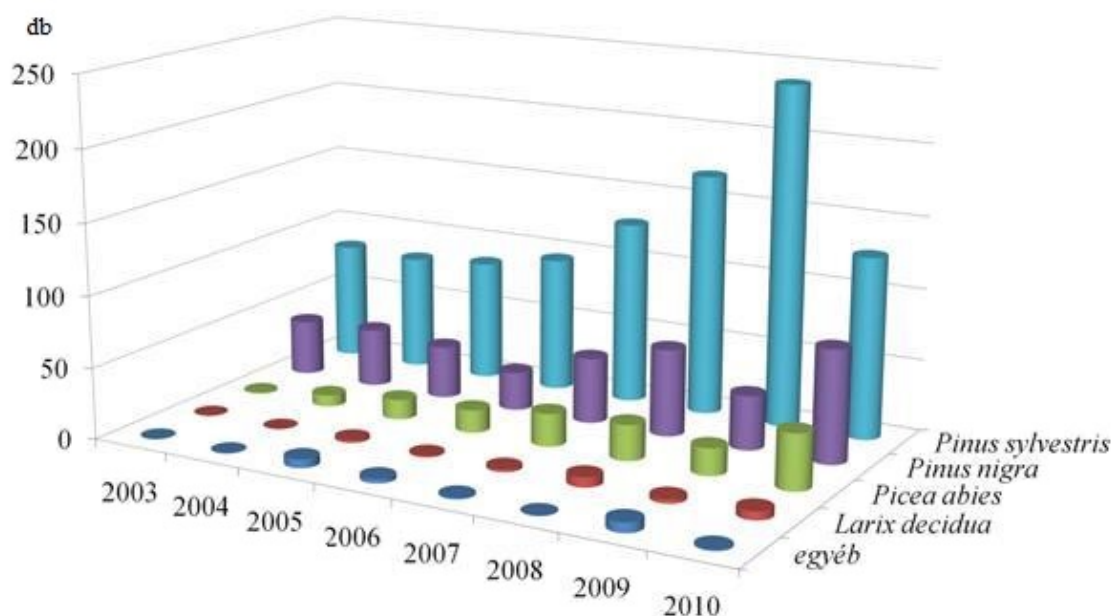
**= CIRCA közlés (CIRCA 2012, 2013)

Az országos hatósági felderítés során 2003-tól 2009-ig gyűjtött növénymintákból nem volt kimutatható *B. xylophilus*, illetve más európai *Bursaphelenchus*-faj. 2005-től mintavételi és fonálféreg-kinyerési eszközpark-fejlesztést hajtottunk végre, valamint elsősorban az abiotikus és

biotikus eredetű erdőkárosítási helyszínekre (erdőrészlet) koncentráltuk a terepi mintavételt, illetve meghatároztuk a mintázandó veszélyforrásokat. Évente újabb erdőrészleteket is mintáztunk.

A Nematológiai Laboratórium a 2009-ben erdőterületeken gyűjtött Veszprém megyei famintákból Magyarországon tűlevelűekből eddig még nem izolált *B. mucronatus*-t és egy, a magyar faunára új fajt, a *B. vallesianus*-t határozott meg. A gyűjtött fonálférgék preparálva, meghatározva és archiválva a NÉBIH NTAI Nematológiai Laboratóriumában elérhetők (Nematológiai Referencia Gyűjteménytár).

A 2003 és 2010 között mintázott fafajok arányát a **14. ábra** szemlélteti (Tóth et al. 2012).



14. ábra: A mintázott fafajok aránya (2003-2010) (Tóth et al. 2012).

Az országos felderítések mintázási adatai szerint 2009-ben a mintázott fafajok 76%-a *Pinus sylvestris*, 12%-a *P. nigra*, 6 %-a *Picea abies* volt. 2010-ben tűlevelű erdőkben 49% *P. sylvestris*, 31% *P. nigra*, 17% *P. abies*, 3% pedig *Larix decidua* fajokból származó faforgács mintát gyűjtöttünk. A veszélyeztetett körzetekben a mintázott fajok aránya 2010-ben a következő volt: 59% *P. sylvestris*, 32% *P. nigra*, 6% *P. abies*, 3% *P. strobus*.

A 2009 és 2010-ben kimutatott *Bursaphelenchus*-fajok lelőhely adatait és határozási eredményét a **8. táblázat** ismerteti.

8. táblázat: A Magyarországon első alkalommal kimutatott *Bursaphelenchus*-fajok lelőhelyei és határozási eredménye (2009-2010) (Tóth és Elekes 2011).

Mintavétel helye	Fafaj neve	Mintavétel időpontja	Fonálféreg egyedszám/100 g minta	BURSSP neve
Káptalanfa 22/B	<i>P. sylvestris</i>	2009.08.11	BURSSP: 30 000 Egyéb: 5000 <i>Rhabditidae</i>	<i>B. mucronatus</i>
Tótvázsony 9/B	<i>P. nigra</i>	2009.08.19	BURSSP: 40 Egyéb: <100 <i>Rhabditidae</i>	<i>B. vallesianus</i>
Káptalanfa 22/B	<i>P. sylvestris</i>	2009.09.28	BURSSP: 35 Egyéb: 0	<i>B. mucronatus</i>
Káptalanfa 22/B	<i>P. sylvestris</i>	2009.09.28	BURSSP: 3 Egyéb: 6 <i>Dorylaimidae</i>	<i>B. mucronatus</i>
Káptalanfa 22/B	<i>P. sylvestris</i>	2009.09.28	BURSSP: 20 Egyéb: 15 <i>Diplogaster</i>	<i>B. mucronatus</i>
Káptalanfa 22/B	<i>P. sylvestris</i>	2009.09.28	BURSSP: 360 Egyéb: 10 <i>Diplogaster</i>	<i>B. mucronatus</i>
Tótvázsony 9/B	<i>P. nigra</i>	2009.09.28	BURSSP: 30 Egyéb: 0	<i>B. vallesianus</i>
Tótvázsony 9/B	<i>P. nigra</i>	2009.09.28	BURSSP: <1000 Egyéb: 0	<i>B. vallesianus</i> <i>B. mucronatus</i>
Káptalanfa 22/B	<i>P. sylvestris</i>	2010.07.27	BURSSP: 320 Egyéb: 670 <i>Rhabditida</i>	<i>B. mucronatus</i>
Káptalanfa 22/B	<i>P. sylvestris</i>	2010.07.27	BURSSP: 150 Egyéb: 100 <i>Rhabditida</i>	<i>B. mucronatus</i>
Káptalanfa 22/B	<i>P. sylvestris</i>	2010.07.27	BURSSP: 160 Egyéb: 110 <i>Rhabditida</i> , <i>Plectus</i>	<i>B. mucronatus</i>
Devecser MÁV Rakodó	<i>P. sylvestris</i> <i>P. nigra</i>	2010.07.27	BURSSP: 4 db Egyéb: 16 db <i>Rhabditida</i>	<i>B. mucronatus</i>
Tata	<i>P. nigra</i>	2010.10.07	BURSSP: 100 Egyéb: <i>Laimaphelenchus</i> , <i>Panagrolaimus</i>	<i>B. vallesianus</i>
Csapod	<i>P. sylvestris</i>	2010.08.02	BURSSP: 120 Egyéb: 0	<i>B. vallesianus</i>

A Veszprém megyei minták egy részét a területileg illetékes Növény- és Talajvédelmi Igazgatóság (Nagy Krisztina és mtsai) gyűjtötte állami tulajdonú tűlevelű erdőkben (Bakonyerdő Erdészeti és Faipari Zrt. Devecseri Erdészet és HM VERGA Veszprémi Erdőgazdaság Zrt.), valamint a *Bursaphelenchus*-fajokkal fertőzött területeken és környékén ismételt mintázást végeztem 2009-ben a Nematológiai Laboratóriummal.

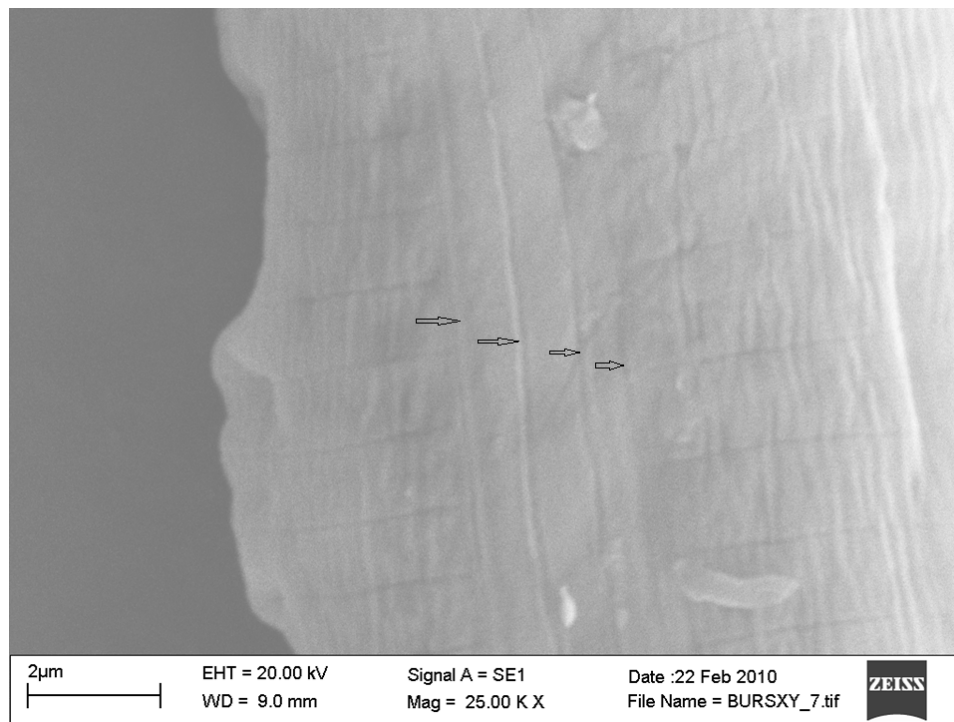
A Bakonyerdő Erdészeti és Faipari Zrt. kezelésében lévő nyugat-magyarországi **káptalanfai** lelőhelyen, *P. sylvestris* erdőben (6,5 ha összterületű, 40 éves fenyves), vihar által kidőlt fából gyűjtöttem mintákat, amelyeken a kékülést okozó gombák (*Ceratostomella*-fajok) tünetei is jól kivehetőek voltak a rovarkárosítás (*Scolitydae*, *Cerambycidae*) nyomai mellett. A kifuttatott mintából megközelítőleg 30 000, tehát tömeges mennyiségben jelen lévő *B. mucronatus* fonálféreg

egyedet azonosítottunk és mintegy 5000 *Rhabditidae* szaprofita fonálférget. A 2009. szeptember 28-án elvégzett ismételt mintavételkor e fertőzött fából és környezetéből begyűjtött *Pinus nigra* forgácsmintákból is kimutatható volt a *B. mucronatus*. A HM VERGA Veszprémi Erdőgazdaság Zrt. kezelésében lévő nyugat-magyarországi **tótvázsonyi** lelőhelyen, ugyancsak rovar- és gombfertőzés tüneteit mutató *P. nigra* fenyőből gyűjtöttem mintát (**15. ábra**). A mintából 40 *B. vallesianus* és több száz *Rhabditidae* szaprofita fonálférget identifikáltunk. A 2009. szeptemberi ismételt mintavételkor, ugyanezen erdőrészletből *B. mucronatus*-t határoztam meg, valamint a pusztuló, kiszáradt fenyők kérge alatt *Rhagium inquisitor* lárvát és imágót bábbölcsőben.



15. ábra: *A Bursaphelenchus vallesianus* lelőhelye a tótvázsonyi *Pinus nigra* ültetvényben
(Fotó: Tóth Á.).

A *B. vallesianus* a morfológiai csoportosítás (Braasch et al. 2004; Lange et al. 2007) szerint a *sexdentati*-csoport tagja, Ryss és mtsai (2005) pedig e fajok körét *piniperdae*-csoportnak nevezi. Mind a *xylophilus*-, mind a *sexdentati/piniperdae*-csoportnak jellemző diagnosztikai tulajdonsága a négy oldalvonal, három oldalmező megléte (**16. ábra**).

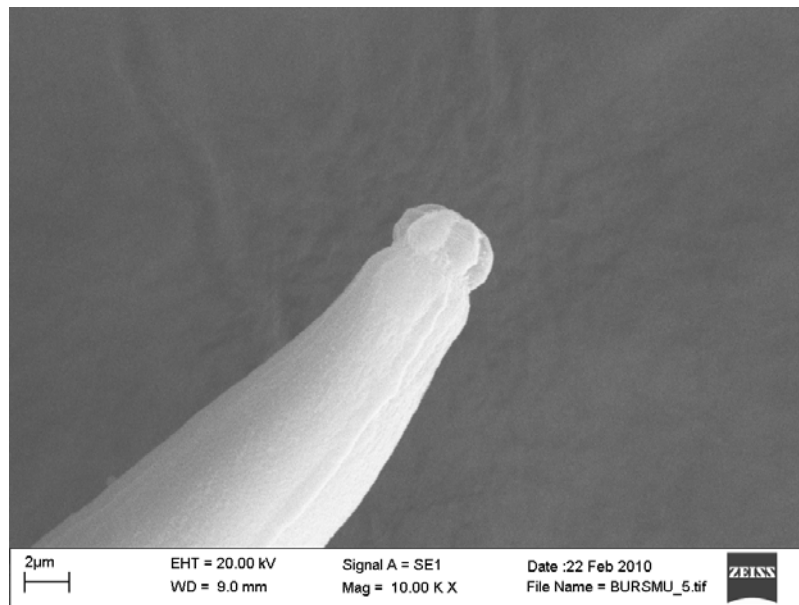


16. ábra: A *xylophilus*- és *sexdentati/piniperdae*-csoportokra jellemző négy oldalvonal *Bursaphelenchus xylophilus*-on (SEM felvétel).

A *xylophilus*-csoport fajainak jellemző bélyege a hím farok papilláinak száma és elhelyezkedése: egy páratlan preanális, egy pár adanális, egy vagy két pár posztanális papilla közvetlenül a bursa előtt. Erősen ívelt spiculum cucullus-sal, a capitulum a condylus és rostrum között. A vulvalebeny hosszú.

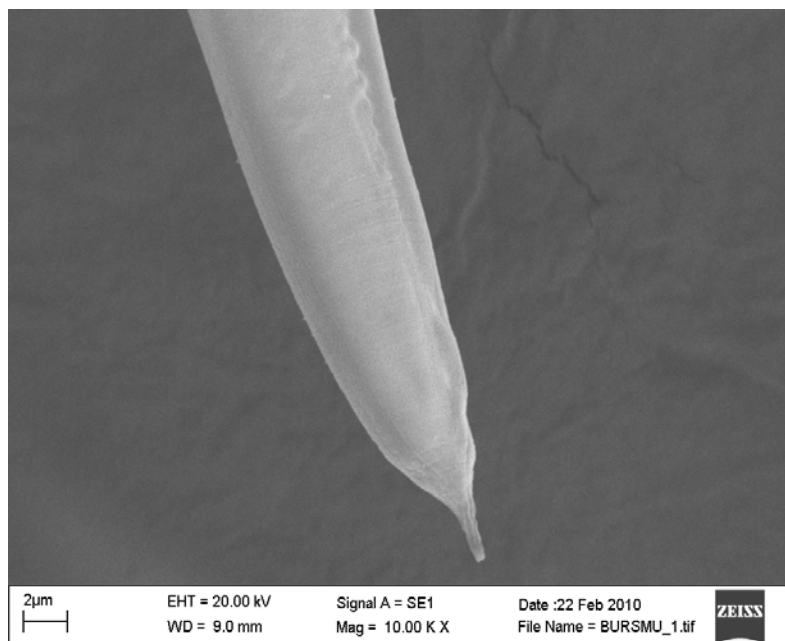
A *sexdentati/piniperdae*-csoport kaudális papillái: egy páratlan preanális, egy pár adanális, két pár posztanális papilla (egy a bursa előtt, egy a bursán). A spiculum zömök, a capitulum konkáv, a condylus megnyúlt, a lamina háti kontúrja egyenletesen ívelt vagy szögletes a felénél, cucullus általában van. A vulvalebeny kicsi, a vulvanyílás mögött a test kissé kidudorodik.

A *B. mucronatus* nőstény feji vége elkülönült, az ajkak gömbölyűek (**17. ábra**).



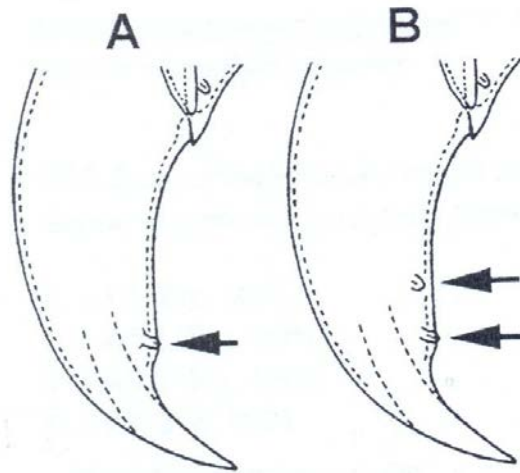
17. ábra: A *Bursaphelenchus mucronatus* (Káptalanfa) feji vége (SEM felvétel).

A *B. mucronatus* nőstény és lárva farki végén ujjyszerű nyúlvány, mucro található (**18. ábra**), míg a *B. xylophilus*-nál a fark többnyire szélesen lekerekített, vagy ha van mucro, akkor az kisebb.

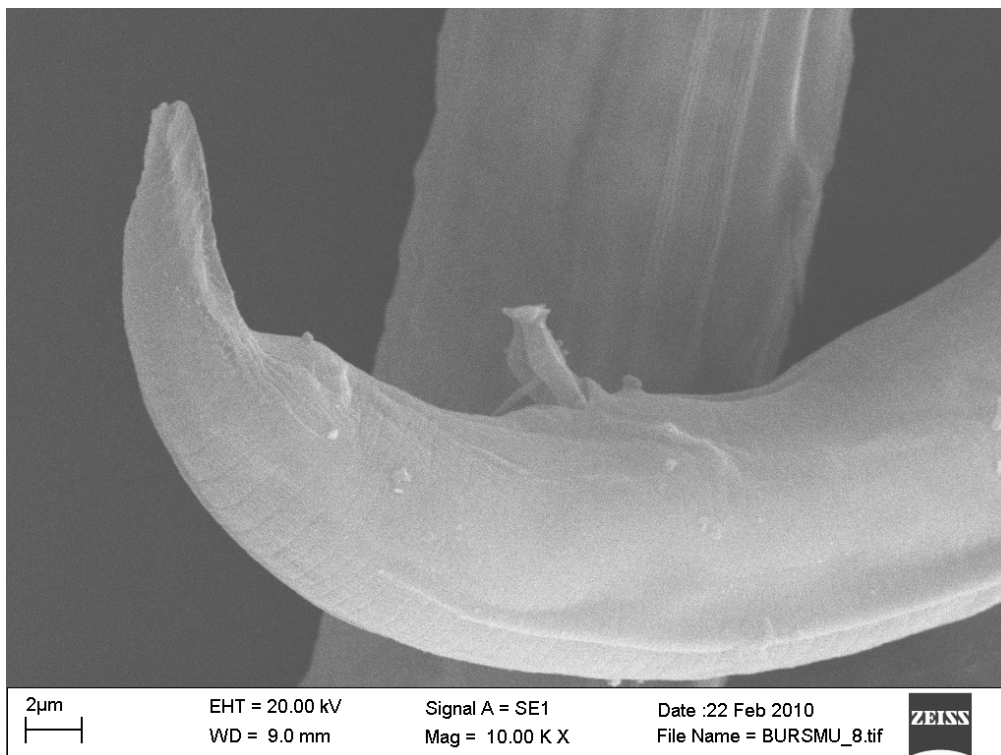


18. ábra: A *Bursaphelenchus mucronatus* (Káptalanfa) nőstény mucroban végződő fark rész (SEM felvétel).

A hím posztanális ivari papilláinak száma a *B. mucronatus*-nál egy pár, a *B. xylophilus*-nál kettő pár (19-20. ábra).

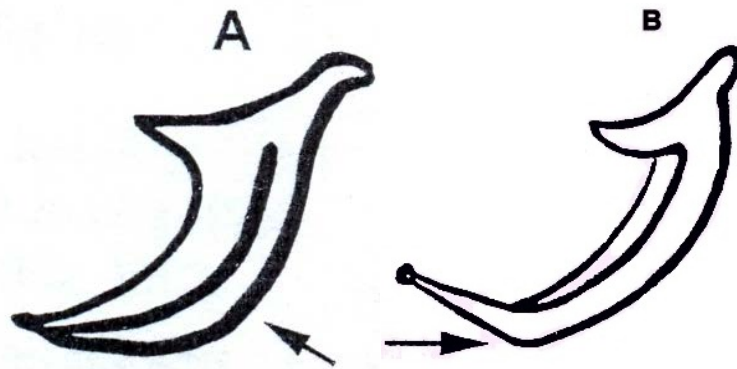


19. ábra: A hím posztanális papilla-párok száma. A:1; B:2. A: *Bursaphelenchus mucronatus*, B: *B. xylophilus* (Ryss et al. 2005).



20. ábra: A *Bursaphelenchus mucronatus* (Káptalanfa) hím farokvége a bursával, az ivari papillákkal és a cucullusban végződő spiculummal (SEM felvétel).

A spiculum test dorzális széle a *B. mucronatus*-nál egyenletesen ívelt, a *B. xylophilus*-nál az utolsó harmadban/negyedben szögletesen megtörik (**21. ábra**).



21. ábra: A spiculum test (lamina) dorzális íve. A: egyenletesen és szimmetrikusan ívelt; B: szögletes az utolsó harmadban vagy negyedben. A: *Bursaphelenchus mucronatus*, B: *B. xylophilus* (Ryss et al. 2005).

A spiculum fej (capitulum) mélységének és szélességének aránya (**22. ábra**) a *B. mucronatus*-nál 0,1-0,2, míg a *B. xylophilus* esetén 0,1, vagy annál kevesebb.



22. ábra: A capitulum mélységének és szélességének aránya. A: 0,1 vagy kisebb; B: 0,11-0,20. A: *Bursaphelenchus xylophilus*, B: *B. mucronatus* (Ryss et al. 2005).

A fark kúp alakú, a hasoldal felé hajlott, a spiculum cucullusban végződik (**23. ábra**).



23. ábra: *A Bursaphelenchus mucronatus* (Káptalanfa) hím farki vége spiculummal (Fotó: Tóth Á.).

A *B. vallesianus* nőstény ~0,6-1,0 mm hosszú, teste finoman gyűrűzött. A fej kiemelkedő, nyaki résszel különül el a mögötte lévő testrésztől. A szájszurony kicsi (11-15 µm), a szuronygombok hiányoznak, helyettük az alapi rész kissé megvastagodott. A szurony conusa a teljes szuronyhossz 43%-a. A kiválasztó szerv nyílása a középbulbusznál található. Az uterus hátulsó vakzsákja a vulva-anus távolság $\frac{1}{2}$ - $\frac{2}{3}$ részéig ér. Az elülső vulvaajak nyúlványa kicsi, a vulvanyílás mögött kis duzzanat látható (**24. ábra**).



24. ábra: *A Bursaphelenchus vallesianus* (Tótvázsony) nőstény vulvanyílása (Fotó: Tóth Á.).

A *B. vallesianus* farok kúp alakú, többé-kevésbé gömbölyített véggel. A hím teste C-alakban görbült. A spiculuma erősen ívelt, végén kis cucullus. A spiculumfej rostruma erős, hegyes, condylusa visszahajló.

A kimutatott két faj morfometriai adatait a **9. táblázat** tartalmazza.

9. táblázat: A *Bursaphelenchus mucronatus* és *B. vallesianus* morfometriai adatai.

Fajok	BURSMU	BURSA	BURSMU	BURSA
Jellemzők	Káptalanfa <i>P. sylvestris</i> 2009.08.11	Tótvázsony <i>P. nigra</i> 2009.08.19	Brzeski és Baujard, 1997 (n=29♂; n=46♀)	Braasch et al., 2004 (n=30)
Testhossz (mm) ♂	0,72	0,71	0,70 (0,48-1,03)	0,75 (0,51-1,05)
a	36,60	40,88	41,3 (24,5-56,0)	38 (22-48)
b	6,97	11,44	10,0 (6,6-14,7)	10 (7,8-14,1)
c	29,29	35,77	24,7 (14,6-35,6)	29 (20-37)
Szuronyhossz (µm)	12,5-15,0	12,5	13,4 (11,5-17,5)	13 (12-15)
Spiculum (µm)	25,70	17,5	25 (16-32)	16 (14-19)
Testhossz (mm) ♀	0,71	0,71	0,78 (0,56-1,05)	0,83 (0,57-1,08)
a	36,20	36,50	39,5 (25-51)	39 (30-47)
b	7,24	9,23	10,6 (6,1-15,9)	11 (9,1-12,99)
c	31,50	35,0	25,1 (16,9-35)	34 (26-43)
Szuronyhossz (µm)	13,75-15,0	11,25-13,75	13,8 (12-16)	13 (11-15)
Vulva %	76	74	73,2 (66-78)	73 (71-76)

A 2003-tól 2011-ig végzett magyarországi hatósági felderítéskor gyűjtött lehetséges vektor rovarokat a **10. táblázat** szemlélteti. A mintavételi időszakban a különböző rovarfejlődési alakok együtt fordultak elő, így laboratóriumi kinevelés nem történt. A legnagyobb egyedszámban *Monochamus galloprovincialis*, *M. sutor*, valamint *Rhagium inquisitor* egyedeket gyűjtöttünk. A rovarokat a vizsgálat erdőrészekben, elsősorban a mintázott faanyagon, farönkökön, farakásokon észleltük. A rovarcsapdázás nem volt általános és elterjedt rovargyűjtési módszer a felderítés kezdeti időszakában.

10. táblázat: A 2003 és 2011 között gyűjtött potenciális vektor rovarok.

Vektor rovar	Rovargyűjtés helyszíne
<i>Acanthocinus aedilis</i> (COLEOPTERA: Cerambycidae)	Csopak
<i>A. griseus</i> (COLEOPTERA: Cerambycidae)	Márkó
<i>Arhopalus rusticus</i> (COLEOPTERA: Cerambycidae)	Abaújalpár, Balassagyarmat, Buják, Csopak, Dejtár, Káld, Kisterenye, Kőszeg, Márkó, Nádasd, Nagybátöny, Romhány, Salgótarján
<i>Asemum striatum</i> (COLEOPTERA: Cerambycidae)	Káld, Kőszeg, Nádasd, Szentpéterfa, Vát
<i>Buprestis haemorrhoidalis</i> (COLEOPTERA: Buprestidae)	Cece
<i>Cerambyx scopolii</i> (COLEOPTERA: Cerambycidae)	Balassagyarmat
<i>Criocephalus rusticus</i> (COLEOPTERA: Cerambycidae)	Alsószentiván, Cece, Mór, Pusztavám
<i>Dorcadion aethiops</i> (COLEOPTERA: Cerambycidae)	Balassagyarmat, Becske, Bercel, Borsosberény, Cered, Csesztve, Litke, Kisterenye, Nagylóc, Magyarnándor, Nyírjes, Mátraverebély, Patak, Salgótarján, Sámsonháza, Zabar
<i>D. pedestre</i> (COLEOPTERA: Cerambycidae)	Bercel, Borsosberény, Zabar
<i>Hylobius abietis</i> (COLEOPTERA: Curculionidae)	Salgótarján
<i>Hylotrupes bajulus</i> (COLEOPTERA: Cerambycidae)	Alsószentiván, Becske, Bercel, Buják, Cece, Csákberény, Csákvár, Csengele, Kisterenye, Látrány, Márkó, Patak, Pusztavám, Romhány, Sáska
<i>Leptura rubra</i> (COLEOPTERA: Cerambycidae)	Buják
<i>Monochamus galloprovincialis</i> ssp. <i>pistor</i> (COLEOPTERA: Cerambycidae)	Csákvár, Csopak, Kőszeg: Alsó-erdő, Kőszegi-hegység: Vöröskereszt rakodó, Bozsok-rakodó
<i>M. sutor</i> (COLEOPTERA: Cerambycidae)	Kács, Kőszegi-hegység: Vöröskereszt rakodó, Bozsok-rakodó
<i>Nivellia sanguinosa</i> (COLEOPTERA: Cerambycidae)	Balassagyarmat, Bercel, Kisterenye, Mátramindszent, Mihálygerge, Nagybátöny, Nagylóc, Nyírjes, Patak, Szirák
<i>Prionus coriarius</i> (COLEOPTERA: Cerambycidae)	Patak
<i>Rhagium bifasciatum</i> (COLEOPTERA: Cerambycidae)	Kőszeg, Nagylóc, Szentpéterfa
<i>R. inquisitor</i> (COLEOPTERA: Cerambycidae)	Alsószentiván, Cece, Csákánydoroszló, Csákberény, Diósjenő, Káld, Kemence Kőszeg, Nagylóc, Pusztavám, Mór, Nádasd, Salgótarján, Szentpéterfa, Tótvázsony, Vát, Vitnyéd
<i>Rutpela maculata</i> (COLEOPTERA: Cerambycidae)	Balassagyarmat, Bercel, Nyírjes, Patak, Szirák, Zabar
<i>Spondylis buprestoides</i> (COLEOPTERA: Cerambycidae)	Abaújszántó, Alsószentiván, Bercel, Csákánydoroszló, Csopak, Káld, Kőszeg, Pusztavám, Nádasd, Salgótarján, Szentpéterfa, Vát
<i>Strangalia melanura</i> (COLEOPTERA: Cerambycidae)	Balassagyarmat, Bátorfaterenye, Nagylóc, Nyírjes
<i>Uleiota planata</i> (COLEOPTERA: Silvanidae)	Kács, Tibolddaróc

Magyarországon korábban külföldi kutatók lomblevelű fából hím és nőstény *B. mucronatus* fonálférget azonosítottak (Nematol GIS System; <http://nematol.unh.edu/GIS/index.php>) Tass és Szalkszentmárton közötti területen. 2009-ben a helyszínhez megadott GPS-koordináták által jelölt zónában a *Bursaphelenchus*-genus tápnövényeit nem találtuk meg, így a *B. mucronatus* korábban publikált jelenléte az adott területen nem volt megerősíthető.

A *B. xylophilus*-hoz morfológiai és biológiai szempontból rendkívül hasonló *B. mucronatus* az Európában honos fenyőféléken nem idéz elő fapusztulást, ám európai jelenléte a fenyőrontó fonálféreg hazai betelepülésének lehetőségét jelzi.

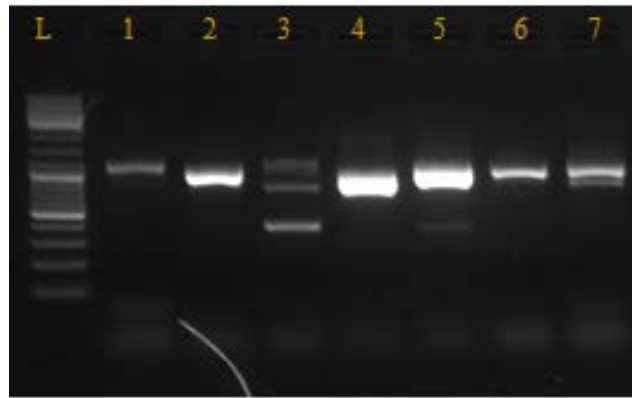
Schauer-Blume és Sturhan 1989-ben *B. fraudulentus*-t detektált *Quercus petraea*-n Sopronban, melynek izolátumát használta fel molekuláris vizsgálatában.

4.1.2. A molekuláris azonosítás eredménye

Feltárás, DNS-izolálás és PCR

A DNS-izolálás első lépéseként a sejtek feltárására több módszert kipróbáltunk, kiindulásként 30 fonálféreg egyedét használva. Az *Anyag és módszer* fejezet a) illetve b) pontjában alkalmazott feltárás igen nehezen reprodukálható eredményt adott. A sejtfeltárás sikerességétől függően a fenol-kloroformos lépés beiktatása sem volt mindig eredményes. A fonálférgek sejtjeinek feltárására használt CTAB (hexadeciltrimetil-ammónium-bromid) alapú módszer már sokkal több sikeres feltárást eredményezett.

A Roche kittel végzett nukleinsav tisztítással a korábban említett módszerekhez képest a legjobb eredményt kaptuk, de itt is a megfelelő feltárású minta adta csak a PCR-reakciókat. Ezért lízis modifikációt végeztük Burgermeister et al. (2009) ajánlása alapján. A feltárás sikerességétől függően, de minden esetben a várt méretnek megfelelő (900-1100 bp) amplifikátumokat kaptuk a PCR-reakciók során. Ugyanakkor egy esetben megfigyelhető volt – *BURSXY-Pt-1* minta –, hogy a vártnál több amplifikátum is keletkezett (25. ábra).



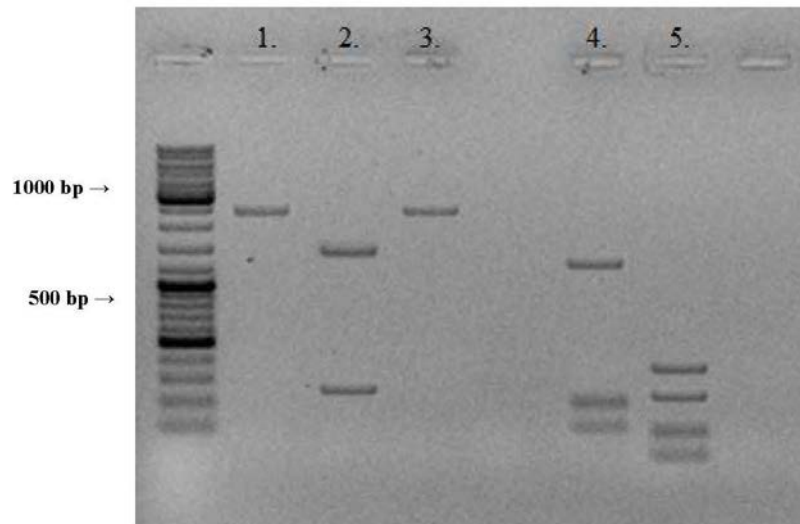
25. ábra: A különböző mennyiségű (5,10,30) kontroll *Bursaphelenchus fraudulentus* (BURSFRA-Pt-3), *B. mucronatus* (BURSMU-Pt-2), *B. xylophilus* (BURSXY-Pt-1) PCR vizsgálata F194+1-5368-1 primer párral és Roche kit használatával történő DNS-izolálás után.

Jelölések: L: Marker 1: 5 *B. xylophilus* 2: 10 *B. xylophilus* 3: 30 *B. xylophilus* 4: 30 *B. mucronatus*, 5: 30 *B. fraudulentus* 6: 10 *B. mucronatus* 7: 10 *B. mucronatus*; DNS-izolálás Roche kittel, feltárás a Burgermeister és mtsai (2009) közlemény alapján.

Többnyire a kis egyedszámú fonálféreg minták mutattak tisztább képet. A 30 egyedet tartalmazó PCR vizsgálatnál gyakran tapasztaltunk plusz amplifikátumot, mely a primer nem teljes mértékű specifikusságára utal, illetve azt feltételezzük, hogy több egyed esetén növekszik a fajon belüli mikroheterogenitás valószínűsége.

Az ITS-szekvencia mikroheterogenitást már több *Bursaphelenchus*-faj esetén megállapították, így Burgermeister és mtsai (2009) a *B. corneolus*, a *B. lini* és *B. singaporensis* fajoknál, Lange et al. (2007) a *B. sexdentati*, valamint Kanzaki és mtsai (2008a) a *B. doui* fajoknál.

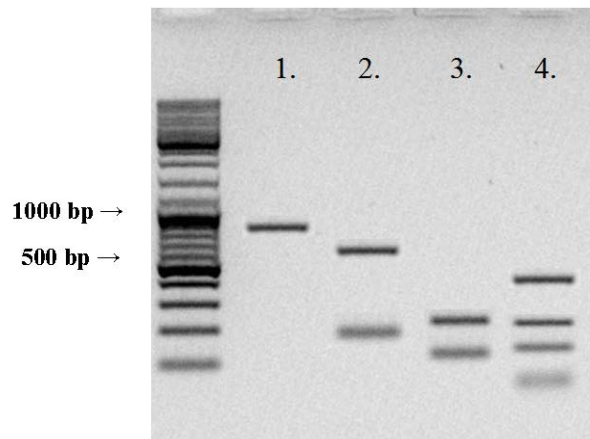
Az összehasonlító tiszta tenyészetből származó fajok (BURSXY-Pt-1, BURSMU-Pt-2, BURSFRA-Pt-3) F194+1-5368-1 primer párral történő, PCR segítségével amplifikált, megfelelő méretű termékeinek három restrikciós enzimmel történő emésztési képét mutatják a **26-28. ábrák**. A **26. ábrán** jól látszik, hogy az F194+1-5368-1 primer párral végzett PCR-reakció kivitelezése után, a termék *AluI* enzimmel történő emésztésekor két kisebb DNS keletkezik 250, illetve 1200 bp körüli méretben. *HaeIII* és *HinfI* emésztésekor három, négy kisebb méretű DNS-szakasz keletkezik, melyek eltérő méretűek, és a várt, szakirodalomban publikált eredményekkel megegyezők.



26. ábra: A kontroll *Bursaphelenchus mucronatus* (BURSMU-Pt-2) ITS-RFLP mintázata az F194+1-5368-1 primer párral. **1, 3:** PCR-termék futtatása. **2:** Emésztés *AluI* enzimmel. **4:** Emésztés *HaeIII*. **5:** Emésztés *HinfI* enzimmel.

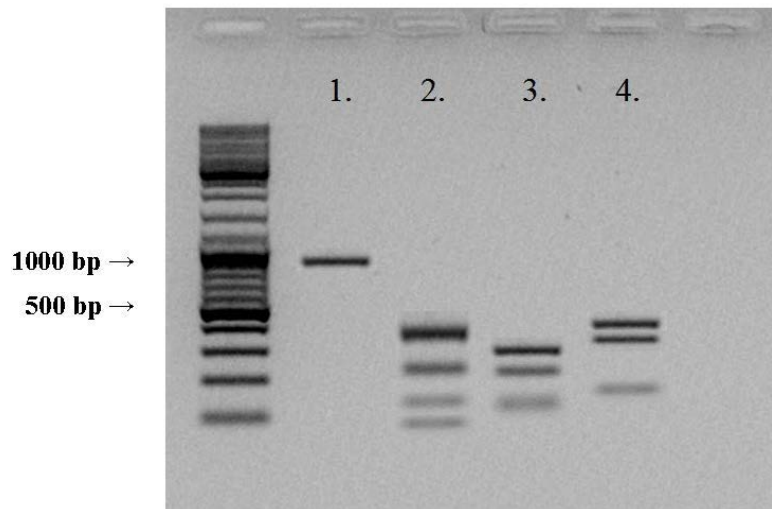
Megjegyzés: **1:** ~900 bp **2:** ~650 bp és ~250 bp **3:** ~900 bp **4:** ~600 bp, ~200 bp és ~100 bp **5:** ~400 bp, ~250 bp, ~100 bp és ~50 bp

A szakirodalomban közölt primer kombinációkat (**6. táblázat**) tesztelve a legmegbízhatóbb és leginkább reprodukálható eredményeket az F194+1-5368-1 primer párral végzett PCR eredményezte (**26-28. ábra**).



27. ábra: A kontroll *Bursaphelenchus xylophilus* (BURSXY-Pt-1) ITS-RFLP mintázata az F194+1-5368-1 primer párral végzett PCR-reakciója alapján. **1:** PCR-termék futtatása. **2:** Emésztés *HaeIII* enzimmel. **3:** Emésztés *HinfI* enzimmel. **4:** Emésztés *AluI* enzimmel.

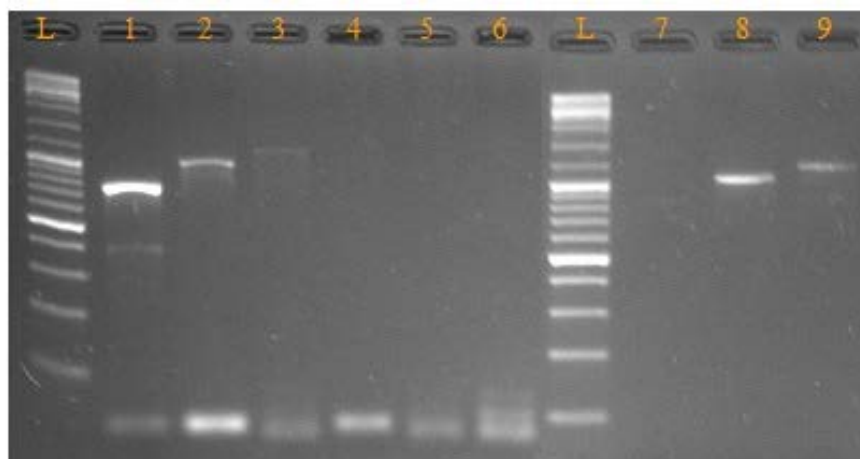
Megjegyzés: **1:** ~900 bp **2:** ~750 bp és ~200 bp **3:** ~250 bp és ~150 bp **4:** ~450 bp, ~250 bp, 150 bp és ~100 bp.



28. ábra: A kontroll *Bursaphelenchus fraudulentus* (BURSFRA-Pt-3) ITS-RFLP mintázata az F194+1-5368-1 primer párral. 1: PCR-termék futtatása. 2: Emésztés HaeIII enzimmel. 3: Emésztés HinfI enzimmel. 4: Emésztés AluI enzimmel.

Megjegyzés: 1: ~1000 bp, 2: ~350 bp, ~250 bp, ~150 bp és ~100 bp 3: ~300 bp, ~250 bp és ~150 bp 4: ~450 bp, ~400 bp és 180 bp

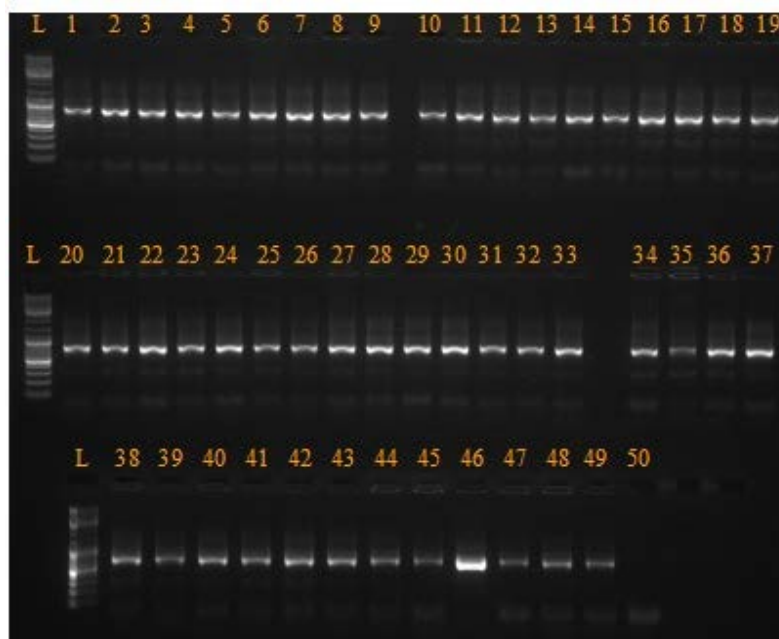
A kontroll *Bursaphelenchus*-fajok mellett a természetes közegből származó minták közül választottunk ki néhányat (GY5, GY421, Gy425, Sz458, Sz463 mintajelölések) és PCR-reakciót végeztünk a Roche kittel végzett DNS-izolálás és módosított lízist után (29. ábra).



29. ábra: A GY5(1), GY421(2), Gy425(3), Sz458(4), Sz463(5), negatív kontroll(6) minták PCR mintázata az F194+1-5368-1 primer párral (1.6 csatornában), az amplifikátumok visszaizolálása után (1-8,2- 9).

Néhány növényi minta (GY5, GY421) PCR-vizsgálatakor plusz amplifikátumok jelentek meg, kevésbé adott tiszta mintázatot a kontroll fajokhoz képest. Mindez igen megnehezítette a pontos besorolást.

A végső rendszertani megerősítést az amplifikátum klónozása után kaphatjuk a klónozott fragmentumok PCR-tesztelésével (**30 ábra**).



30. ábra: A klónozott fragmentumok tesztelése PCR-rel, F194+1-5368-1 primer párral.

4.2. A különböző molekuláris eljárások adaptálása és összehasonlítása

A legmegbízhatóbb eredményt, a Roche kit segítségével végzett nukleinsav-tisztítás, illetve a Burgermeister és mtsai (2009) közleménye alapján alkalmazott lízis modifikáció adta.

Az F194+5368 primer pár alkalmazásakor gyakran csak a klónozás után derült ki, hogy az oligonukleotid nem volt eléggé specifikus, ezért nem javasoljuk használatát. Így például a klónozás és szekvenáltatás után 89% azonosságú AY969639.1 Uncultured basidiomycete isolate M177664.1 Uncultured compost fungust (fonálféreg-táptalajjal bevitt véletlen gombafertőzés) kaptunk.

Az F194+1-5368-1 primer párral végzett PCR esetén sokkal megbízhatóbb eredményekről tudunk beszámolni, ezek az indítószekvenciák valamennyi mintánál megfelelő terméket adtak. A K1f+K2r primer kombináció nem működött, nem adott minden esetben értékelhető eredményt, mintázatot. Ha a negatív eredményt adó DNS-mintát újra lefuttattuk a F194+1-5368-1 primer párral, akkor a megfelelő méretű fragmentumok megjelentek.

A kapott mintázatok jól reprodukálhatók, azonban a PCR-RFLP-analízis diszkriminációs képességét jelentősen befolyásolja az alkalmazott restrikciós enzimek specifikussága és száma. A

PCR-RFLP-kép kialakításakor több enzim használata ajánlott. Vizsgálatainkban az *AluI*, *HinfI* és *HaeIII* enzimek használatakor, a *HaeIII* enzim esetén ITS-szekvencia mikroheterogenitást tapasztaltunk, mely megnehezítette az eredmények értékelését. A fajon belüli mikroheterogenitás több fonálféreg egyedet tartalmazó minták esetén volt jellemző.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

5.1. Az alkalmazott magyarországi felderítés

A vizsgált időszakban a *B. xylophilus* felderítésére vonatkozó nemzetközi protokoll követelményeit Magyarország teljesítette.

A kimutatott *B. mucronatus*, *B. vallesianus* és a *Monochamus* vektorok magyarországi jelenléte, a hazai telepített fenyvesek növény-egészségügyi állapota, a viharkárok okozta fakidölések, a melegedő éghajlat, a külföldi eredetű fa csomagolóanyagok, és így a vektor rovarok vándorlása annak a valószínűségét növeli, hogy a *B. xylophilus* Magyarországra bekerül és számára kedvező életfeltételeket talál. E zárlati károsító természetes továbbterjedése, valamint fa- és csomagolóanyagokkal történő nagyfokú behurcolási veszélyessége miatt szükséges a hazai felderítések fokozott figyelemmel történő végrehajtása. Az eredményesség (károsító-mentesség fenntartása) érdekében kellő számú – évente legalább 170-200 ellenőrzési helyszín – országos szemle, mintavétel tervezése és elvégzése szükséges Magyarországon, az erdészeti hatóság közreműködésével. A felderítéskor túlevelű erdőkben feltétlenül indokolt elvégezni a vektor rovarok csapdázását is, amely eddig a vizsgált időszakban csak esetleges volt (főleg egyedi rovargyűjtés történt).

A *B. xylophilus* kártétele ellen egyetlen védekezési mód egyelőre a megelőzés, a rovarcsapdázás, a korai észlelés. Ahol jelenléte bizonyított, ott a legszigorúbb zárlati intézkedések lépnek életbe, vagyis a hatóság a fertőzési helytől számított több száz méter sugarú körben a túlevelűek totális megsemmisítését rendeli el.

A környező országok közül Csehország és Románia tett közzé részletes felderítési adatokat. Csehország teljes erdőterületének mintegy 74%-a (1,91 millió ha) Románia erdőterületének pedig közel 31%-a (1,95 millió ha) túlevelű.

Csehország területén a felderítési monitoring bevezetésétől (2006), a növényi mintákból *B. eremus* (Rühm, 1956), *B. pinophilus* (Brzeski és Baujard, 1997) és *B. vallesianus* fajokat azonosítottak (Čermák et al. 2013). *B. borealis* dauer lárvákat izolálták *Picea abies*-ről gyűjtött *Dryocoetes autographus*, valamint *B. pinophilus* juvenileket *P. sylvestris* törzséről begyűjtött *Pityogenes bidentatus* rovarokból. 2006 előtt még további három *Bursaphelenchus*-fajt írtak le túlevelűekből, ezek: *B. fungivorus*, *B. mucronatus* és *B. hofmanni* (Braasch, 1998; Braasch és Burgermeister 2007). Csehországban öt *Monochamus*-faj előfordulásáról számoltak be, ezek: *M. galloprovincialis*, *M. saltuarius*, *M. sartor*, *M. sutor* és *M. urussovii* (Sláma 1998).

Romániában a 2006 és 2012 között végrehajtott felderítési periódusban az alábbi *Bursaphelenchus*-fajokat azonosították: *B. hofmanni*, *B. poligraphi* (Fuchs, 1937), *B. vallesianus*, *B. willibaldi* (Schönfeld, Braasch és Burgermeister, 2006) (Calin et al. 2013). *B. hofmanni* a

leggyakrabban előforduló *Bursaphelenchus* a román túlevelűekben. 2006 előtt *M. galloprovincialis*, *M. sartor*, *M. saltuarius* és *M. sutor* előfordulásáról számoltak be (Ruicănescu 2007).

Az őshonos túlevelű fafajokban gazdag szomszédos országok (Csehország, Románia) felderítési rendszerében 2006-tól végrehajtott növényi mintázás során a magyarországi mintaszámokkal közel megegyező mennyiségű mintát gyűjtöttek.

A *Monochamus*-fajok másodlagos erdei kártevők, főként legyengült vagy pusztuló fákon élnek (Evans et al. 2004). Felderítésük kiemelt fontosságú, mert világszerte a *B. xylophilus* fő terjesztői (Akbulut és Stamps 2012). A magyarországi *Bursaphelenchus*-genus teljes faji változatosságának és eloszlásának meghatározása érdekében indokolt a vektor rovarok mintaszámainak növelése és azok nematológiai vizsgálata.

5.2. Az azonosítási módszerek alkalmazhatósága és megbízhatósága

A *Bursaphelenchus*-fonálférgek fajsztintú meghatározása nem minden esetben lehetséges morfológiai, morfometriai vizsgálatokkal. Az alaktani vizsgálatok kiegészítésére, illetve megerősítésére a DNS-alapú molekuláris technikák közül legeredményesebb az ITS-RFLP-eljárás.

A vizsgálathoz a szakirodalom többféle specifikus primert javasol. Az elemzéseket a **6. táblázatban** feltüntetett primerekkel végeztük el. Bizonyos primer pár nem teljesen specifikus, pl. a mintában lévő gombaképleteket is felszaporította a nagy tisztasági fokú Roche kit DNS-izolálás után is. A hatósági diagnosztikai protokoll (EPPO 2013a) a Burgermeister-féle leírások (2005, 2009) használatát javasolja az EPPO-régióban. Megállapítottuk, hogy a primerek közül az F194+1-5368-1 primer pár optimális. A leginkább specifikusnak jellemzett K1f igen gyakran nem adott amplifikátumot, illetve nem volt megismételhető az eredmény. A legkorábbi (1993) primer kombináció pedig nem bizonyult elég specifikusnak, *Basidiomycetes*, illetve más gombák riboszomális egységeinek felszaporítását idézte elő.

Az elvégzett vizsgálatok alapján megállapítható, hogy a rendelkezésre álló hazai, valamint a portugál kontroll minták vizsgálata a nemzetközi hatósági protokollban javasolt molekuláris eljárással (PCR-RFLP-analízis) megfelelőnek tűnik, de nagyon fontos az alkalmazandó primer, illetve restrikciós endonukleáz meghatározása.

A nem kontroll fajok molekuláris azonosítása nem volt ilyen sikeres. Ezek PCR-vizsgálatakor plusz amplifikátumok jelentek meg. Ezért a Burgermeister és mtsai (2009) által publikált és leginkább elfogadott PCR-RFLP-eljárást elsősorban a klasszikus mikroszkópos identifikáció pozitív vagy kétséges eredményeinek megerősítésekor érdemes használni a rutin diagnosztikában.

Fontos azt is hangsúlyozni, hogy nem szükséges a szakirodalomban gyakran használt öt enzim mindegyikének tesztelése, hanem elegendő három enzim kiválasztása és tesztelése.

Megállapítható továbbá, hogy nagyobb egyedszám esetén gyakran jelentős eltérés volt a PCR-termék mérete, illetve az RFLP-kép alapján számított méret között. Erre a jelenségre már Burgermeister és mtsai (2009) is felhívták a figyelmet, de tapasztalataink szerint természetes közegből származó minták esetén ez az arány igen jelentősen megnőtt, megnehezítve az eredmények értékelését. A méretbeli eltérés valószínűleg a szekvenciában tapasztalható mikroheterogenitásnak köszönhető.

5.3. Javaslatok

A felderítéshez kapcsolódó *Bursaphelenchus*-fajokat terjesztő rovarok intenzívebb erdészeti vizsgálata érdekében javasolt a *Monochamus*-fajok monitorozásának bevezetése elterjedési területükön. Azokon az erdészeti területeken, ahol a fonálféreg vektorai nem fordulnak elő, ott a *Bursaphelenchus* nem képes terjedni, még akkor sem, ha fertőzött faanyaggal (pl. fa csomagolóanyag) behurcolták. A fenyőrontó fonálféreg elleni védekezési stratégia kidolgozását nehezíti, hogy a Magyarország területén leírt *Monochamus*-fajok jelen időszakban való elterjedési területéről és populációsűrűségéről nincs aktuális közölt adat.

A *Monochamus*-fajok tömeges csapdázására kifejlesztett genus-, vagy fajspecifikus attraktánst vagy feromont tartalmazó csalétek jelenleg nincs kereskedelmi forgalomban (Makina et al. 1978; Ikeda et al. 1981; Nakamura 2008). Mindazonáltal, monitoring célra rendelkezésre álló csapdák és csalétek is megfelelőek (Nakamura 2008). Egyik csapdázási lehetőség a kereskedelmi forgalomban (pl. Phero Tech) is kapható Lindgren-tölcsércsapda (**31. ábra**).



31. ábra: Lindgren-tölcsércsapdák (Fotók: Sikes 2013, Evans 2010).

A csapda működési elve: a rovarok kémiai kommunikációja céljára szolgáló anyagok (szintetikus szemiokemikáliák) alkalmazása a rovarok összegyűjtésére.

Az ismert magyarországi *Monochamus* előfordulási helyeken a csapdaelhelyezés helyszínének kiválasztásakor ajánlott figyelembe venni, hogy e fajok az erdőtüzeket követő évben rendszerint az elsőként betelepülő rovarok közé tartoznak. Az imágókat vonzzák a fiziológiailag legyengült fák (szél- vagy erdőtüzkár). Azok a növények is kedvelt tojásrakási helyek, amelyek már egyéb rovarfajokkal fertőzöttek, valamint a frissen kivágott fák és azok zöld vágási hulladékai (Hellriegl 1971; Schwenke 1974). A növénytpusztulást követő 6-12 hónapon belül érdemes a kivágott vagy elpusztult fát mintázni. Az ilyen területeken álló és kivágott fák rovarcsapdázása attraktáns csalétektartalmú (ipsenol, alpha pine lure, ethanol lure) csapdatestek kihelyezésével javasolt. Szintén javasolt a bogarak repülési időszakában a kivágott fák fogófaként (csapdázásra használt farönk) történő felhasználása. Ha ősszel szállítják a farönköt a laboratóriumba, ezzel felgyorsítható a bogarak fejlődése. Így több héttel előbb kirepülnek, mint természetes körülmények között (Schönfeld et al. 2008).

A vektorokból történő fonálféreg-izolálás érdekében a rovarokat vágjuk és összezúzzuk, ezután vízben vagy Baermann-tölcséres eljárással, 24-48 órán át 24 °C-on tartva a fonálféreg dauerlárvákat elhagyják a rovarok testét (Mamiya és Enda 1972; Bowers et al. 1992; Sousa et al. 2001). A fajhatározás érdekében a dauerlárvákat táptalajon (burgonya-dextróz agaron tenyésztett *Botrytis cinerea*) tenésztethetők.

Az utóbbi fél évszázadban a magyarországi erdőkben bekövetkező biotikus és abiotikus károk trendje növekvő. Amennyiben a klímaváltozásra vonatkozó előrejelzések akár csak részben is igazolódnak, akkor a behurcolt és inváziós fajok növekvő mértékű károkat fognak okozni (Csóka 2011). Európához hasonlóan a magyarországi erdőkben is nagy veszélyt jelent a károsítók és kórokozók gyorsuló ütemű globalizációja. A klímaváltozás várható negatív ökológiai hatásai komoly veszélyt jelenthetnek az erdőgazdálkodásra. Magyarországon a mono- és oligofág jövevény károsító fajok zöme a *Picea*- és *Pinus*-nemzetségeken jelent meg (Csóka et al. 2012).

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

A 2003-tól országosan és rendszeresen végzett szemle és az ahhoz minden esetben kapcsolódó diagnosztikai munka a *B. mucronatus* és *B. vallesianus* első hazai kimutatását eredményezte, információt szolgáltatva arra nézve is, hogy mely területeken szükséges intenzívebbé tenni a felderítési munkát. Ez a felderítési és diagnosztikai munka bizonyította, hogy Magyarországon 2013-ig a zárlati státuszú fenyőrontó fonálféreg nem fordult elő (Tóth és Elekes 2013).

- A magyarországi faunára nézve új fajt, a *B. vallesianus*-t mutattam ki.
- A Magyarországon tűlevelűekből eddig még nem izolált *B. mucronatus*-t mutattam ki. Ez a faj tűlevelűekben – mint új tápnövényben – újdonság Magyarországon. Kizárólag közvetett bizonyíték van a korábbi előfordulásra. Nincs olyan közlemény, amely a megtalálóját és/vagy az első hazai előfordulását tárgyalná. A szakirodalom (Nematol GIS System adatbázis; Nematol Specimens Geographic Distribution) PCR vizsgálati anyagként tünteti fel.
- Megállapítottam, hogy a *Bursaphelenchus*-fonálféreg morfológiai bélyegek alapján történő meghatározásának csak kiegészítő eleme lehet a 2013-ban megjelent EPPO Diagnosztikai Protokollban (PM 7/4 (3)) ajánlott molekuláris módszer.
- Kimutattam, hogy a növénymintákból kinyert fonálféreg molekuláris vizsgálatok az eredményességet leginkább a lízis módszerének megválasztása befolyásolja. PDA-táptalajon fenntartott tiszta fonálféreg-tenyészetnél a lízis módszere nem kritikus pont.
- A *Bursaphelenchus*-fajok elkülönítésére a F194+1-5368-1 primer párral végzett PCR-reakció után az RFLP-analízis elvégzése legalább három enzimmel (*AluI*, *HinfI*, *HaeIII*) szükséges.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A *B. xylophilus* fonálféreg világszerte a tűlevelű növények egyik legfontosabb kártevője. Kutatómunkám során célul tűztem ki, hogy részletes adatokat adjak a *Bursaphelenchus*-fajok nemzetközi felderítési protokolljának magyarországi bevezetéséhez, a laboratóriumi kimutatási és azonosítási módszereinek adaptálásához. A magyarországi felderítési protokollt nemzetközi szabványok, útmutatók, valamint Schröder és mtsai (2009) tanulmánya alapján dolgoztuk ki.

A fonálféreg kimutatását és azonosítását a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal, Növény-, Talaj- és Agrárkörnyezet-védelmi Igazgatóság Nematológiai Laboratóriumában, valamint a Szent István Egyetem Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar Növényvédelmi Intézetének Mikrobiológiai és Környezettóxicológiai Laboratóriumában végeztem.

A világon eddig leírt *Bursaphelenchus*-fajok azonosítására a szakirodalom a morfológiai elemzés mellett többnyire az ITS-RFLP molekuláris technikát említi. Az eljárás magas szintű szakértelmet igényel, különösen a PWNSC-fajok, mint például a *B. xylophilus* és *B. mucronatus* esetében. A fenyőrontó fonálféreg azonosítására az EPPO diagnosztikai protokoll az ITS-RFLP PCR módszert (Burgermeister et al. 2009), a szatellit-DNS alapú PCR technikát (Castagnone et al. 2005) és a valós idejű PCR (François et al. 2007) eljárást javasolja az EPPO-régióban.

E kutatás eredményei alapján megállapítható, hogy a *Bursaphelenchus*-fajok pontos azonosításához (diagnózis és fajleírás) a módszerek kombinálása szükséges. A morfológiai és morfometriai jellemzők vizsgálatával kapott eredmények megerősítésére javasolt módszer az ITS-RFLP-mintázatok molekuláris analízise.

A fajok elkülönítésére a molekuláris azonosítási módszer javasolható abban az esetben, ha nincs a morfológiai határozásban képzett nematológus, de ekkor is szükséges az eredmények megerősítése egy másik módszerrel. Az NCBI-adatbázisban lévő információk bővülése, valamint új, specifikus primerek tervezése és alkalmazása után valószínűleg elégséges lesz csak a molekuláris módszer.

A 2003-tól országosan és rendszeresen végzett szemle és ahhoz valamennyi esetben kapcsolódó diagnosztikai tevékenység a *B. mucronatus* és *B. vallesianus* első hazai azonosítását eredményezte, információt szolgáltatva arra nézve is, hogy mely területeken szükséges intenzívebbé tenni a felderítési munkát.

A kimutatott fajok magyarországi jelenléte, valamint a hazai és nemzetközi hatósági kötelezettségek alapján indokolt a *Bursaphelenchus*-fajok morfológiai és molekuláris azonosítása, jellemzése, elterjedésének vizsgálata hazai tűlevelűekben azzal a végső céllal, hogy a kutatás eredménye beépíthető legyen a fenyőfélék legjelentősebb károsítói elleni védekezés növényvédelmi rendszerébe. A *B. xylophilus* elleni védekezési mód egyelőre a megelőzés és a korai észlelés.

8. SUMMARY

The pine wood nematode, *B. xylophilus* is a key pest in coniferous plants worldwide. During my research I intended to provide detailed information to introduce the international protocol for the detection of *Bursaphelenchus* species in Hungary, as well as to adapt laboratory methods of detection and identification. This future Hungarian detection protocol was created on the basis of international standards, guidelines and the article of Schröder et al (2009).

Nematodes were identified at the Laboratory of Nematology of the Directorate of Plant Protection of the National Food Chain Safety Office, and at the Laboratory of the Microbiological and Environmental Toxicology Group of the Plant Protection Institute of Szent István University.

For the identification of *Bursaphelenchus* species, mainly morphological identification and the ITS-RFLP molecular technique are mentioned in the literature. These processes require high level of expertise, especially where PWNs species, such as *B. xylophilus* and *B. mucronatus* are involved

For its own region, the EPPO diagnostic protocol suggests the ITS-RFLP PCR (Burgermeister et al 2009), the satellite DNA-based PCR (Castagnone et al. 2005) and the real-time PCR (François et al. 2007) molecular methods for the identification of the pine damaging nematode.

Our results establish that the exact identification of *Bursaphelenchus* species requires the combination of routine methods, that is, confirming morphological and morphometrical characters by carrying out the molecular analysis of ITS-RFLP patterns. Morphological and molecular approaches are both recommended for the diagnosis and overview of *Bursaphelenchus* species.

Where an experienced nematologist is lacking, it is recommended to use the molecular identification method to distinguish between species. We expect however, that by increasing database (NCBI) information, specific primer design and application, the molecular method alone will be sufficient.

National surveys, carried out annually from 2003 have resulted in the first national recognition of *B. mucronatus* and *B. xylophilus* species and provided information as for the future needs of intensifying the exploration (monitoring) work.

The presence of *B. mucronatus* and *B. vallesianus* in Hungary and the Hungarian and international regulation justify the morphological and molecular identification, the characterization of *Bursaphelenchus* species, and the testing of their spread within domestic coniferous forests with the ultimate aim that the results of research can be built into the effective pest control system of these major harmful pests of pines. For the time being, the only protection against *B. xylophilus* is prevention, namely trapping and early detection.

9. MELLÉKLETEK

M1. IRODALOMJEGYZÉK

- 7/2001. (I.17.): FVM rendelet a növényegészségügyi feladatok végrehajtásának részletes szabályairól. *Magyar Közlöny*, 6, 267-356. p.
- 2001/218/EK (2001): A Bizottság határozata (2001. március 12.) a *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhner) Nickle et al. (a fenyőfa fonalférge) elterjedése elleni, Portugáliának az attól ismerten mentes területein kívüli más területeire vonatkozó ideiglenes kiegészítő intézkedéseknek a tagállamok számára történő előírásáról. *Az Európai Unió Hivatalos Lapja*, L 81, 19-23. p.
- 2000/29/EK (2000): A Tanács 2000/29/EK irányelve (2000. május 8.): a növényeket vagy növényi termékeket károsító szervezeteknek a Közösségbe történő behurcolása és a Közösségen belüli elterjedése elleni védekezési intézkedésekről. *Az Európai Unió Hivatalos Lapja*, L 169, 258-369. p.
- 2006/133/EK (2006): A Bizottság határozata (2006. február 13.) a *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhner) Nickle et al. (a fenyőfa fonalférge) elterjedése elleni, Portugáliának az attól ismerten mentes területein kívüli más területeire vonatkozó ideiglenes kiegészítő intézkedéseknek a tagállamok számára történő előírásáról. *Az Európai Unió Hivatalos Lapja*, L 52, 34-38. p.
- 2009/420/EK (2009): A Bizottság határozata (2009. május 28.) a *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhner) Nickle et al. (a fenyőfa fonalférge) elterjedése elleni, Portugáliának az attól ismerten mentes területein kívüli más területeire vonatkozó ideiglenes kiegészítő intézkedéseknek a tagállamok számára történő előírásáról szóló 2006/133/EK határozat módosításáról. *Az Európai Unió Hivatalos Lapja*, L 135, 52, 29-32. p.
- 2012/535/EU (2012): A Bizottság végrehajtási határozata (2012. szeptember 26.) a *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhner) Nickle et al. (fenyőrontó fonalféreg) Unión belüli elterjedésének megelőzésére irányuló sürgősségi intézkedésekről. *Az Európai Unió Hivatalos Lapja*, L 266, 42-52. p.
- ABAD P., TÀRES S., BRUGUIER N., GUIRAN G. (1991): Characterization of the relationships in the pinewood nematode species complex (PWNSC) (*Bursaphelenchus* spp.) using a heterologous *Unc-22* DNA probe from *Caenorhabditis elegans*. *Parasitology*, 102, 303-308. p.

- ABELLEIRA A., PICOAGA A., MANSILLA J.P., AGUIN O. (2011): Detection of *Bursaphelenchus xylophilus*, causal agent of pine wilt disease on *Pinus pinaster* in North-western Spain. *Plant Disease*, 95 (6) 776-776. p.
- AKBULUT S., STAMPS W.T. (2012): Insect vectors of the pinewood nematode: a review of the biology and ecology of *Monochamus* species. *Forest Pathology*, 42 (2) 89-99. p.
- AKBULUT S., ELEKÇIOĞLU H., KETEN A. (2008): First record of *Bursaphelenchus vallesianus* Braasch, Schönfeld, Polomski, and Burgermeister in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 32, 273-279. p.
- ALTSCHUL S.F., MADDEN T.L., SCHÄFFER A.A., ZHANG J., ZHANG Z., MILLER W., LIPMAN D.J. (1997): Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25 (17) 3389-3402. p.
- ANONYMOUS (2008): Resolución de 12 de noviembre de 2008, de la Dirección General de Explotaciones y Calidad Alimentaria, por la que se declara contaminada por el nematodo de la madera del pino *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhrer) Nickle et al. Determinada área forestal del término municipal de Villanueva de la Sierra y se establece una zona demarcada de 20 kilómetros de radio, adoptándose en ella diversas medidas fitosanitarias tendentes al control y erradicación del agente patógeno. *Diario Oficial de Extremadura Numero 233, Martes, 2 de diciembre de 2008*, 32028-32036. p.
- ANDRÁSSY I. (1958): Szabadonélő fonálférgek (Nematoda libera). *Magyarország állatvilága*, 3 (36) 1-362. p.
- ARAKAWA Y., TOGASHI K. (2002): Newly discovered transmission pathway of *Bursaphelenchus xylophilus* from males of the beetle *Monochamus alternatus* to *Pinus densiflora* trees via oviposition wounds. *Journal of Nematology*, 34, 396-404. p.
- BAKER A.D. (1962): Check list of the nematode superfamilies Dorylaimoidea, Rhabditoidea, Tylenchoidea and Aphelenchoidea. E. J. Brill, Leiden.
- BAERMANN G. (1917): Eine einfache Methode zur Auffindung von Ankylostomum- (Nematoden)-Larven In Erdproben. [A simple method for the detection of Ankylostomum (nematode) larvae in soil tests.] *Mededelingen uit het Geneeskundig Laboratorium te Weltevreden*, 41-47. p.
- BAUJARD P. (1980): Trois nouvelle espèces de *Bursaphelenchus* (NEMATODA: Tylenchida) et remarques sur le genre. *Revue de Nématologie*, 3, 167-177. p.
- BAUJARD P. (1989): Remarques sur les genres des sousfamilles *Bursaphelenchinae* Paramonov, 1964 et *Rhadinaphelenchinae* Paramonov, 1964 (NEMATODA: Aphelenchoididae). *Revue de Nématologie*, 12, 323-324. p.

- BECKENBACH K., BLAXTER M., WEBSTER J.M. (1999): Phylogeny of *Bursaphelenchus* species derived from analysis of ribosomal internal transcribed spacer DNA sequences. *Nematology*, 1, 539-548. p.
- BERGDAHL D.R., HALIK S. (2003): Persistence of the pine wood nematode in asymptomatic Scots pines. 177-185. p. In: MOTA M.M., VIEIRA P. (Eds.): *The pinewood nematode, Bursaphelenchus xylophilus*. Proceedings of an International Workshop, University of Évora, Portugal, August 20-22, 2001. Nematology Monographs and Perspectives, Volume 1. Leiden, The Netherlands: Brill Academic Publishers, 291. p.
- BERRY S.L., RODERICK M.L. (2005): Tansley review: Plant water relations and the fibre saturation point. *New Phytologist*, 168, 25-37. p.
- BLAXTER M.L., DE LEY P., GAREY J.R., LIU L.X., SCHHELDEMAN P., VIERSTRAETE A., VANFLETEREN J.R., MACKEY L.Y., DORRIS M., FRISSE L.M., VIDA J.T., THOMAS W.K. (1998): A molecular evolutionary framework for the phylum Nematoda. *Nature*, 392, 71-75. p.
- BOLLA J.A., BRAMBLE J., BOLLA R.I. (1989): Attraction of *Bursaphelenchus xylophilus*, pathotype MPSy-1, to *Monochamus carolinensis* larvae. *Japanese Journal of Nematology*, 19, 32-37. p.
- BOLLA R.I., WOOD R. (1999): Pathogenicity and potential for spread of the pine wood nematode *Bursaphelenchus* spp. 3-13. p. In: FUTAI K., TOGASHI K., IKEDA T. (Eds.): *Sustainability of pine forests in relation to pine wilt and decline*. Proceedings of the Symposium, Tokyo, Japan, 27-28 October 1998. Kyoto, Japan, Shokado, Shoten.
- BOWERS W.W., HUDAK J., RASKE A.G. (1992): Host and vector surveys for the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner and Buhner) Nickle (NEMATODA: Aphelenchoididae) in Canada. *Information Report Newfoundland and Labrador Region, Forestry Canada (N-X-285)*, 55. p.
- BRAASCH H. (1983): Der Kiefernholznematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner und Buhner, 1934) Nickle, 1970, im Blickpunkt der Pflanzenquarantäne. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 37 (11) 227-230. p.
- BRAASCH H. (1998): *Bursaphelenchus hofmanni* sp. n. (NEMATODA: Aphelenchoididae) from spruce wood in Germany. *Nematologica*, 44 (6) 615-621. p.
- BRAASCH H. (2000): *Bursaphelenchus xylophilus* in Europa. 222. p. In: KLINGAUF F., KLEIN W., ZINKERNAGEL V. (Eds.): 52. *Deutsche Pflanzenschutztagung*. Herausgegeben von der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Heft 376, Berlin, 608. p.
- BRAASCH H. (2001): *Bursaphelenchus* species in conifers in Europe: distribution and morphological relations. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 31, 127-142. p.

- BRAASCH H. (2004): Morphology of *Bursaphelenchus xylophilus* compared with other *Bursaphelenchus* species. 127-143. p. In: MOTA M.M., VIEIRA P. (Eds): *The pinewood nematode, Bursaphelenchus xylophilus*. Proceedings of an International Workshop, University of Évora, Portugal, August 20-22, 2001. Nematology Monographs and Perspectives, Volume 1. Leiden, The Netherlands: Brill Academic Publishers, 291. p.
- BRAASCH H. (2008): The enlargement of the *xylophilus* group in the genus *Bursaphelenchus*. 139-149. p. In: MOTA M.M., VIEIRA P. (Eds.): *Pine wilt disease: A worldwide threat to forest ecosystems*. The Netherlands: Springer, 405. p.
- BRAASCH H., SCHMUTZENHOFER H. (2000): *Bursaphelenchus abietinus* sp. n. (NEMATODA: Parasitaphelenchidae). *Russian Journal of Nematology*, 8, 1-6. p.
- BRAASCH H., ENZIAN S. (2003): The pine wood nematode problem in Europe – present situation and outlook. 77-91. p. In: MOTA M.M., VIEIRA P. (Eds.): *The pinewood nematode, Bursaphelenchus xylophilus*. Proceedings of an International Workshop, University of Évora, Portugal, August 20-22, 2001. Nematology Monographs and Perspectives, Volume 1. Leiden, The Netherlands: Brill Academic Publishers, 291. p.
- BRAASCH H., BURGERMEISTER W. (2007): *Bursaphelenchus hofmanni* Braasch, 1998 in einem Weidenbaum in Sachsen, Deutschland. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 59, 183-185. p.
- BRAASCH H., BURGERMEISTER W., PASTRIK K.H. (1995): Differentiation of three *Bursaphelenchus* species by means of RAPD-PCR. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 47, 310-314. p.
- BRAASCH H., METGE K., BURGERMEISTER W. (1999): *Bursaphelenchus* species in conifers in Germany and their ITS-RFLP pattern. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 51, 312-320. p.
- BRAASCH H., GU J., BURGERMEISTER W., ZHANG J. (2004a): *Bursaphelenchus doui* sp.n. (NEMATODA: Parasitaphelenchidae) in packaging wood from Taiwan and South Korea – a new species of the *xylophilus* group. *Russian Journal of Nematology*, 12, 19-27. p.
- BRAASCH H., SCHOENFELD U., POLOMSKI J., BURGERMEISTER W. (2004b): *Bursaphelenchus vallesianus* sp. n. – a new species of the *Bursaphelenchus sexdentati* group. *Nematologia Mediterranea*, 32, 71-79. p.
- BRAASCH H., BURGERMEISTER W., BRANDSTETTER M., METGE K. (2007a): *Bursaphelenchus africanus* sp. n. (NEMATODA: Parasitaphelenchidae) found in packaging wood exported from South Africa to Ningbo/China. *Journal of nematode morphology and systematics*, 9, 71-81. p.

- BRAASCH H., GU J., BRANDSTETTER M. (2007b): *Bursaphelenchus burgermeisteri* sp. n. (NEMATODA: Parasitaphelenchidae) in packaging wood from Japan: a second species of the "africanus" group. *Journal of nematode morphology and systematics*, 10, 39-48. p.
- BRZESKI M.W., BAUJARD P. (1997): Morphology and morphometrics of *Bursaphelenchus* (NEMATODA: Aphelenchoididae) species from pine wood of Poland. *Annales Zoologici*, 47 (3/4) 305-319. p.
- BURGERMEISTER W., METGE K., BRAASCH H., BUCHBACH E. (2005): ITS-RFLP patterns for differentiation of 26 *Bursaphelenchus* species (NEMATODA: Parasitaphelenchidae) and observations on their distribution. *Russian Journal of Nematology*, 13, 29-42. p.
- BURGERMEISTER W., BRAASCH H., METGE K., GU J., SCHRÖDER T., WOLDT E. (2009): ITS-RFLP analysis, an efficient tool for differentiation of *Bursaphelenchus* species. *Nematology*, 11 (5) 649-668. p.
- CALIN M., VIEIRA P., COSTACHE C., BRAASCH H., GU J., WANG J., MOTA M. (2013): Survey of the genus *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937 (NEMATODA: Aphelenchoididae) in Romania. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 43 (1) 144-151. p.
- CAO Y., MA H., YANG W., BAI G., LI H., HU J., WANG Y. (2005): Development and application of immunomagnetic separation ELISA for identification of *Bursaphelenchus xylophilus*. *Forest Research*, 18, 585-589. p.
- CAROPPO S., AMBROGIONI L., CAVALLI M., CONIGLIO D. (1998): Occurrence of the pine wood nematodes, *Bursaphelenchus* spp., and their possible vectors in Italy. *Nematologia Mediterranea*, 26 (1) 87-92. p.
- CASTAGNONE C., ABAD P., CASTAGNONE-SERENO P. (2005): Satellite DNA-based species specific identification of single individuals of the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* (NEMATODA: Aphelenchoididae). *European Journal of Plant Pathology*, 112, 191-193. p.
- CASTAGNONE-SERENO P., CASTAGNONE C., FRANÇOIS C., ABAD P. (2008): Satellite DNA as a versatile genetic marker for *Bursaphelenchus xylophilus*. 187-195. p. In: MOTA M.M., VIEIRA P. (Eds.): *Pine wilt disease: A worldwide threat to forest ecosystems*. The Netherlands: Springer, 405. p.
- ČERMÁK V., VIEIRA P., GAAR V., ČUDEJKOVÁ M., FOIT J., ZOUHAR M., DOUDA O., MOTA M. (2013): On the genus *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937 (NEMATODA: Parasitaphelenchinae) associated with wood and insects from declining forest trees in the Czech Republic. *Forest Pathology*, 43 (4) 306-316. p.
- CHENG H., LIN M., LI W., FANG Z. (1983): The occurrence of a pine wilting disease caused by a nematode found in Nanjing. *Forest Pest and Disease*, 1-5. p.

CHROMASLITE 2.01 (2013): Technelysium, Software for DNA Sequencing.

<http://www.technelysium.com.au/>

CIRCA (2012): Communication and Information Resource Centre Administrator:
<http://circa.europa.eu/>

CIRCA (2013): Communication and Information Resource Centre Administrator:
<http://circa.europa.eu/>

COOMANS A. (2002): Present status and future of nematode systematic. *Nematology*, 4, 573-582. p.

CURRAN J., BAILLIE D.L., WEBSTER J.M. (1985): Use of genomic DNA Restriction fragment length differences to identify nematode species. *Parasitology*, 90, 137-144. p.

CSÓKA GY. (2011): Megszálló rovarok a magyar erdőkben. Mit hozhat még a klímaváltozás? *Erdészeti Lapok*, 146 (5) 150-151. p.

CSÓKA GY., HIRKA A., SZŐCS L. (2012): Rovarglobalizáció a magyar erdőkben. *Erdészettudományi Közlemények*, 2 (1) 187-198. p.

DAISIE (2012): Delivering alien invasive species inventories for Europe: <http://www.europe-aliens.org/>

DE GUIRAN G. (1990): Pine wood nematodes (*Bursaphelenchus* spp.). Biological, taxonomical and epidemiological aspects. *Comptes Rendus de l'Academie d'Agriculture de France*, 76, 13-20. p.

DE GUIRAN G., BOULBRIA A. (1986): Le nématode des pins. Caractéristiques de la souche française et risque d'introduction et d'extension de *Bursaphelenchus xylophilus* en Europe. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 16, 445-452. p.

DE GUIRAN G., BRUGUIER N. (1989): Hybridisation and phylogeny of pinewood nematode (*Bursaphelenchus* spp.). *Nematologica*, 34, 321-330. p.

DE GUIRAN G., LEE M.J., DALMASSO A., BONGIOVANNI M. (1985): Preliminary attempt to differentiate pinewood nematodes (*Bursaphelenchus* spp.) by enzyme electrophoresis. *Revue de Nématologie*, 8, 95-92. p.

DE LEY P., BLAXTER M.L. (2002): Systematic position and phylogeny. In: LEE D.L. (Ed): *The biology of nematodes*. London: Taylor and Francis, 1-30. p.

DE LEY P., BLAXTER M.L. (2004): A new system for Nematoda: combining morphological characters with molecular trees, and translation clades into ranks and taxa. *Nematology Monographs and Perspectives*, 2, 633-653. p.

DEVDAIANI T.S. (1974): A new nematode species from *Monochamus sutor*. *Soobshcheniya Akademii Nauk. Gruzinskoi SSR*, 76, 709-712. p.

- DROPKIN V.H., FOUDIN A.S. (1979): Report of the occurrence of *Bursaphelenchus lignicolus* induced pine wilt disease in Missouri. *Plant Disease Reporter*, 63, 904-905. p.
- DUNCAN L.W., MOENS M. (2006): Migratory endoparasitic nematodes. In: PERRY R.N., MOENS M. (Eds.): *Plant Nematology*. Wallingford, UK: CABI, 123-152. p.
- DWINELL L.D. (1986): Ecology of the pinewood nematode in southern pine chip piles. *USDA Forest Service, Southeastern Forest Experiment Station, Research Paper SE-258*, 14. p.
- DWINELL L.D. (1993): First report of pinewood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*) in Mexico. *Plant Disease*, 77, 846. p.
- DWINELL L.D. (1997): The pinewood nematode: Regulation and mitigation. *Annual Review of Phytopathology*, 35, 153-166. p.
- DWINELL L.D., NICKLE W.R. (1989): An overview of the pine wood nematode ban in North America. *Asheville, North Carolina: United States Department of Agriculture, Forest Service, Southeastern Forest Experiment Station*, 13. p.
- EFSA (European Food Safety Authority) (2012): Scientific Opinion on the phytosanitary risk associated with some coniferous species and genera for the spread of pine wood nematode. *EFSA Journal*, 10 (1) 2553, 87. p.
- EISENBACK J. (1985): Techniques for preparing nematodes for scanning electron microscopy. 79-105. p. In: BARKER K.R., CARTER C.C., SASSER N.S. (Eds.): *An advanced treatise on Meloidogyne*. Volume II. Raleigh, NC, USA, North Carolina State University Graphics.
- ELEKES A. (1981): Nematológiai praktikum. Mezőgazdasági és Élelmezésügyi Minisztérium Információs Központ, Budapest: Agroinform. 387. p.
- ENDA N. (1989): Current status of pine wilt disease in Korea. *Forest Pests*, 38, 148-152. p.
- EPPO (1986): Data sheets on quarantine organisms No. 158, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 16, 55-60. p.
- EPPO (2009a): Commodity-specific phytosanitary measures PP 8/2 (1) *Coniferae*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 39, 420-449. p.
- EPPO (2009b): Diagnostics PM 7/4 (2) *Bursaphelenchus xylophilus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 39, 344-353. p.
- EPPO (2009c): Report of a Pest Risk Analysis for *Bursaphelenchus xylophilus*. 09/15450
- EPPO (2012a): EPPO Standards. EPPO A1 and A2 lists of pest recommended for regulation as quarantine pests. PM 1/2 (21). *European and Mediterranean Plant Protection Organization, Paris, September 2012*.
- EPPO (2012b): National regulatory control systems PM 9/1 (5) *Bursaphelenchus xylophilus* and its vectors: procedures for official control. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 42 (3) 477-485. p.

- EPPO (2013a): Diagnostics PM 7/4 (3) *Bursaphelenchus xylophilus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 43 (1) 105-118. p.
- EPPO (2013b): EPPO Plant Quarantine Data Retrieval System:
<http://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>
- EPPO/CABI (1996): *Bursaphelenchus xylophilus*. In *Quarantine Pests for Europe* (2nd edition). CAB International, Wallingford (GB).
- EUROPEAN COMMISSION (2000): EC Pinewood Survey Protocol. SANCO B/1 D(00), 18. p.
- EUROPEAN COMMISSION (2009): EU Pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* Survey Protocol 2009. *European Commission Health and Consumers Directorate-General, Safety of the Food Chain Biotechnology and Plant Health*, Brussels, 28 September 2009.
- EVANS A.V. (2010): Lindgren funnel trap.
<http://arthurevans.wordpress.com/2010/03/26/alternative-spring-break-at-the-vcu-rice-center-2/>
- EVANS H.F., MCNAMARA D.G., BRAASCH H., CHADOEUF J., MAGNUSSON C. (1996): Pest Risk Analysis (PRA) for the territories of the European Union (as PRA area) on *Bursaphelenchus xylophilus* and its vectors in the genus *Monochamus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 26, 199-249. p.
- EVANS H.F., MORAAL L.G., PAJARES J.A. (2004): *Buprestidae* and *Cerambycidae*. In: LIEUTIER F., DAY K.R., BATTISTA A., GREGOIRE J.C., EVANS H.F. (Eds.): *Bark and wood boring insects in living trees in Europe, a synthesis*. Dordrecht: Kluwer, 447-474. p.
- EVANS S., EVANS H.F., IKEGAMI M. (2008): Modelling PWN-induced wilt expression: A mechanistic approach. 259-278. p. In: MOTA M.M., VIEIRA P. (Eds.): *Pine wilt disease: A worldwide threat to forest ecosystems*. The Netherlands: Springer, 405. p.
- FANG Y., ZHAO J., ZHUO K. (2002): Description of *Bursaphelenchus dongguanensis* sp. n. in China (NEMATODA: Aphelenchoididae). *Journal of Huazhong Agricultural University*, 21, 109-111. p.
- FAO (1998): International Standards for Phytosanitary Measures, Guidelines for Surveillance. ISPM No. 6. *Secretariat of the International Plant Protection Convention, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome*, 12. p.
- FAO (1999): International Standards for Phytosanitary Measures, Determination of pest status in an area. ISPM No. 8. *Secretariat of the International Plant Protection Convention. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome*, 18. p.
- FAO (2002): International Standards for Phytosanitary Measures, ISPM No. 15 Guidelines for regulating wood packaging material in international trade. *Secretariat of the International*

Plant Protection Convention, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 15. p.

FAO (2009): International Standards for Phytosanitary Measures, Revision of ISPM No. 15: Regulation of wood packaging material in international trade. *Secretariat of the International Plant Protection Convention, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 16. p.*

FAO (2010): Global Forest Resources Assessment, 2010 – Main report. *Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy: Forestry Paper, 163. p.*

FCEC (2012): Food Chain Evaluation Consortium: Quantification of the economic, environmental and social impacts of introducing mandatory treatment requirements for wood packaging material circulating inside the European Union, Final report. *Civic Consulting Alleweldt and Kara GbR Potsdamer Strasse 150 D-10783 Berlin-Germany, 147. p.*

FERRIS V.R., FERRIS J.M., FAGHIHI J. (1993): Variation in spacer ribosomal DNA in some cyst forming species of plant parasitic nematodes. *Fundamental and Applied Nematology, 16, 177-184. p.*

FONSECA L., LOPES A., CARDOSO J., PESTANA M., ABREU F., NUNES N.; MOTA M.M., ABRANTES I. (2010): The pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, in Madeira Island. *Presented at the Abstracts of the 30th International Symposium of European Society of Nematologists, Vienna, Austria, 19-23 September, 176. p.*

FRANCARDI V., PENNACCHIO F. (1996): Note sulla bioecologia di *Monochamus galloprovincialis galloprovincialis* (Olivier) in Toscana e in Liguria (COLEOPTERA: Cerambycidae). *Redia, 79, 153-169. p.*

FRANÇOIS C., CASTAGNONE C., BOONHAM N., TOMLINSON J., LAWSON R., HOCKLAND S., QUILL J., VIEIRA P., MOTA M.M., CASTAGNONE-SERENO P. (2007): Satellite DNA as a target for TaqMan real-time PCR detection of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Molecular Plant Pathology, 8, 803-809. p.*

FUCHS A.G. (1937): Neue parasitische und halbparasitische Nematoden bei Borkenkäfern und einige andere Nematoden. I. Teil die Parasiten der Waldgartner *Myelophilus piniperda* L. und *minor* Hartig und die Genera *Rhabditis* Dujardin, 1845 und *Aphelenchus* Bastian, 1865. *Zoologische Jahrbücher, Abteilung für Systematik Oekologie und Geographie der Tiere, Jena 70, 291-380.*

FUKUDA K., HOGETSU T., SUZUKI K. (1992): Cavitation and cytological changes in xylem of pine seedlings inoculated with virulent and avirulent isolates of *Bursaphelenchus xylophilus* and *B. mucronatus*. *Journal of the Japanese Forest Society, 74, 289-298. p.*

- FUKUSHIGE H. (1991): Propagation of *Bursaphelenchus xylophilus* (NEMATODA: Aphelenchoididae) on fungi growing in pine [*Pinus*]-shoot segments. *Applied Entomology and Zoology*, 26, 371-376. p.
- FUKUSHIGE H., FUTAI K. (1987): Seasonal changes in *Bursaphelenchus xylophilus* populations and occurrence of fungi in *Pinus thunbergii* trees inoculated with the nematode. *Japanese Journal of Nematology*, 17, 8-16. p.
- FUTAI K. (1980): Developmental rate and population-growth of *Bursaphelenchus lignicolus* (NEMATODA: Aphelenchoididae) and *Bursaphelenchus mucronatus*. *Applied Entomology and Zoology*, 15, 115-122. p.
- FUTAI K. (2003): Role of asymptomatic carrier trees in epidemic spread of pine wilt disease. *Journal of Forest Research*, 8, 253-260. p.
- FUTAI K. (2008): Pine wilt in Japan: From first incidence to the present. 5-12. p. In: ZHAO B.G., FUTAI K., SUTHERLAND J.R., TAKEUCHI Y. (Eds.): *Pine wilt disease*. Tokyo, Japan: Springer, 459. p.
- FUTAI K., TAKEUCHI Y. (2008): Field diagnosis of the asymptomatic carrier of pinewood nematode. 279-289. p. In: MOTA M.M., VIEIRA P. (Eds.): *Pine wilt disease: A worldwide threat to forest ecosystems*. The Netherlands: Springer, 405. p.
- GAAR V., ZHOUAR M., DOUDA O., MAREK M., NOVAKOVA E., RYSANEK P. (2006): First occurrence of *Bursaphelenchus vallesianus* in the Czech Republic. *Pine wilt disease: a worldwide threat to forest ecosystems. International symposium. 10-14 July 2006, Lisbon, Portugal*.
- GERBI S.A. (1985): Evolution of ribosomal DNA. 419-517. p. In: MACINTYRE R.J. (Ed): *Molecular evolutionary genetics*. Plenum, New York.
- GIBLIN R.M. (1985): Association of *Bursaphelenchus* sp. (NEMATODA: Aphelenchoididae) with nitidulid beetles (COLEOPTERA: Nitidulidae). *Revue de Nématologie*, 8, 369-375. p.
- GIBLIN R.M., KAYA H.K. (1983): *Bursaphelenchus seani* n. sp. (NEMATODA: Aphelenchoididae), a phoretic associate of *Anthophora bomboides stanfordiana* Cockerell, 1904 (HYMENOPTERA: Anthophoridae). *Revue de Nématologie*, 6, 39-50. p.
- GIBLIN-DAVIS R.M. (1993): Interactions of nematodes with insects. In: KHAN W. (Ed.): *Nematode Interactions*. London: Chapman and Hall, 302-344. p.
- GIBLIN-DAVIS R.M. (2004): Nematodes as mutualists: where and how did these associations evolve? *Nematology Monographs and Perspectives*, 2, 383-394. p.
- GIBLIN-DAVIS R.M., MUNDO-OCAMPO M., BALDWIN J.G., GERBER K., GRIFFITH R. (1989): Observation on the morphology of the red ring nematode, *Rhadinaphelenchus cocophilus* (NEMATODA: Aphelenchoididae). *Revue de Nématologie*, 12, 285-292. p.

- GIBLIN-DAVIS R.M., DAVIES K. A., MORRIS K., THOMAS W.K. (2003): Evolution of parasitism in insect-transmitted plant nematodes. *Journal of Nematology*, 35, 133-141. p.
- GIBLIN-DAVIS R.M., HAZIR S., CENTER B.J., YE W., KESKIN N., THORP R.W., THOMAS W.K. (2005): *Bursaphelenchus anatolius* n. sp. (NEMATODA: Parasitaphelenchidae), an associate of bees in the genus *Halictus*. *Journal of Nematology*, 37, 336-342. p.
- GIBLIN-DAVIS R.M., KANZAKI N., YE W., CENTER B.J., THOMAS W.K. (2006): Morphology and systematics of *Bursaphelenchus gerberae* n. sp. (NEMATODA: Parasitaphelenchidae), a rare associate of the palm weevil, *Rhynchophorus palmarum* in Trinidad. *Zootaxa*, 1189, 39-53. p.
- GOODEY J.B. (1957): Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. *Technical Bulletin No. 2. Ministry of Agriculture Fish and Food, London*, 47. p.
- GOODEY J.B. (1960): The classification of the *Aphelenchoidea* Fuchs, 1937. *Nematologica*, 5, 111-126. p.
- GOODEY J.B. (1963): Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. *Technical Bulletin, No. 2. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London*, 72. p.
- GRIFFITH R. (1987): Red ring disease of coconut palm. *Plant Disease*, 71, 193-196. p.
- GU J., ZHANG J., BRAASCH H., BURGERMEISTER W. (2005): *Bursaphelenchus singaporensis* sp. n. (NEMATODA: Parasitaphelenchidae) in packaging wood from Singapore – a new species of the *B. xylophilus* group. *Zootaxa*, 988, 1-12. p.
- GU J., BRAASCH H., BURGERMEISTER W., ZHANG J. (2006): Records of *Bursaphelenchus* spp. intercepted in imported packaging wood at Ningbo, China. *Forest Pathology*, 36, 323-333. p.
- GU J., BRAASCH H., ZHEN W., BURGERMEISTER W., LIN M. (2008a): *Bursaphelenchus obeche* sp. n. (NEMATODA: Parasitaphelenchidae) found in packaging wood exported from Indonesia to Ningbo, China. *Journal of Nematode Morphology and Systematics*, 10 (2) 165-175. p.
- GU J., ZHENG W., BRAASCH H., BURGERMEISTER W. (2008b): Description of *Bursaphelenchus macromucronatus* sp. n. (NEMATODA: Parasitaphelenchidae) in packaging wood from Taiwan and India – a new species of the ‘*xylophilus*’ group. *Journal of Nematode Morphology and Systematics*, 11 (1) 31-40. p.
- HAEGEMAN A., MANTELIN S., JONES J.T., GHEYSEN G. (2012): Functional roles of effectors of plant-parasitic nematodes. *Gene*, 492 (1) 19-31. p.
- HASEGAWA K., MIWA J. (2008): Embryology and cytology of *Bursaphelenchus xylophilus*. 81-104. p. In: ZHAO B.G., FUTAI K., SUTHERLAND J., TAKEUCHI Y. (Eds.): *Pine wilt disease*. Tokyo, Japan: Springer, 459. p.

- HALIK S., BERGDAHL D.R. (1994): Long-term survival of *Bursaphelenchus xylophilus* in living *Pinus sylvestris* in an established plantation. *European Journal of Forest Pathology*, 24 (6-7) 357-363. p.
- HANKS L.M. (1999): Influence of the larval host plant on reproductive strategies of cerambycid beetles. *Annual Review of Entomology*, 44, 483-505. p.
- HARMEY J., HARMEY M. (1993): Detection and identification of *Bursaphelenchus* species with DNA fingerprinting and polymerase chain reaction. *Journal of Nematology*, 25, 406-415. p.
- HELLRIGL K.G. (1971): Die bionomie der Europäischen *Monochamus* – arten (COLEOPTERA: Cerambycidae) und ihre bedeutung für die forst - und holzwirtschaft. *Redia*, 52, 367-509. p.
- HIRKA A., CSÓKA GY. (2010): Abiotikus erdőkárók Magyarországon (1961-2009). *Erdészeti Lapok*, 145 (7-8) 246-248. p.
- HOLDEMAN Q.L. (1980): The pinewood nematode (*Bursaphelenchus lignicolus* Mamiya and Kiyohara, 1972) and the associated pine wilt disease of Japan. *California Department of Food and Agriculture, Sacramento*.
- HOTCHKIN P., GIBLIN R. (1984): Comparison of electrophoregrams from *Bursaphelenchus* spp. (Aphelenchoididae). *Revue de Nématologie*, 7, 319-320. p.
- HOYER U., BURGERMEISTER W., BRAASCH H. (1998): Identification of *Bursaphelenchus* species (NEMATODA: Aphelenchoididae) on the basis of amplified ribosomal DNA (ITS-RFLP). *Nachrichtenblatt für den Deutschen Pflanzenschutzdienst*, 50, 273-277. p.
- HUNT D.J. (1993): *Aphelenchida, Longidoridae and Trichodoridae*: Their systematics and bionomics. Wallingford UK: CABI Publishing. 352. p.
- HUNT D.J. (2008): A checklist of the *Aphelenchoidea* (NEMATODA: Tylenchina). *Journal of Nematode Morphology and Systematics*, 10, 99-135. p.
- IKEDA T. (1996a): Responses of water-stressed *Pinus thunbergii* to Inoculation with avirulent pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*): water relations and sylem histology. *Journal of Forest Research*, 1, 223-226. p.
- IKEDA T. (1996b): Xylem dysfunction in *Bursaphelenchus xylophilus*-infected *Pinus thunbergii* in relation to xylem cavitation and water status. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 62, 554-558. p.
- IKEDA T., YAMANE A., ENDA N., MATSUURA K., ODA K. (1981): Attractiveness of chemical-treated pine trees for *Monochamus alternatus* Hope (COLEOPTERA: Cerambycidae). *Journal of Japanese Forestry Society*, 63, 201-207. p.
- INOUE H., NOJIMA H., OKAYAMA H. (1990): High efficiency transformation of *Escherichia coli* with plasmids. *Gene*, 96 (1) 23-28. p.

- 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. p.
- IWAHORI H., TSUDA K., KANZAKI N., IZUI K., FUTAI K. (1998): PCR-RFLP and sequencing analysis of ribosomal DNA of *Bursaphelenchus* nematodes related to pine wilt disease. *Fundamental and Applied Nematology* 21, 655-666. p.
- JONES J.T., PHILLIPS M.S., ARMSTRONG M.R. (1997): Molecular approaches in plant nematology. *Fundamental and Applied Nematology*, 20, 1-14. p.
- JONES J.T., MOENS M., MOTA M.M., LI H., KIKUCHI T. (2008): *Bursaphelenchus xylophilus*: opportunities in comparative genomics and molecular host-parasite interactions. *Molecular Plant Pathology*, 9 (3) 357-368. p.
- KAKULIA G.A., DEVDARIANI T.G., MAGLAKELIDZE L.M. (1980): Nematodes of *Cerambycidae*, parasites of trees in Eastern Georgia. *Konferentsiya Ukrainskogo Parazitologicheskogo Obshchestva. Tezisy dokladov. Chast II.*, 109-110. p.
- KALINSKI A., HUETTEL R.N. (1988): DNA restriction fragment length polymorphism in races of the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology*, 20, 532-538. p.
- KANG J.S., CHOI K.S., SHIN S.H., MOON I.S., LEE S.G., LEE S.H. (2004): Development of an efficient PCR-based diagnostic protocol for the identification of the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* (NEMATODA: Parasitaphelenchidae). *Nematology*, 6, 279-285. p.
- KANZAKI N. (2006): Taxonomy and systematic of *Bursaphelenchus* nematodes. *Journal of the Japanese Forest Society*, 88 (5) 92-406. p.
- KANZAKI N. (2008): Taxonomy and systematics of the nematode genus *Bursaphelenchus* (NEMATODA: Parasitaphelenchidae). 44-66. p. In: ZHAO B.G., FUTAI K., SUTHERLAND J., TAKEUCHI Y. (Eds.): *Pine wilt disease*. Tokyo, Japan: Springer, 459. p.
- KANZAKI N., FUTAI K. (2002): A PCR primer set for determination of phylogenetic relationships of *Bursaphelenchus* species within *xylophilus* group. *Nematology*, 4, 35-41. p.
- KANZAKI N., FUTAI K. (2003): Description and phylogeny of *Bursaphelenchus luxuriosae* n. sp. (NEMATODA: Aphelenchoididae) isolated from *Acalolepta luxuriosa* (COLEOPTERA: Cerambycidae). *Nematology*, 5, 565-572. p.
- KANZAKI N., TSUDA K., FUTAI K. (2000): Description of *Bursaphelenchus conicaudatus* n. sp. (NEMATODA: Aphelenchoididae), isolated from the yellow-spotted longicorn beetle, *Psacotha hilaris* (COLEOPTERA: Cerambycidae) and fig trees, *Ficus carica*. *Nematology*, 2, 165-168. p.

- KANZAKI N., AIKAWA T., MAEHARA N., MATSUMOTO K. (2008a): *Bursaphelenchus doui* Braasch, Gu, Burgermeister and Zhang, 2005 (APHELENCHIDA: Parasitaphelenchidae), an associate of *Monochamus subfasciatus* Bates (COLEOPTERA: Cerambycidae) and *Pinus densijlora* Sieb. and Zucc. *Nematology*, 10, 69-78. p.
- KANZAKI N., GIBLIN-DAVIS R.M., CARDOZA Y.J., YE W., RAFFA K.F., CENTER B.J. (2008b): *Bursaphelenchus rufipennis* n. sp. (NEMATODA: Parasitaphelenchinae) and redescription of *Ektaphelenchus obtusus* (NEMATODA: Ektaphelenchinae), associates from nematangia on the hind wings of *Dendroctonus rufipennis* (COLEOPTERA: Scolytidae). *Nematology*, 10 (6) 925-955. p.
- KANZAKI N., MAEHARA N., AIKAWA T., TOGASHI K. (2008c): First report of parthenogenesis in the genus *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937: a description of *Bursaphelenchus okinawaensis* sp. nov. isolated from *Monochamus maruokai* (COLEOPTERA: Cerambycidae). *Zoological Science*, 25 (8) 861-73 p.
- KANZAKI N., MAEHARA N., AIKAWA T., MASUYA H., GIBLIN-DAVIS R.M. (2011): Description of *Bursaphelenchus kiyoharai* n. sp. (TYLENCHINA: Aphelenchoididae) with remarks on the taxonomic framework of the *Parasitaphelenchinae* Rühm, 1956 and *Aphelenchoidinae* Fuchs, 1937. *Nematology*, 13, 787-804. p.
- KANZAKI N., MAEHARA N., AIKAWA T., MATSUMOTO K. (2012): *Bursaphelenchus firmae* n. sp. (NEMATODA: Aphelenchoididae), isolated from *Monochamus grandis* Waterhouse that emerged from dead firs, *Abies firma* Sieb. et Zucc. *Nematology*, 14 (4) 395-404. p.
- KASZAB Z. (1971): Cincérek – *Cerambycidae*. Magyarország állatvilága. Fauna Hungariae No. 106. IX. kötet, 5. füzet. Budapest: Akadémiai Kiadó. 283 p.
- KIKUCHI T., SHIBUYA H., AIKAWA T., JONES J.T. (2006): Cloning and characterization of pectate lyases secreted by the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19, 280-287. p.
- KIKUCHI T., COTTON J.A., DALZELL J.J., HASEGAWA K., KANZAKI N., MCVEIGH P., TAKANASHI T., TSAI I.J., ASSEFA S.A., COCK P.J., OTTO T.D., HUNT M., REID A.J., SANCHEZ-FLORES A., TSUCHIHARA K., YOKOI T., LARSSON M.C., MIWA J., MAULE A.G., SAHASHI N., JONES J.T., BERRIMAN M. (2011): Genomic insights into the origin of parasitism in the emerging plant pathogen *Bursaphelenchus xylophilus*. *PLoS Pathogens*, 7 (9) e1002219, 17. p.
- KISHI Y. (1995): The pine wood nematode and the Japanese pine sawyer. *Forests pests in Japan*, No. 1. Tokyo, Japan: Thomas Co. Ltd, 302. p.
- KIYOHARA T., TOKUSHIGE Y. (1971): Inoculation experiments of a nematode *Bursaphelenchus* sp. onto pine trees. *Journal of the Japanese Forestry Society*, 53, 210-285. p.

- KIYOHARA T., BOLLA R.I. (1988): Biology and biochemistry of pinewood nematode. *5th International Congress of Plant Pathology, Kyoto, Japan*, 355. p.
- KIYOHARA T., BOLLA R.I. (1990): Pathogenic variability among populations of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Forest Science*, 36, 1061-1076. p.
- KOBAYASHI F., YAMANE A., IKEDA T. (1984): The Japanese pine sawyer beetle as the vector of pine wilt disease. *Annual Review of Entomology*, 29, 115-135. p.
- KOBAYASHI T., SASAKI K., MAMIYA Y. (1975): Fungi associated with *Bursaphelenchus lignicolus*, the pine wood nematode (II). *Journal of the Japanese Forestry Society*, 57, 184-193. p.
- KOLTAY A. (2001): Az erdei és feketefenyő gombabetegségei. Képes határozó. Budapest: Agroinform. 90. p.
- KORENCHENKO E.A. (1980): New species of nematodes from the family *Aphelenchoididae*, parasites of stem pests of the Dahurian Larch. *Zoologichesky Zhurnal*, 59, 1768-1780. p.
- KOVÁCS T., HEGYESSY G. (1995): Magyarországi cincér tápnövények (COLEOPTERA: Cerambycidae). *Folia Historico Naturalia Musei Matraensis*, 20, 185-197. p.
- KOVÁCS T., MUSKOVITS J., HEGYESSY G. (2000): Magyarországi cincérek tápnövény- és lelőhelyadatai III. (COLEOPTERA: Cerambycidae). *Folia Historico Naturalia Musei Matraensis*, 24, 205-220. p.
- KSH (2011): <http://www.ksh.hu/>
- KSH (2013): <http://www.ksh.hu/>
- KULINICH O., KOLOSSOVA V. (1993): Pinewood nematode – a potential danger for the coniferous forests of Russia. *Zashchita Rastenii*, 8, 22-24. p.
- KULINICH O.A., KRUGLIC I.A., EROSHENKO A.S., KOLOSOVA N.V. (1994): Occurrence and distribution of the nematode *Bursaphelenchus mucronatus* in the Russian Far East. *Russian Journal of Nematology*, 2, 113-119. p.
- KWON H., CHOI G., CHOI Y., JANG K., SUNG N., KANG M., MOON Y., LEE S., KIM J. (2010): Suppression of pine wilt disease by an antibacterial agent, oxolinic acid. *Pest Management Science*, 66, 634-639. p.
- KWON T.-S., SHIN J.H., LIM J.-H., KIM Y.-K., LEE E.J. (2011): Management of pine wilt disease in Korea through preventative silvicultural control. *Forest Ecology and Management*, 261 (3) 562-569. p.
- LA Y.J., MOON Y.S., YEO W.H., SHIN S.C., BAK W.C. (1999): Recent status of pine wilt disease in Korea. In: FUTAI K., TOGASHI, K., IKEDA T. (Eds.): *Sustainability of pine forests in relation to pine wilt and decline. Proceedings of the Symposium, Tokyo, Japan, 26-30 October 1998*. Kyoto, Japan: Shokado Shoten, 239-241. p.

- LAI Y.-X. (2008): Distribution of nematodes (*Bursaphelenchus xylophilus*) in the beetle *Monochamus alternatus* and its exiting transmission way. 243-255. p. In: MOTA M.M., VIEIRA P. (Eds.): *Pine wilt disease: A worldwide threat to forest ecosystems*. The Netherlands: Springer, 405. p.
- LANGE C., BURGERMEISTER W., METGE K., BRAASCH H. (2007): Phylogenetic analysis of isolates of the *Bursaphelenchus sexdentati* group using ribosomal intergenic transcribed spacer DNA sequences. *Journal of Nematode Morphology and Systematics*, 9, 95-109. p.
- LEAL I., GREEN M., ALLEN E., HUMBLE L., ROTT M. (2005): An effective PCR-based diagnostic method for the detection of *Bursaphelenchus xylophilus* (NEMATODA: Aphelenchoididae) in wood samples from lodgepole pine. *Nematology*, 7, 833-842. p.
- LEAL I., GREEN M., ALLEN E., HUMBLE L., ROTT M. (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. p.
- LI H. (2008): Identification and pathogenicity of *Bursaphelenchus xylophilus* species (NEMATODA: Parasitaphelenchidae). *PhD Thesis. Ghent University, Ghent, Belgium*, 224. p.
- LI H., TRINH P.Q., WAEYENBERGE L., MOENS M. (2008): *Bursaphelenchus chengi* sp. n. (NEMATODA: Parasitaphelenchidae) isolated from packaging wood from Taiwan, in Nanjing (China). *Nematology*, 10, 335-346. p.
- LI Y., YU D., LI F., XIE W., CHEN J., ZHANG Q. (2004): Molecular identification of *Bursaphelenchus xylophilus* by PCR amplification of first internal transcribed spacer of ribosomal DNA. *Plant Protection*, 30, 61-63. p.
- LINIT M.J. (1987): The insect component of pine wilt disease in the United States. In: WINGFIELD M.J. (Ed.): *Pathogenicity of the pine wood nematode*. American Phytopathological Society Press, St. Paul, 66-73. p.
- LINIT M.J. (1988): Nematode-vector relationships in the pine wilt disease system. *Journal of Nematology*, 20, 227-235. p.
- LINIT M.J., KONDO E., SMITH M.T. (1983): Insects associated with the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (NEMATODA: Aphelenchoididae), in Missouri. *Environmental Entomology*, 12, 467-470. p.
- LINSLEY E.G. (1959): Ecology of *Cerambycidae*. *Annual Review of Entomology*, 4, 99-138. p.
- LINSLEY E.G., CHEMSAK J.A. (1985): The *Cerambycidae* of North America. Part VII., No. 1: Taxonomy and classification of the subfamily Lamiinae, tribes Parmenini through Acanthoderini. *University of California Publications in Entomology*, 102, 1-258. p.

- LUZZI M.A., WILKINSON R.C., TARJAN A.C. (1984): Transmission of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, to slash pine trees and log bolts by a cerambycid beetle, *Monochamus titillator* in Florida. *Journal of Nematology*, 16, 37-40. p.
- MABUHAY J., NAKAGOSHI N. (2012): Response of soil microbial communities to changes in a forest ecosystem brought about by pine wilt disease. *Landscape and Ecological Engineering*, 8 (2) 189. p.
- MAEHARA N., FUTAI K. (1996): Factors affecting both the numbers of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (NEMATODA: Aphelenchoididae), carried by the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus* (COLEOPTERA: Cerambycidae), and the nematode's life history. *Applied Entomology and Zoology*, 31, 443-452. p.
- MAEHARA N., FUTAI K. (2000): Population changes of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (NEMATODA: Aphelenchoididae), on fungi growing in pine-branch segments. *Applied Entomology and Zoology*, 35, 413-417. p.
- MAKINA Y., MORIMOTO K., KURANAGA Z., IWASAKI A., YOSHIDA S. (1978): Field experiments for effective way of trapping *Monochamus alternatus* by attractants. *Transactions of the 31st annual meeting of the Japanese Forestry Society, Kyushu Branch*, 247-248. p.
- MALEK R.B., APPLEBY J.E. (1984): Epidemiology of pine wilt in Illinois. Disease distribution. *Plant Disease*, 68, 180-186. p.
- MAMIYA Y. (1975a): Behavior of pine wood nematodes in pine wood in early stages of the disease development. *Trans Mtg Japanese Forest Society*, 86, 285-286. p.
- MAMIYA Y. (1975b): Population dynamics of *Bursaphelenchus xylophilus* within pine trees. *Shinrin-boeki (For Pests)*, 24, 192-196. p.
- MAMIYA Y. (1975c): The life history of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus lignicolus*. *Japanese Journal of Nematology*, 5, 16-25. p.
- MAMIYA Y. (1976): Pine wilting disease caused by the pine wood nematode, *Bursaphelenchus lignicolus* in Japan. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 10, 207-211. p.
- MAMIYA Y. (1983): Pathology of the pine wilt disease caused by *Bursaphelenchus xylophilus*. *Annual review of Phytopathology*, 21, 201-220. p.
- MAMIYA Y. (1984): The pine wood nematode. In: NICKLE W.R. (Ed.): *Plant and insect nematodes*. New York and Basel: Marcel Dekker, Inc., 589-627. p.
- MAMIYA Y. (1986): Interspecific hybridization between *Bursaphelenchus xylophilus* and *B. mucronatus* (APHELENCHIDA: Aphelenchoididae). *Applied Entomology and Zoology*, 21, 159-163. p.

- MAMIYA Y. (1988): History of pine wilt disease in Japan. *Journal of Nematology*, 20 (2) 219-226. p.
- MAMIYA Y. (2004): Pine wilt disease in Japan. 9-20. p. In: MOTA M.M., VIEIRA P. (Eds.): *The pinewood nematode, Bursaphelenchus xylophilus*. Proceedings of an International Workshop, University of Évora, Portugal, August 20-22, 2001. Nematology Monographs and Perspectives, Volume 1. Leiden, The Netherlands: Brill Academic Publishers, 291. p.
- MAMIYA Y., ENDA N. (1972): Transmission of *Bursaphelenchus lignicolus* (NEMATODA: Aphelenchoididae) by *Monochamus alternatus* (COLEOPTERA: Cerambycidae). *Nematologica*, 18, 159-162. p.
- MAMIYA Y., KIYOHARA T. (1972): Description of *Bursaphelenchus lignicolus* n. sp. (NEMATODA: Aphelenchoididae) from pine wood and histopathology of nematode-infested trees. *Nematologica*, 18, 120-124. p.
- MAMIYA Y., ENDA N. (1979): *Bursaphelenchus mucronatus* n. sp. – (NEMATODA: Aphelenchoididae) from pine wood and its biology and pathogenicity to pine trees. *Nematologica*, 25, 353-361. p.
- MASSEY C.L. (1974): Biology and taxonomy of nematode parasites and associates of bark beetles in the United States. *USDA Agriculture Handbook No. 446, Forest Service, United States Governmental Printing Office, Washington DC*, 233. p.
- MATSUNAGA K., TOGASHI K. (2004): A simple method for discriminating *Bursaphelenchus xylophilus* and *B. mucronatus* by species specific polymerase chain reaction primer pairs. *Nematology*, 6, 273-277. p.
- MCNAMARA D.G. (2004): Quarantine concerns about the methods used to demonstrate pathogenicity of *Bursaphelenchus* spp. 187-197. p. In: MOTA M.M., VIEIRA P. (Eds.): *The pinewood nematode, Bursaphelenchus xylophilus*. Proceedings of an International Workshop, University of Évora, Portugal, August 20-22, 2001. Nematology Monographs and Perspectives, Volume 1. Leiden, The Netherlands: Brill Academic Publishers, 291. p.
- MEDVEGY M., PINTÉR A., SZÉKELY K., RETEZÁR I., SZALÓKI D. (2007): Boroscsapdázás: módszer a cincérek (COLEOPTERA: Cerambycidae) egyedszámának és élőhelyük állapotának értékelésére magyarországi tölgyesekben. *Folia Musei historico-naturalis Bakonyiensis*, 24, 95-102. p.
- METGE K., BURGERMEISTER W. (2004): Molecular identification and pathway analysis is of the introduced pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*. BBA, Messeweg 11/12, D-38104 Braunschweig, Germany, 1-2.p.

- METGE K., BURGERMEISTER W. (2006): Intraspecific variation in isolates of *Bursaphelenchus xylophilus* (NEMATODA: Aphelenchoididae) revealed by ISSR and RAPD fingerprints. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 113, 275-282. p.
- MOTA M.M., BRAASCH H., BRAVO M.A., PEÑAS A.C., BURGERMEISTER W., METGE K., SOUSA E. (1999): First report of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and Europe. *Nematology*, 1, 727-734. p.
- MYERS R.F. (1986): Cambium destruction in conifers caused by pinewood nematodes. *Journal of Nematology*, 18, 398-402. p.
- MYERS R.F. (1988): Pathogenesis in pine wilt caused by pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Journal of Nematology*, 20, 236-244. p.
- NAKAMURA K. (2008): Attraction trap for monitoring *Monochamus alternatus* adults – its usefulness and limitations. 369-378. p. In: MOTA M.M., VIEIRA P. (Eds.): *Pine wilt disease: A worldwide threat to forest ecosystems*. The Netherlands: Springer, 405. p.
- NAVES P.M., SOUSA E., QUARTAU J.A. (2006): Feeding and oviposition preferences of *Monochamus galloprovincialis* for certain conifers under laboratory conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 120, 99-104. p.
- NAVES P.M., CAMACHO S., DE SOUSA E.M., QUARTAU J.A. (2007): Transmission of the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* through feeding activity of *Monochamus galloprovincialis* (COLEPOTERA: Cerambycidae). *Journal of Applied Entomology*, 131, 21-25. p.
- NCBI (2013): National Center for Biotechnology Information. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- NEMATOL GIS SYSTEM: <http://nematol.unh.edu/GIS/index.php>
- NICKLE W.R. (1970): A taxonomic review of the genera of the Aphelenchoidea (Fuchs, 1937) Thorne, 1949 (NEMATODA: Tylenchida). *Journal of Nematology*, 2, 375-392. p.
- NICKLE W.R., GOLDEN A.M., MAMIYA Y., WERGIN W.P. (1981): On the taxonomy and morphology of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner and Buhrer 1934) Nickle 1970. *Journal of Nematology*, 13, 385-392. p.
- NOBUCHI T., TOMINAGA T., FUTAI K., HARADA H. (1984): Cytological study of pathological changes in Japanese black pine (*Pinus thunbergii*) seedlings after inoculation with pinewood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *Bulletin of Kyoto University Forest*, 56, 224-233. p.
- OKLAND B., SKARPAAS O., SCHROEDER M., MAGNUSSON C., LINDELÖW Á., THUNES K. (2010): Is eradication of the pinewood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*) likely? An evaluation of current contingency plans. *Risk Analysis*, 30 (9)1424-1439. p.

- PALMISANO A.M., AMBROGIONI L., CAROPPO S. (1994): First record of a *Bursaphelenchus* species from *Pinus pinaster* in Italy. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 24 (2) 467-474. p.
- PEÑAS A.C., METGE K., MOTA M., VALADAS V. (2006): *Bursaphelenchus antoniae* sp. n. (NEMATODA: Parasitaphelenchidae) associated with *Hylobius* sp. from *Pinus pinaster* in Portugal. *Nematology*, 8, 659-669. p.
- PEÑAS A.C., BRAVO M.A., VALADAS V., MOTA M.M. (2008): Detailed morphobiometric studies of *Bursaphelenchus xylophilus* and characterisation of other *Bursaphelenchus* species (NEMATODA: Parasitaphelenchidae) associated with *Pinus pinaster* in Portugal. *Journal of Nematode Morphology Systematics*, 10, 137-163. p.
- PÉREZ G., DÍEZ J.J., IBEAS F., PAJARES J.A. (2008): Assessing pine wilt disease risk under a climate change scenario in North-western Spain. 269-282. p. In: BRAVO F., LEMAY V., JANDL R., VON GADOW K. (Eds.): *Managing forest ecosystems: The challenge of climate change*. The Netherlands: Springer, 342. p.
- POLOMSKI J., SCHÖNFELD U., BRAASCH H., DOBBERTIN M., BURGERMEISTER W., RIGLING D. (2006): Occurrence of *Bursaphelenchus* species in declining *Pinus sylvestris* in dry Alpine valley in Switzerland. *Forest Pathology*, 36, 110-118. p.
- REDDY S.R., PINDI P.K., REDDY S.M. (2005): Molecular methods for research on arbuscular mycorrhizal fungi in India: problems and prospects. *Current Science*, 89 (10) 1699-1709. p.
- ROBBINS K. (1982): Distribution of the pinewood nematode in the United States. In: APPLEBY J.E., MALEK R.B. (Eds.): *Proceedings of the national pine wilt disease workshop. III. Natural History Survey, Champaign, IL, USA*, 3-6. p.
- ROBERTSON L., ARCOS S.C., ESCUER M., MERINO R.S., ESPARRAGO G., ABELLERA A., NAVAS A. (2011): Incidence of the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* Steiner and Buhrer, 1934 (Nickle, 1970) in Spain. *Nematology*, 13, 755-757. p.
- ROBINET C., VAN OPSTAL N., BAKER R., ROQUES A. (2011): Applying a spread model to identify the entry points from which the pine wood nematode, the vector of pine wilt disease, would spread most rapidly across Europe. *Biological Invasions*, 13, 2981-2995. p.
- ROQUES A., RABITSCH W., RASPLUS J.-Y., LOPEZ-VAAMONDE C., NENTWIG W., KENIS M. (2009): Alien Terrestrial Invertebrates of Europe. 63-79. p. In: DAISIE (Ed.): *Handbook of Alien Species in Europe*, Dordrecht: Springer.
- RORIZ M., SANTOS C., VASCONCELOS M.W. (2011): Population dynamics of bacteria associated with different strains of the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* after inoculation in maritime pine (*Pinus pinaster*). *Experimental Parasitology*, 128, 357-364. p.

- RUICĂNESCU A. (2007): Familia *Cerambycidae*. 134-137. p. In: MOLDOVAN O.T., CÎMPEAN M., BIRDA D., IEPURE S., ILIE V. (Eds.): *Checklist of Romania Fauna (terrestrial and freshwater species)*. Institutul de Speologie Emil Racovita, Casa Cărții de Știință.
- RUTHERFORD T.A., WEBSTER J.M. (1987): Distribution of pine wilt disease with respect to temperature in North America, Japan and Europe. *Canadian Journal of Forest Research*, 17, 1050-1059. p.
- RUTHERFORD T.A., MAMIYA Y., WEBSTER J.M. (1990): Nematode-induced pine wilt disease: factors influencing its occurrence and distribution. *Forest Science*, 36, 145-155. p.
- RUTHERFORD T.A., RIGA E., WEBSTER J.M. (1992): Temperature-mediated behavioral relationships in *Bursaphelenchus xylophilus*, *B. mucronatus*, and their hybrids. *Journal of Nematology*, 24, 40-44. p.
- RÜHM W. (1956): Die Nematoden der Ipiden: Parasitologische Schriftenreihe, 6, Veb Gustav Fischer Verlag, Jena.
- RÜHM W. (1960): Ein Beitrag zur Nomenklatur und Systematik einige mit Scolytiden vergesellschafteter Nematodenarten, *Zoologischer Anzeiger*, 164, 201-213. p.
- RÜHM W. (1964): Ein Beitrag zur Vergesellschaftung zwischen Nematoden und Insekten (*Pelodera bakeri* n. sp. [NEMATODA, Rhabditoidea, Rhabditidae] eine mit *Calvertius tuberosus* Perm. et Germ. [COLEOPTERA, Curculionidae, Hylobiinae] vergesellschaftete Nematodenart an *Araucaria araucana* [Mol.] Koch), *Zoologischer Anzeiger*, 173, 212-220. p.
- RYSS A., VIEIRA P., MOTA M.M., KULINICH O. (2005): A synopsis of genus *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937 (APHLENCHIDA: Parasitaphelenchidae) with keys to species. *Nematology*, 7, 393-458. p.
- RYSS A., VIEIRA P., MOTA M.M. (2008): The history of expansion of the genus *Bursaphelenchus* (NEMATODA: Aphelenchida: Parasitaphelenchidae). *Doklady Biological Sciences*, 419 (1) 97-99. p.
- SATO H., SAKUYAMA T., KOBAYASHI M. (1987): Transmission of *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhner) Nickle (NEMATODA: Aphelenchoididae) by *Monochamus saltuarius* (Gebler) (COLEOPTERA: Cerambycidae). *Journal of the Japanese Forest Society*, 69, 492-496. p.
- SCHAUER-BLUME M., STURHAN D. (1989): Vorkommen von Kiefernholznematoden (*Bursaphelenchus* spp.) in der Bundesrepublik Deutschland? *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 41, 133-136. p.
- SCHÖNFELD U., BRAASCH H., BURGERMEISTER W. (2006): *Bursaphelenchus* spp. (NEMATODA: Parasitaphelenchidae) in wood chips from sawmills in Brandenburg and

description of *Bursaphelenchus willibaldi* sp. n.. *Russian Journal of Nematology*, 14, 119-126. p.

- SCHÖNFELD U., BRAASCH H., BURGERMEISTER W., BRÖTHER H. (2008): Investigations on wood-inhabiting nematodes of the genus *Bursaphelenchus* in pine forests in the Brandenburg Province, Germany. 69-73. p. In: MOTA M.M., VIEIRA P. (Eds.): *Pine wilt disease: A worldwide threat to forest ecosystems*. The Netherlands: Springer, 405. p.
- SCHRADER G., UNGER J.G. (2003): Plant quarantine as a measure against invasive alien species: the framework of the International Plant Protection Convention and the plant health regulations in the European Union. *Biological Invasions*, 5, 357-364. p.
- SCHRÖEDER L.M., MAGNUSSON C. (1992): Transmission of *Bursaphelenchus mucronatus* (NEMATODA) to branches and bolts of *Pinus sylvestris* and *Picea abies* by the cerambycid beetle *Monochamus sutor*. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 7, 107-112. p.
- SCHRÖDER T., MCNAMARA D.G., GAAR V. (2009): Guidance on sampling to detect pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* in trees, wood and insects. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 39 (2) 179-188. p.
- SCHWENKE W. (1974): Die Forstschädlinge Europas. Bd. 2. Verlag Paul Parey, Hamburg, 500 p.
- SIKES D. (2013): 2009-07-08-CPX-4461a-Lindgren funnel.jpg.
<http://www.flickr.com/photos/alaskaent/4174756122/in/photostream>
- SIMPSON L.A., BARTON A.F.M. (1991): Determination of the fibre saturation point in whole wood using DSC. *Wood science and technology*, 25 (4) 301-308. p.
- SLÁMA M.E.F. (1998): Tesaříkovití: *Cerambycidae* České republiky a Slovenské republiky (Brouci: *Coleoptera*). [Long-horned beetles (*Cerambycidae*) of the Czech Republic and the Slovak Republic (Beetles: *Coleoptera*).], Krhanice: Milan Sláma, 383. p.
- SOLIMAN T., MOURITS M.C.M., VAN DER WERF W., HENGVELD G.M., ROBINET C., OUDE LANSINK A. (2012): Framework for modelling economic impacts of invasive species applied to pine wood nematode in Europe. *PLoS ONE* 7, 9, e45505.
- SOUSA E., BRAVO M.A., PIRES J., NAVES P., PEÑAS A.C., BONIFÁCIO L., MOTA M.M. (2001): *Bursaphelenchus xylophilus* (NEMATODA: Aphelenchoididae) associates with *Monochamus galloprovincialis* (COLEOPTERA: Cerambycidae) in Portugal. *Nematology*, 3, 89-91. p.
- SOUSA E., NAVES P., BONIFÁCIO L., BRAVO M.A., PEÑAS A.C., PIRES J., SERRAO M. (2002): Preliminary survey for insects associated with *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 32, 499-502. p.

- SOUSA E., NAVES P., BONIFÁCIO L., INÁCIO L., HENRIQUES J., EVANS H. (2011a): Survival of *Bursaphelenchus xylophilus* and *Monochamus galloprovincialis* in pine branches and wood packaging material. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 41 (2) 203-207. p.
- SOUSA E., NAVES P., BONIFÁCIO L., RODRIGUES J.M. (2011b): Risk assessment of *Pinus pinea* L. in relation to pine wood nematode. National Institute of Biological Resources, National Forestry Authority of Portugal, June 2011. DG SANCO.
- SOUTHEY J.F. (1970): Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. *Technical Bulletin 2, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Her Majesty's Stationery Office, London, UK*, 148 p.
- STAMPS W.T., LINIT M.J. (1998): Neutral storage lipid and exit behavior of *Bursaphelenchus xylophilus* fourth-stage dispersal juveniles from their beetle vectors. *Journal of Nematology*, 30, 255-261. p.
- STEINER G., BUHRER E.M. (1934): *Aphelenchoides xylophilus* n. sp., a nematode associated with blue-stain and other fungi in timber. *Journal of Agricultural Research*, 48, 949-951. p.
- SUTHERLAND J.R. (2008): A brief overview of the pine wood nematode and pine wilt disease in Canada and the United States. 13-25. p. In: ZHAO B.G., FUTAI K., SUTHERLAND J.R., TAKEUCHI Y. (Eds.): *Pine wilt disease*. Tokyo, Japan: Springer, 459. p.
- SUZUKI K. (2002): Pine wilt disease – a threat to pine forest in Europe. *Dendrobiology*, 48, 71-74. p.
- TAKESHITA K., HAGIHARA Y., OGAWA S. (1975): Environmental analysis to pine damage in Western Japan. *Bulletin of Fukuoka Forest Experimental Station*, 24, 1-45. p.
- TAKEUCHI Y., FUTAI K. (2007): Asymptomatic carrier trees in pine stands naturally infected with *Bursaphelenchus xylophilus*. *Nematology*, 9, 243-250. p.
- TAKEUCHI Y., KANZAKI N., FUTAI K. (2005): A nested PCR-based method for detecting the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, from pine wood. *Nematology*, 7, 775-782. p.
- TARÈS S., LEMONTEY J.M., GUIRAN G., ABAD P. (1993): Cloning and characterization of a highly conserved satellite DNA sequence specific for the phytoparasitic nematode *Bursaphelenchus xylophilus*. *Gene*, 129, 269-273. p.
- TARÈS S., LEMONTEY J.M., GUIRAN G., ABAD P. (1994): Use of species-specific satellite DNA from *Bursaphelenchus xylophilus* as a diagnostic probe. *Phytopathology*, 84, 294-298. p.
- TARJAN A., BAÉZA-ARAGON C. (1982): An analysis of the genus *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937. *Nematropica*, 12, 121-135. p.

- TOGASHI K., ARAKAWA Y. (2003): Horizontal transmission of *Bursaphelenchus xylophilus* between sexes of *Monochamus alternatus*. *Journal of Nematology*, 35, 7-16. p.
- TOMALAK M., FILIPIAK A. (2011): *Bursaphelenchus tryphloeus* sp. n. (NEMATODA: Parasitaphelenchinae) – an associate of the bark beetle, *Tryphloeus asperatus* (Gyll.) (COLEOPTERA: Curculionidae, Scolytinae), in aspen, *Populus tremula* L. *Nematology*, 13 (3) 619-636. p.
- TOMICZEK C., HOYER-TOMICZEK U. (2008): Biology studies relevant to the vector role of *Monochamus* species for pinewood nematode. 215-220. p. In: MOTA M.M., VIEIRA P. (Eds.): *Pine wilt disease: A worldwide threat to forest ecosystems*. The Netherlands: Springer, 405. p.
- TOMMINEN J. (1993): An assessment of the pinewood nematode and related species in wood products and their potential risk to Finnish forests. *Dissertation at the University of Helsinki, Department of Applied Zoology, Report No. 18*.
- TÓTH Á., ELEKES A. (2011): Első jelentés a *Bursaphelenchus mucronatus* és *B. vallesianus* (NEMATODA: Parasitaphelenchidae) magyarországi jelenlétéről tülevelű fajokon. *Állattani Közlemények*, 96 (1-2) 23-38. p.
- TÓTH Á., ELEKES M. (2013): Report on the survey for *Bursaphelenchus xylophilus* and the occurrence of other *Bursaphelenchus* species in Hungarian coniferous forests. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 43 (1) 152-154. p.
- TÓTH Á., ELEKES M., KISS J. (2012): Monitoring quarantine pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* in Hungary. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 47 (1) 55-59. p.
- TZEAN S., JAN S. (1985): Pine wilt disease caused by pinewood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*) and its occurrence in Taiwan. *Phytopathologist and Entomologist*, 12, 1-19. p.
- TZEAN S.S., TANG J.S. (1985): The occurrence of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, in Taiwan. *Proceedings ROC Symposium Electron Microscopy*, 6th, 38-39. p.
- VIEIRA P., AKBULUT S., MOTA M.M., VALADAS V. (2003): First report of *Bursaphelenchus* sp. from Turkey, associated with *Pinus nigra*. *Journal of Nematology*, 35, 369. p.
- VIEIRA P., RYSS A., SANTOS A.R., MOTA M.M. (2009): On the vulval morphology of some species of *Bursaphelenchus* (NEMATODA: Parasitaphelenchinae). *Nematology*, 11 (5) 793-798. p.
- VRAIN T.C. (1993): Restriction fragment length polymorphism separates species of the *Xiphinema americanum* group. *Journal of Nematology*, 25, 361-364. p.

- WALIA K.K., NEGI S., BAJAJ H.K., KALIA D.C. (2003): Two new species of *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937 (NEMATODA: Aphelenchoididae) from pine wood and insect frass from India. *Indian Journal of Nematology*, 33, 1-5. p.
- WANG H.Y., ZHANG S.S. (2007): Description of *Bursaphelenchus parapinasteri* sp. nov. (NEMATODA: Parasitaphelenchidae) in wood of *Pinus massoniana* from Fujian province, China. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 32 (4) 906-912. p.
- WANG J., YU B., LIN M. (2005): Description of a new species (NEMATODA: Aphelenchoididae) isolated from wood packaging material. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 30, 314-319. p.
- WANG X.R., KONG X.C., JIA W.H., ZHU X.W., REN L.L., MOTA M.M. (2010): A rapid staining-assisted wood sampling method for PCR-based detection of pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* in *Pinus massoniana* wood tissue. *Forest Pathology*, 40, (6) 510-520. p.
- WARREN J.E., EDWARDS O.R., LINIT M.J. (1995): Influence of bluestain fungi on laboratory rearing of pinewood nematode infested beetles. *Fundamental and Applied Nematology*, 18, 95-98. p.
- WEBSTER J.M., ANDERSON R.V., BAILLIE D.L., BECKENBACH K., CURRAN J., RUTHERFORD T.A. (1990): DNA probes for differentiating isolates of the pinewood nematode species complex. *Revue de Nématologie*, 13, 255-263. p.
- WHITEHEAD A.G. (1998): Plant nematode control. *CABI Publishing, Wallingford*, 384. p.
- WIBERG P., MORÉN T.J. (1999): Moisture flux determination in wood during drying above fibre saturation point using CT-scanning and digital image processing. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 57, 137-144. p.
- WILLIAMS S.M., DE SALLE R., STROBECK C. (1985): Homogenization of geographical variants at the nontranscribed spacer of rDNA in *Drosophila mercatorum*. *Molecular Biology and Evolution*, 2, 338-346. p.
- WINGFIELD M.J. (1983): Transmission of pine wood nematode to cut timber and girdled trees. *Plant Disease*, 67, 35-37. p.
- WINGFIELD M.J. (1987): A comparison of the mycophagous and the phytophagous phases of the pine wood nematode. 81-90. p. In: WINGFIELD M.J. (Ed.): *Pathogenicity of the pine wood nematode*. Symposium Series, APS Press, The American Phytopathological Society.
- XIE L.Q., ZHAO B.G. (2008): Post-inoculation population dynamics of *Bursaphelenchus xylophilus* and associated bacteria in pine wilt disease on *Pinus thunbergii*. *Journal of Phytopathology*, 156, 385-389. p.
- YAMANE A., MIYOSHI M., HATTA Y., NAKAMURA T., IWATA R., ISHIKAWA T., KOBAYASHI H., MAMIYA Y. (2003): Pine wood nematode movement on, and migration

- from, the body surface of the Japanese pine sawyer during feeding on pine twigs after emergence. *Nematology Monographs and Perspectives*, 1, 247-260. p.
- YANG B., WANG Q. (1989): Distribution of the pinewood nematode in China and susceptibility of some Chinese and exotic pines to the nematode. *Canadian Journal of Research*, 19, 1527-1530. p.
- YANG B.J. (2002): Advance in research of pathogenetic mechanism of pine wood nematode. *Forest Pest and Disease*, 1, 27-31. p.
- YANG B.J., PAN H.Y., TANG J., WANG Y.Y., WANG L.F. (2003): Pine wilt disease. *Chinese Forestry Press, Beijing*.
- YANO M. (1913): Investigation on the cause of pine mortality in Nagasaki Prefecture. *Sanrinkoho*, 4, 1-14. p.
- YE W., GIBLIN-DAVIS R.M., BRAASCH H., MORRIS K., THOMAS W.K. (2007): Phylogenetic relationships among *Bursaphelenchus* species (NEMATODA: Parasitaphelenchidae) inferred from nuclear ribosomal and mitochondrial DNA sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43, 1185-1197. p.
- YEATES G.W., BONGERS T., DE GOEDE R.G., FRECKMAN D.W., GEORGIEVA S.S. (1993): Feeding habits in soil nematode families and genera. – An outline for soil ecologists. *Journal of Nematology*, 25 (3) 315-331. p.
- YI C., BYUN B., PARK J., YANG S., CHANG K. (1989): First finding of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhrer) Nickle and its insect vector in Korea. *Research Reports of the Forestry Research Institute Seoul*, 38, 141-149. p.
- YIN K., FANG Y., TARJAN A.C. (1988): A key to species in the genus *Bursaphelenchus* with a description of *Bursaphelenchus hunanensis* sp. n. (NEMATODA: Aphelenchoididae) found in pine wood in Hunan Province, China. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 55, 1-11. p.
- YOSHIMURA A., KAWASAKI K., TAKASU F., TOGASHI K., FUTAI K., SHIGESADA N. (1999): Modelling the spread of pine wilt disease caused by nematodes with pine sawyers as vector. *Ecology*, 80, 1691-1702. p.
- ZHANG L., LIAO J., FENG Z. (2001): Sequencing and PCR-SSCP analysis of ribosomal DNA of *Bursaphelenchus* nematodes. *Acta Phytopathologica Sinica*, 31, 84-89. p.
- ZHAO B.G., WANG H.L., HAN S.F., HAN Z.M. (2003): Distribution and pathogenicity of bacteria species carried by *Bursaphelenchus xylophilus* in China. *Nematology*, 5, 899-906. p.
- ZHAO J., YU S., YAO J., LIN C., DING D., WANG H. (2004): PWN risk assessment in Huangshan Scenic Area II. Monitoring of nematode carried by pine borer beetles. *Forest Research*, 17, 72-76. p.

- ZHENG J., SUBBOTIN S.A., HE S., GU J., MOENS M. (2003): Molecular characterisation of some Asian isolates of *Bursaphelenchus xylophilus* and *B. mucronatus* using PCR-RFLPs and sequences of ribosomal DNA. *Russian Journal of Nematology*, 11, 17-22. p.
- ZIJLSTRA C., LEVER A.E.M., UENK B.J., VAN SILFHOUT C.H. (1995): Differences between ITS region of isolates of root-knot nematodes *Meloidogyne hapla* and *M. chitwoodi*. *Phytopathology*, 85 (12) 1231-1237. p.

M2. A SZAKIRODALOMBAN 2013 ÉVIG LEÍRT *BURSAPHELENCHUS*-FAJOK JEGYZÉKE

Genus

Bursaphelenchus Fuchs, 1937

=*Aphelenchoides* (*Bursaphelenchus*) (Fuchs, 1937) Rühm, 1956

=*Omemea* Massey, 1971

=*Teragramia* Massey, 1974

=*Rhadinaphelenchus* Goodey, 1960

=*Aphelenchoides* (*Bursaphelenchus*) (Fuchs, 1937) Rühm, 1956

=*Devibursaphelenchus* Kakuliya, 1967

=*Huntaphelenchoides* Nickle, 1970

=*Ipsaphelenchus* Lieutier és Laumond, 1978

Típusfaj

Bursaphelenchus piniperdae Fuchs, 1937

=*Aphelenchoides piniperdae* (Fuchs, 1937) Goodey, 1951

=*Aphelenchoides* (*Bursaphelenchus*) *piniperdae* (Fuchs, 1937) Goodey, 1951

Egyéb fajok

Bursaphelenchus aberrans Yusheng, Kan és Jun, 2002

Bursaphelenchus abietinus Braasch és Schmutzenhofer, 2000

Bursaphelenchus abruptus Giblin-Davis, Mundo-Ocampo, Baldwin, Norden és Batra, 1993

Bursaphelenchus africanus Braasch, Gu, Burgermeister, Brandstetter és Metge, 2007

Bursaphelenchus anamurius Akbulut, Braasch, Baysal, Brandstetter és Burgermeister, 2007

Bursaphelenchus anatolius Giblin-Davis, Hazir, Center, Weimin, Keskin, Thorp és Thomas, 2007

Bursaphelenchus antoniae Peñas, Metge, Mota és Valadas, 2006

Bursaphelenchus arthuri Burgermeister, Gu és Braasch, 2005

Bursaphelenchus baujardi Walia, Negi, Bajaj és Kalia, 2003

Bursaphelenchus bestiolus Massey, 1974

Bursaphelenchus bicoloris (Devdariani, 1973) n. comb.

=*Parasitaphelenchus bicoloris* Devdariani, 1973

Bursaphelenchus borealis Korentchenko, 1980

Bursaphelenchus burgermeisteri Braasch, Gu és Brandstetter, 2007

Bursaphelenchus chengi Li, Trinh, Waeyenberge és Moens, 2008

Bursaphelenchus chitwoodi (Rühm, 1956) Goodey, 1960

=*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) chitwoodi* Rühm, 1956

=*Bursaphelenchus pinasteri* Baujard, 1980

Bursaphelenchus clavicauda Kanzaki, Maehara és Masuya, 2007

Bursaphelenchus cocophilus (Cobb, 1919) Baujard, 1989

=*Aphelenchus cocophilus* Cobb, 1919

=*Aphelenchus (Chitinoaphelenchus) cocophilus* (Cobb, 1919) Micoletzky, 1922

=*Aphelenchoides cocophilus* (Cobb, 1919) Goodey, 1933

=*Chitinoaphelenchus cocophilus* (Cobb, 1919) Chitwood, 1959

=*Rhadinaphelenchus cocophilus* (Cobb, 1919) Goodey, 1960

Bursaphelenchus conicaudatus Kanzaki, Tsuda és Futai, 2000

Bursaphelenchus corneolus Massey, 1966

Bursaphelenchus curvicaudatus Wang, Yu és Lin, 2005

Bursaphelenchus crenati (Rühm, 1956) Goodey, 1960

=*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) crenati* Rühm, 1956

Bursaphelenchus cryphali (Fuchs, 1930) Rühm, 1956

=*Parasitaphelenchus cryphali* Fuchs, 1930

=*Aphelenchoides cryphali* (Fuchs, 1930) Fuchs, 1937

=*Aphelenchoides (Schistonchus) cryphali* (Fuchs, 1930) Fuchs, 1937

=*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) cryphali* (Fuchs, 1930) Rühm, 1956

=*Schistonchus cryphali* (Fuchs, 1930) Skrjabin, Shikhobalova, Sobolev, Paramonov és Sudarikov, 1954

Bursaphelenchus debrae Hazir, Giblin-Davis, Keskin, Ye, Kanzaki, Center, Hazir, Kaya és Thomas, 2007

Bursaphelenchus digitulus Loof, 1964

Bursaphelenchus dongguanensis Fang, Zhao és Zhuo, 2002

Bursaphelenchus doui Braasch, Gu, Burgermeister és Zhang, 2005

Bursaphelenchus eggersi (Rühm, 1956) Goodey, 1960

=*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) eggersi* Rühm, 1956

Bursaphelenchus eidmanni (Rühm, 1956) Goodey, 1960

=*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) eidmanni* Rühm, 1956

Bursaphelenchus elytrus Massey, 1971

Bursaphelenchus eproctatus Sriwati, Kanzaki, Phan és Futai, 2008

Bursaphelenchus eremus (Rühm, 1956) Goodey, 1960

=*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) eremus* Rühm, 1956

- Bursaphelenchus ernoporus* Kurashvili, Kakulia és Devdariani, 1980
 =*Bursaphelenchus ernoporus* Devdariani, 1975
- Bursaphelenchus eroschenkii* Kolossova, 1998
- Bursaphelenchus erosus* Kurashvili, Kakulia és Devdariani, 1980
- Bursaphelenchus eucarpus* (Rühm, 1956) Goodey, 1960
 =*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) eucarpus* Rühm, 1956
- Bursaphelenchus firmae* Kanzaki, Maehara, Aikawa és Matsumoto, 2012
- Bursaphelenchus fraudulentus* (Rühm, 1956) Goodey, 1960
 =*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) fraudulentus* Rühm, 1956
- Bursaphelenchus fuchsi* Kruglik és Eroshenko, 2002
- Bursaphelenchus fungivorus* Franklin és Hooper, 1962
- Bursaphelenchus georgicus* Devdariani, Kakulia és Khavtasi, 1980
- Bursaphelenchus gerberae* Giblin-Davis, Kanzaki, Ye, Center és Thomas, 2006
- Bursaphelenchus glochis* Brzeski és Baujard, 1997
- Bursaphelenchus gonzalezi* Loof, 1964
- Bursaphelenchus hellenicus* Skarmoutsos, Braasch és Michalopoulou, 1998
- Bursaphelenchus hildegardae* Braasch, Burgermeister, Schönfeld, Metge és Brandstetter, 2006
- Bursaphelenchus hofmanni* Braasch, 1998
- Bursaphelenchus hunanensis* Yin, Fan és Tarjan, 1988
- Bursaphelenchus hunti* (Steiner, 1935) Giblin és Kaya, 1983
 =*Aphelenchoides hunti* Steiner, 1935
- Bursaphelenchus hylobianum* (Korenchenko, 1980) Hunt, 1993
 =*Parasitaphelenchus hylobianum* Korenchenko, 1980
- Bursaphelenchus idius* (Rühm, 1956) Goodey, 1960
 =*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) idius* Rühm, 1956
- Bursaphelenchus incurvus* (Rühm, 1956) Goodey, 1960
 =*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) incurvus* Rühm, 1956
- Bursaphelenchus kevinii* Giblin, Swan és Kaya, 1984
- Bursaphelenchus kiyoharai* Kanzaki, Maehara, Aikawa, Masuya és Giblin-Davis, 2011
- Bursaphelenchus kolymensis* Korentchenko, 1980
- Bursaphelenchus leoni* Baujard, 1980
- Bursaphelenchus lini* Braasch, 2004
- Bursaphelenchus luxuriosae* Kanzaki és Futai, 2003
- Bursaphelenchus macromucronatus* Gu, Zheng, Braasch és Burgermeister, 2008

- Bursaphelenchus maxbassiensis* (Massey, 1971) Baujard, 1989
 =*Omemea maxbassiensis* Massey, 1971
- Bursaphelenchus minutus* Walia, Negi, Bajaj és Kalia, 2003
- Bursaphelenchus mucronatus* Mamiya és Enda, 1979
- Bursaphelenchus newmexicanus* Massey, 1974
- Bursaphelenchus nuesslini* (Rühm, 1956) Goodey, 1960
 =*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) nuesslini* Rühm, 1956
- Bursaphelenchus obeche* Gu, Braasch, Zhen, Burgermeister és Lin, 2008
- Bursaphelenchus okinawaensis* Kanzaki, Maehara, Aikawa és Togashi, 2008
- Bursaphelenchus paracorneolus* Braasch, 2000
- Bursaphelenchus parapinasteri* Wang és Zhang, 2007
- Bursaphelenchus parvispicularis* Kanzaki és Futai, 2005
- Bursaphelenchus piniperdae ruehmpiniperdae* Ryss, Vieira, Mota és Kulinich, 2005
 =*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) piniperdae apud* Rühm, 1956 *nec* Fuchs, 1937
- Bursaphelenchus pinophilus* Brzeski és Baujard, 1997
- Bursaphelenchus pityogeni* Massey, 1974
- Bursaphelenchus platzeri* Giblin-Davis, Kanzaki, Weimi, Mundo-Ocampo, Baldwin és Thomas, 2006
- Bursaphelenchus poligraphi poligraphi* Fuchs, 1937
 =*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) poligraphi*, Fuchs, 1937
- Bursaphelenchus poligraphi ruehmpoligraphi* Ryss, Vieira, Mota és Kulinich, 2005
 =*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) poligraphi apud* Rühm, 1956 *nec* Fuchs, 1937
- Bursaphelenchus populneus* Kakulia, Devdariani és Maglakelidze, 1980
- Bursaphelenchus rainulfi* Braasch és Burgermeister, 2002
- Bursaphelenchus ratzeburgii* (Rühm, 1956) Goodey, 1960
 =*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) ratzenurgii* Rühm, 1956
- Bursaphelenchus rufipennis* Natsumi, Giblin-Davis, Cardoza, Ye, Raffa és Center, 2008
- Bursaphelenchus sachsi* (Rühm, 1956) Goodey, 1960
 =*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) sachsi* Rühm, 1956
- Bursaphelenchus scalaris* Kakulia, 1989
- Bursaphelenchus scolyti* Massey, 1974
- Bursaphelenchus seani* Giblin és Kaya, 1983
- Bursaphelenchus sexdentati* Rühm, 1960
 =*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) sexdentati* Rühm, 1960
 =*Bursaphelenchus bakeri* Rühm, 1964 (=junior objective synonym)

=*Bursaphelenchus naujaci* Baujard, 1980

Bursaphelenchus silvestris (Lieutier és Laumond, 1978) Baujard, 1980

=*Ipsaphelenchus silvestris* Lieutier és Laumond, 1978

Bursaphelenchus sinensis Palmisano, Ambrogioni, Tomiczek és Brandstetter, 2004

Bursaphelenchus singaporensis Gu, Zhang, Braasch és Burgermeister, 2005

Bursaphelenchus steineri (Rühm, 1956) Goodey, 1960

=*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) steineri* Rühm, 1956

Bursaphelenchus sutoricus Devdariani, 1974

Bursaphelenchus synchnus (Rühm, 1956) Goodey, 1960

=*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) synchnus* Rühm, 1956

Bursaphelenchus talonus (Thorne, 1935) Goodey, 1960

=*Aphelenchoides talonus* Thorne, 1935

=*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) talonus* (Thorne, 1935) Rühm, 1956

Bursaphelenchus tbilisyensis Kakulia, 1989

Bursaphelenchus teratospicularis Kakulia és Devdariani, 1965

Bursaphelenchus thailandae Braasch és Braasch-Bidasak, 2002

Bursaphelenchus trypophloeii Tomalak és Filipiak, 2011

Bursaphelenchus tritrunculus Massey, 1974

Bursaphelenchus tusciae Ambrogioni és Palmisano, 1998

Bursaphelenchus typographi (Kakuliya, 1967) Ebsary, 1991

=*DeviBursaphelenchus typographi* Kakuliya, 1967

Bursaphelenchus uncispicularis Zhuo, Li, Li, Yu és Liao, 2007

Bursaphelenchus vallesianus Braasch, Schönfeld, Polonski és Burgermeister, 2004

Bursaphelenchus varicauda Thong és Webster, 1983

Bursaphelenchus wekuae Kurashvili, Kakulia és Devdariani, 1980

Bursaphelenchus welchi Devdariani, 1974

Bursaphelenchus wilfordi Massey, 1964

Bursaphelenchus willi (Massey, 1974) Baujard, 1989

=*Teragramia willi* Massey, 1974

Bursaphelenchus willibaldi Schönfeld, Braasch és Burgermeister, 2006

Bursaphelenchus xerokarterus (Rühm, 1956) Goodey, 1960

=*Aphelenchoides (Bursaphelenchus) xerokarterus* Rühm, 1956

Bursaphelenchus xylophilus (Steiner és Buhner, 1934) Nickle, 1970

=*Bursaphelenchus lignicolus* Mamiya és Kiyohara, 1972

Bursaphelenchus yongensis Gu, Braasch, Burgermeister, Brandstetter és Zhang, 2006

Species inquirendae (további vizsgálatot igénylő, kétesen meghatározott fajok)

Bursaphelenchus conjunctus (Fuchs, 1930) Andrassy, 1958 *nec Aphelenchoides (Bursaphelenchus) conjunctus* of Rühm, 1956 and *B. conjunctus* of J. B. Goodey, 1960 (= *Bursaphelenchus ruehmi* Baker, 1962)

= *Parasitaphelenchus conjunctus* Fuchs, 1930

Bursaphelenchus conurus (Steiner, 1932) Goodey, 1960

= *Aphelenchoides conurus* Steiner, 1932

Species incertae sedis (vitatott pozíció)

Bursaphelenchus lignophilus (Körner, 1954) Meyl, 1961

= *Aphelenchoides lignophilus* Körner, 1954

Species inderteminatae (eldöntetlen fajok)

Bursaphelenchus ruehmi Baker, 1962

= *Aphelenchoides (Bursaphelenchus) conjunctus* Rühm, 1956

= *Bursaphelenchus conjunctus* Goodey, 1960

Nomina nuda (nem felel meg a Zoológiai Nevezéktan Nemzetközi Kódex 13. cikk *a*) szakasz rendelkezéseinek)

Bursaphelenchus hylesini Devdariani, 1975

**M3. A FENYŐFÉLÉKEN ELŐFORDULÓ EURÓPAI BURSAPHELENCHUS-FAJOK,
AZOK ISMERT ELTERJEDÉSI TERÜLETE, TÁPNÖVÉNYEI ÉS VEKTOR ROVARAI
(BRAASCH 2001)**

Faj	Ország	Növény	Vektor
<i>B. abietinus</i>	Ausztria	<i>Abies alba</i>	<i>Pityokteines curvidens</i> <i>Pityokteines spinidens</i> <i>Pityokteines vorontzowi</i>
<i>B. borealis</i>	Németország	<i>Picea abies</i> <i>Pinus sylvestris</i>	<i>Dryocoetes autographus</i>
<i>B. chitwoodi</i>	Németország	<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Hylastes ater</i>
<i>B. cryphali</i>	Németország	<i>Abies alba</i>	<i>Cryphalus piceae</i>
	Szlovákia	<i>Abies alba</i>	<i>Cryphalus piceae</i>
<i>B. eggersi</i>	Ausztria	-	<i>Hylurgops palliatus</i>
	Görögország	<i>Pinus pinaster</i>	-
	Németország	<i>Larix leptolepis</i> <i>Picea abies</i> <i>Picea excelsa</i> <i>Pinus strobus</i> <i>Pinus sylvestris</i>	<i>Hylurgops palliatus</i>
<i>B. eidmanni</i>	Németország	<i>Picea excelsa</i> <i>Picea sitchensis</i>	<i>Ips typographus</i>
	Szlovákia	<i>Picea abies</i>	<i>Ips typographus</i> <i>Ips amitinus</i>
<i>B. fraudulentus</i>	Németország	<i>Picea/Pinus</i>	-
<i>B. fungivorus</i>	Csehország	tülevelűek kérge	-
	Nagy-Britannia	<i>Gardenia sp./Botrytis cinerea</i>	-
	Németország	termesztő közeg, üvegház	-
<i>B. glochis</i>	Lengyelország	<i>Pinus sylvestris</i>	-
<i>B. hellenicus</i>	Görögország	<i>Pinus brutia</i>	<i>Tomicus piniperda</i>
	Németország	<i>Pinus sylvestris</i>	-
<i>B. hofmanni</i>	Ausztria	<i>Abies alba</i>	<i>Pityokteines curvidens</i>
	Csehország	import tülevelű faanyag	-
	Németország	<i>Picea abies</i>	-
<i>B. idius</i>	Ciprus	<i>Pinus brutia</i>	-
	Németország	<i>Picea excelsa</i>	<i>Pityogenes chalcographus</i>

Faj	Ország	Növény	Vektor
	Szlovákia	<i>Picea abies</i>	<i>Pityogenes chalcographus</i>
<i>B. incurvus</i>	Németország	<i>Picea excelsa</i> <i>Picea sitchensis</i> <i>Pinus pungens</i> <i>Pinus alba</i> <i>Pinus breweriana</i>	<i>Dendroctonus micans</i>
<i>B. leoni</i>	Ausztria	<i>Pinus sylvestris</i> <i>Pinus nigra</i>	-
	Ciprus	<i>Pinus brutia</i> <i>Pinus nigra</i> <i>Pinus pinea</i>	-
	Franciaország	<i>Pinus pinaster</i>	-
	Görögország	<i>Pinus brutia</i> <i>Pinus nigra</i> <i>Pinus pinaster</i> <i>Pinus radiata</i>	-
	Németország	<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Dryocoetes autographus</i>
	Olaszország	<i>Pinus halepensis</i> <i>Pinus pinaster</i> <i>Pinus pinea</i> <i>Pinus sylvestris</i>	
	Portugália	<i>Pinus pinaster</i>	-
<i>B. mucronatus</i>	Ausztria	<i>Abies alba</i> <i>Larix decidua</i> <i>Picea abies</i> <i>Pinus nigra</i> <i>Pinus sylvestris</i>	-
	Bulgária	<i>Pinus sp.</i>	-
	Csehország	<i>Pinus sylvestris</i>	-
	Finnország	<i>Picea abies</i> <i>Pinus sylvestris</i>	<i>Monochamus galloprovincialis</i> <i>Monochamus sutor</i>
	Franciaország	<i>Pinus pinaster</i>	-
	Görögország	<i>Pinus brutia</i>	-
	Lengyelország	<i>Pinus sylvestris</i>	-
	Németország	<i>Picea abies</i> <i>Larix decidua</i> <i>Pinus sylvestris</i>	<i>Monochamus galloprovincialis</i>
	Norvégia	<i>Pinus sylvestris</i>	-
	Olaszország	<i>Pinus nigra austriaca</i> <i>Pinus pinaster</i>	<i>Monochamus galloprovincialis</i>
	Oroszország	<i>Larix sibirica</i> <i>Picea sp.</i> <i>Pinus sp.</i>	-
	Spanyolország	<i>Pinus sp.</i>	-
	Svédország	<i>Picea abies</i>	<i>Monochamus galloprovincialis</i>

Faj	Ország	Növény	Vektor
		<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Monochamus sutor</i>
<i>B. naujaci</i>	Franciaország	<i>Pinus pinaster</i>	-
	Lengyelország	<i>Pinus sylvestris</i>	-
<i>B. nuesslini</i>	Németország	<i>Abies alba</i>	<i>Pityokteines curvidens</i>
	Szlovákia	<i>Abies alba</i>	<i>Pityokteines curvidens</i>
<i>B. paracorneolus</i>	Németország	<i>Picea abies</i> <i>Pinus sylvestris</i>	-
<i>B. pinasteri</i>	Franciaország	<i>Pinus pinaster</i>	-
	Németország	<i>Pinus sylvestris</i>	-
	Spanyolország	<i>Pinus</i> sp.	-
<i>B. piniperdae</i>	Ausztria	<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Tomicus piniperda</i>
	Hollandia	<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Tomicus piniperda</i>
	Németország	<i>Picea excelsa</i> <i>Pinus montana</i> <i>Pinus sylvestris</i>	<i>Tomicus piniperda</i>
	Szlovákia	<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Tomicus piniperda</i>
<i>B. pinophilus</i>	Lengyelország	<i>Pinus sylvestris</i>	-
	Németország	<i>Pinus sylvestris</i>	-
	Portugália	<i>Pinus pinaster</i>	-
<i>B. poligraphi</i>	Németország	<i>Picea abies</i> <i>Picea excelsa</i>	<i>Hylurgops palliatus</i> <i>Polygraphus poligraphus</i>
	Szlovákia	<i>Picea abies</i>	<i>Polygraphus poligraphus</i>
<i>B. sachsi</i>	Németország	<i>Picea excelsa</i>	<i>Dryocoetes autographus</i>
	Szlovákia	<i>Picea abies</i>	<i>Dryocoetes autographus</i>
<i>B. sexdentati</i>	Ausztria	<i>Pinus sylvestris</i>	-
	Bulgária	<i>Pinus</i> sp.	-
	Görögország	<i>Pinus brutia</i> <i>Pinus halepensis</i> <i>Pinus pinaster</i> <i>Pinus nigra</i> <i>Pinus sylvestris</i>	-
	Grúzia	-	-
	Litvánia	-	<i>Ips sexdentatus</i>
	Németország	<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Ips sexdentatus</i> <i>Tomicus piniperda</i>
	Olaszország	<i>Pinus halepensis</i> <i>Pinus pinaster</i> <i>Pinus pinea</i>	<i>Tomicus piniperda</i>
	Oroszország	-	<i>Ips sexdentatus</i>

Faj	Ország	Növény	Vektor
	Spanyolország	<i>Pinus</i> sp.	-
<i>B. silvestris</i>	Franciaország	<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Ips sexdentatus</i>
<i>B. teratospicularis</i>	Ciprus	<i>Pinus brutia</i>	-
	Görögország	<i>Pinus brutia</i> <i>Pinus halepensis</i>	-
	Grúzia	<i>Picea orientalis</i> <i>Pinus nigra</i>	<i>Blastophagus minor</i> <i>Orthotomicus proximus</i>
	Horvátország	<i>Cupressus sempervirens</i>	-
	Németország	<i>Pinus sylvestris</i>	-
	Olaszország	<i>Pinus halepensis</i> <i>Pinus pinaster</i> <i>Pinus pinea</i>	-
	Portugália	<i>Pinus pinaster</i>	-
<i>B. tusciae</i>	Németország	<i>Pinus sylvestris</i>	-
	Olaszország	<i>Pinus pinea</i>	-
<i>B. xylophilus</i>	Portugália	<i>Pinus pinaster</i>	<i>Monochamus galloprovincialis</i>

**M4. A BURSAPHELENCHUS-FAJOK TERMÉSZETES VEKTORAI ÉS TÁPNÖVÉNYEI
(RYSS ET AL. 2005)**

Faj	Ország	Vektor	Növény
<i>B. aberrans</i>	Kína (Guangdong)	-	<i>Pinus massoniana</i>
	Thaiföld	-	<i>Pinus merkusi</i>
<i>B. abietinus</i>	Ausztria	<i>Pityokteines curvidens</i> <i>Pityokteines spinidens</i> <i>Pityokteines vorontzowi</i>	<i>Abies alba</i>
<i>B. abruptus</i>	Amerikai Egyesült Államok (Alabama)	<i>Anthophora abrupta</i>	-
<i>B. baujardi</i>	India (Haryana)	-	<i>Bombax ceiba</i>
<i>B. bestiolus</i>	Amerikai Egyesült Államok (Új-Mexikó)	<i>Dendroctonus adjunctus</i>	<i>Pinus ponderosa</i>
<i>B. borealis</i>	Ciprus	-	<i>Pinus brutia</i>
	Németország	<i>Dryocoetes autographus</i>	<i>Picea abies</i> <i>Pinus sylvestris</i>
	Oroszország	<i>Ips subelongatus</i>	<i>Larix dahurica</i> <i>Picea abies</i> <i>Pinus sylvestris</i>
<i>B. chitwoodi</i>	Grúzia	<i>Hylastes ater</i>	-
	Németország	<i>Hylastes ater</i>	<i>Pinus sylvestris</i>
<i>B. cocophilus</i>	Brazília	<i>Metamasius</i> sp. <i>Rhynchophorus palmarum</i>	<i>Elaeis guineensis</i> <i>Oenocarpus distichus</i>
	Costa Rica	-	<i>Cocus nucifera</i>
	Grenada	<i>Rhynchophorus palmarum</i>	<i>Cocus nucifera</i>
	Karibi és Latin-amerikai régiók		<i>Cocus nucifera</i> <i>Elaeis guineensis</i>
	Kolumbia és Suriname	<i>Rhynchophorus palmarum</i>	<i>Elaeis guineensis</i>
	Közép- Amerika, Dél Amerika	-	<i>Elaeis guineensis</i>
<i>B. conicaudatus</i>	Japán	<i>Psacothoea hilaris</i>	<i>Ficus carica</i>
<i>B. corneolus</i>	Amerikai Egyesült Államok (Új-Mexikó)	<i>Dendroctonus adjunctus</i>	<i>Pinus ponderosa</i>
<i>B. crenati</i>	Grúzia	<i>Hylesinus crenatus</i>	<i>Fraxinus excelsior</i>
	Németország	<i>Hylesinus crenatus</i>	<i>Fraxinus excelsior</i>
<i>B. cryphali</i>	Németország	<i>Cryphalus piceae</i>	<i>Abies alba</i>

Faj	Ország	Vektor	Növény
	Szlovákia	<i>Cryphalus piceae</i>	<i>Abies alba</i>
<i>B. digitulus</i>	Venezuela	-	<i>Cocus nucifera</i>
<i>B. dongguanensis</i>	Kína (Guangdong)	-	<i>Pinus massoniana</i>
<i>B. eggersi</i>	Ausztria	<i>Hylurgops palliatus</i>	-
	Görögország	<i>Hylurgops palliatus</i>	<i>Pinus brutia</i> <i>Pinus pinaster</i>
	Grúzia	<i>Hylurgops palliatus</i>	<i>Abies</i> sp. <i>Larix</i> sp. <i>Picea orientalis</i> <i>Pinus cedrus</i>
	Németország	<i>Hylurgops palliatus</i>	<i>Larix leptolepis</i> <i>Picea excelsa</i> <i>Pinus sylvestris</i> <i>Pinus strobus</i>
	Spanyolország	-	<i>Abies alba</i> <i>Pinus pinaster</i> <i>Pinus radiata</i>
	Svájc	<i>Hylurgops palliatus</i>	-
<i>B. eidmanni</i>	Grúzia	<i>Ips typographus</i>	<i>Abies</i> sp. <i>Larix</i> sp. <i>Picea orientalis</i> <i>Pinus cedrus</i> <i>Pinus sitchensis</i>
	Németország	<i>Ips typographus</i>	<i>Picea abies</i> <i>Picea excelsa</i> <i>Pinus sitchensis</i>
	Szlovákia	<i>Ips typographus</i>	<i>Picea abies</i> <i>Picea excelsa</i> <i>Pinus sitchensis</i>
<i>B. elytrus</i>	Amerikai Egyesült Államok (Connecticut)	<i>Pissodes approximatus</i> <i>Pissodes strobi</i>	<i>Pinus resinosa</i>
<i>B. eremus</i>	Csehország	<i>Scolytus intricatus</i>	<i>Quercus</i> spp.
	Grúzia	<i>Scolytus intricatus</i>	<i>Castanea vulgaris</i> <i>Populus gracilis</i> <i>Quercus iberica</i> <i>Quercus pedunculata</i> <i>Quercus sessiliflora</i> <i>Salix</i> sp. <i>Ulmus foliacea</i>
	Németország	<i>Scolytus intricatus</i>	-
<i>B. eroshenkii</i>	Oroszország	-	<i>Pinus sibirica</i>
<i>B. erosus</i>	Grúzia	<i>Orthotomicus erosus</i>	<i>Abies</i> sp. <i>Picea orientalis</i> <i>Pinus sosnowskyi</i>

Faj	Ország	Vektor	Növény
<i>B. eucarpus</i>	Grúzia	<i>Scolytus mali</i>	<i>Malus domestica</i> <i>Prunus</i> sp. <i>Sorbus</i> sp.
	Németország	<i>Scolytus mali</i>	<i>Malus silvestris</i> <i>Pyrus communis</i>
<i>B. fraudulentus</i>	Amerikai Egyesült Államok (Oregon, Washington)	-	<i>Pinus monticola</i> <i>Thuja plicata</i>
	Ausztria	-	<i>Quercus robur</i>
	Grúzia	-	-
	Magyarország	-	<i>Quercus petraea</i>
	Németország	<i>Cerambyx scopolii</i> <i>Trypophloeus granualtus</i>	<i>Alnus glutinosa</i> <i>Betula pendula</i> <i>Betula pubescens</i> <i>Fagus sylvatica</i> <i>Picea</i> sp. <i>Pinus</i> sp. <i>Populus nigra</i> <i>Populus tremula</i> <i>Prunus avium</i> <i>Prunus cerasus</i> <i>Quercus petraea</i> <i>Quercus robur</i> <i>Quercus</i> sp.
	Oroszország	-	<i>Larix sibirica</i> <i>Larix</i> sp.
<i>B. fuchsi</i>	Oroszország	-	<i>Pinus koraiensis</i>
<i>B. fungivorus</i>	Csehország	-	Coniferous kéreg; kérget tartalmazó termesztő közeg
	Nagy-Britannia	-	<i>Gardenia</i> sp.
	Németország	-	kérget tartalmazó termesztő közeg
	Spanyolország	-	<i>Pinus pinaster</i> <i>Pinus</i> sp.
<i>B. georgicus</i>	Grúzia	<i>Rhopalopus macropus</i>	
<i>B. glochis</i>	Lengyelország	-	<i>Pinus sylvestris</i>
<i>B. gonzalezi</i>	Venezuela	-	<i>Allium sativum</i> <i>Solanum tuberosum</i>
<i>B. hellenicus</i>	Görögország	<i>Tomicus piniperda</i>	<i>Pinus brutia</i> <i>Pinus halepensis</i>
	Németország	-	<i>Pinus sylvestris</i>
	Oroszország	-	<i>Larix</i> sp.
	Portugália	-	<i>Pinus pinaster</i>

Faj	Ország	Vektor	Növény
	Kína	-	<i>Pinus pinaster</i>
<i>B. hofmanni</i>	Ausztria	<i>Pityokteines curvidens</i>	<i>Abies alba</i>
	Csehország	-	import tűlevelű faanyag
	Kína (Yunnan)	-	<i>Pinus armandii</i>
	Németország	-	<i>Picea abies</i>
	Portugália	-	<i>Pinus pinaster</i>
	Szlovénia	-	<i>Pinus</i> sp.
<i>B. hunanensis</i>	Kína (Hunan)	-	<i>Pinus massoniana</i>
<i>B. hunti</i>	Japán	-	<i>Lilium tigrinum</i>
<i>B. hylobianum</i>	Kína	-	<i>Pinus massoniana</i>
	Oroszország	<i>Hylobius albosparsus</i>	<i>Larix dahurica</i> <i>Larix sibirica</i> <i>Pinus sylvestris</i>
	Portugália	<i>Hylobius</i> sp.	<i>Pinus pinaster</i>
	Spanyolország	-	<i>Pinus radiata</i>
	Tajvan	-	<i>Pinus merkusii</i>
<i>B. idius</i>	Ciprus	-	<i>Pinus brutia</i>
	Grúzia	<i>Pityogenes chalcographus</i>	<i>Carpinus caucasica</i> <i>Juglans</i> sp. <i>Pinus</i> sp. <i>Populus tremula</i> <i>Quercus iberica</i>
	Németország	<i>Pityogenes chalcographus</i>	<i>Picea excelsa</i>
	Szlovákia	<i>Pityogenes chalcographus</i>	<i>Picea abies</i>
<i>B. incurvus</i>	Grúzia	<i>Dendroctonus micans</i>	<i>Abies</i> sp. <i>Picea orientalis</i> <i>Pinus sylvestris</i>
	Németország	<i>Dendroctonus micans</i>	<i>Abies alba</i> <i>Picea excelsa</i> <i>Picea sitchensis</i> <i>Picea breweriana</i> <i>Pinus pungens</i>
<i>B. kevinii</i>	Amerikai Egyesült Államok (Idaho, Kalifornia, Oregon)	<i>Halictus farinosus</i> <i>Halictus ligatus</i>	-
<i>B. kolymensis</i>	Oroszország	<i>Monochamus sutor</i>	<i>Larix dahurica</i>
<i>B. leoni</i>	Ausztria	-	<i>Pinus nigra</i>

Faj	Ország	Vektor	Növény
	Ciprus		<i>Pinus brutia</i> <i>Pinus nigra</i> <i>Pinus pinea</i>
	Dél-Afrika		<i>Pinus radiata</i>
	Franciaország		<i>Pinus pinaster</i>
	Görögország		<i>Pinus brutia</i> <i>Pinus halepensis</i> <i>Pinus nigra</i> <i>Pinus pinaster</i> <i>Pinus radiata</i>
	Németország	<i>Dryocoetes autographus</i>	<i>Pinus sylvestris</i>
	Olaszország	-	<i>Pinus halepensis</i> <i>Pinus pinaster</i> <i>Pinus pinea</i> <i>Pinus sylvestris</i>
	Oroszország	-	<i>Picea</i> sp. <i>Pinus</i> sp.
	Portugália	-	<i>Pinus pinaster</i>
	Spanyolország	-	<i>Pinus halepensis</i>
<i>B. lini</i>	Kína (Nanjing)	-	<i>Pinus massoniana</i> <i>Pinus thunbergii</i>
<i>B. luxuriosae</i>	Japán	<i>Acalolepta luxuriosa</i>	<i>Aralia elata</i>
<i>B. maxbassiensis</i>	Amerikai Egyesült Államok (Észak-Dakota)	<i>Hylesinus californicus</i>	<i>Fraxinus pennsylvanica</i>
<i>B. minutus</i>	India	-	<i>Pinus wallichiana</i>
<i>B. mucronatus</i>	Ausztria	-	<i>Abies alba</i> <i>Larix decidua</i> <i>Picea abies</i> <i>Pinus nigra</i> <i>Pinus sylvestris</i>
	Bulgária	-	<i>Pinus</i> sp.
	Csehország	-	<i>Pinus sylvestris</i>
	Görögország	<i>Monochamus alternatus</i>	<i>Pinus brutia</i>
	Finnország	<i>Monochamus galloprovincialis</i> <i>Monochamus sutor</i>	<i>Picea abies</i> <i>Pinus sylvestris</i>
	Franciaország		<i>Pinus pinaster</i> import faanyag
	Japán	<i>Monochamus alternatus</i> <i>Monochamus saltuarius</i>	<i>Pinus densiflora</i> <i>Pinus thunbergii</i> <i>Pinus pentaphylla</i>

Faj	Ország	Vektor	Növény
	Kína (Anhui)	-	<i>Cedrus deodara</i> <i>Pinus densiflora</i> <i>Pinus elliottii</i> <i>Pinus massoniana</i> <i>Pinus pinaster</i> <i>Pinus rigida</i> <i>Pinus serotina</i> <i>Pinus taeda</i> <i>Pinus thunbergii</i> <i>Pinus sylvestris</i>
	Kína (Huangshan)	<i>Arhopalus rusticus</i> <i>Monochamus alternatus</i> <i>Spondylis buprestoides</i>	-
	Kína (Sichuan)	-	<i>Pinus massoniana</i>
	Kína (Yunnan)		<i>Pinus armandii</i> <i>Pinus yunnanensis</i>
	Kína (Zhejiang)	<i>Monochamus alternatus</i>	<i>Pinus massoniana</i> <i>Pinus spp.</i> <i>Pinus thunbergii</i>
	Korea	<i>Monochamus alternatus</i>	<i>Pinus spp.</i>
	Lengyelország	-	<i>Pinus sp.</i> <i>Pinus sylvestris</i>
	Németország	<i>Monochamus galloprovincialis</i>	<i>Larix decidua</i> <i>Picea abies</i> <i>Pinus sylvestris</i>
	Norvégia		<i>Pinus sylvestris</i>
	Olaszország	<i>Monochamus galloprovincialis</i>	<i>Pinus nigra</i> <i>Pinus pinaster</i> <i>Pinus strobus</i> <i>Pinus sylvestris</i>
	Oroszország	<i>Monochamus saltuarius</i>	<i>Abies sp.</i> <i>Larix sibirica</i> <i>Larix sp.</i> <i>Picea spp.</i> <i>Pinus korainensis</i> <i>Pinus sylvestris</i> <i>Pinus spp.</i>
	Portugália		<i>Pinus pinaster</i>
	Spanyolország	-	<i>P. halepensis</i> <i>Pinus nigra</i> <i>Pinus sp.</i> <i>Pinus sylvestris</i>
	Svédország	<i>Monochamus galloprovincialis</i> <i>Monochamus sutor</i>	<i>Picea abies</i> <i>Pinus sylvestris</i>
	Thaiföld	-	<i>Pinus sp.</i>

Faj	Ország	Vektor	Növény
	Tajvan	-	<i>Pinus taiwanensis</i>
	Törökország	-	<i>Pinus nigra</i>
<i>B. naujaci</i>	Franciaország	-	<i>Pinus pinaster</i>
	Lengyelország	-	<i>Pinus sylvestris</i>
<i>B. newmexicanus</i>	Amerikai Egyesült Államok (Új Mexikó)	<i>Hylurgops</i> sp.	<i>Pinus ponderosa</i>
<i>B. nuesslini</i>	Grúzia	<i>Pityokteines cuvidens</i>	-
	Németország	<i>Pityokteines cuvidens</i>	<i>Abies alba</i>
	Szlovákia	<i>Pityokteines cuvidens</i>	<i>Abies alba</i>
<i>B. paracorneolus</i>	Németország	-	<i>Picea abies</i> <i>Pinus sylvestris</i>
	Oroszország		<i>Larix sibirica</i>
<i>B. pinasteri</i>	Franciaország	-	<i>Pinus pinaster</i>
	Németország		<i>Pinus sylvestris</i>
	Spanyolország		<i>Pinus pinaster</i> <i>Pinus pinea</i> <i>Pinus</i> sp.
<i>B. piniperdae</i>	Grúzia	<i>Blastophagus</i> sp.	-
	Németország	<i>Tomicus piniperda</i>	<i>Picea excelsa</i> <i>Pinus montana</i> <i>Pinus sylvestris</i>
	Szlovákia	<i>Tomicus piniperda</i>	<i>Pinus sylvestris</i>
<i>B. pinophilus</i>	Lengyelország	-	<i>Pinus sylvestris</i>
	Németország	-	<i>Pinus sylvestris</i>
	Portugália	-	<i>Pinus pinaster</i>
<i>B. pityogeni</i>	Amerikai Egyesült Államok (Új-Mexikó)	<i>Pityogenes carinulatus</i>	<i>Pinus ponderosa</i>
<i>B. poligraphi</i>	Németország	<i>Hylurgops palliatus</i> <i>Polygraphus poligraphus</i>	<i>Picea abies</i> <i>Picea excelsa</i>
	Szlovákia	<i>Polygraphus poligraphus</i>	<i>Picea abies</i>
<i>B. rainulfi</i>	Malajzia	-	<i>Pinus caribaea</i>
<i>B. ratzeburgii</i>	Grúzia	<i>Scolytus ratzeburgii</i>	<i>Betula</i> sp.
	Németország	<i>Scolytus ratzeburgii</i>	<i>Betula verrucosa</i>

Faj	Ország	Vektor	Növény
<i>B. sachsi</i>	Németország	<i>Dryocoetes autographus</i>	<i>Picea excelsa</i>
	Szlovákia	<i>Dryocoetes autographus</i>	<i>Picea abies</i>
<i>B. scolyti</i>	Amerikai Egyesült Államok (Colorado)	<i>Scolytus multistriatus</i>	<i>Ulmus americana</i>
<i>B. seani</i>	Amerikai Egyesült Államok (Kalifornia)	<i>Anthophora bomboides stanfordiana</i>	-
<i>B. sexdentati</i>	Ausztria	-	<i>Pinus sylvestris</i>
	Bulgária	-	<i>Pinus</i> sp.
	Ciprus	-	<i>Pinus brutia</i>
	Görögország		<i>Pinus brutia</i> <i>Pinus halepensis</i> <i>Pinus nigra</i> <i>Pinus pinaster</i> <i>Pinus radiata</i>
	Grúzia	<i>Ips sexdentatus</i>	<i>Picea orientalis</i> <i>Pinus sosnowskyi</i>
	Litvánia	<i>Ips sexdentatus</i>	-
	Németország	<i>Ips sexdentatus</i> <i>Tomicus piniperda</i>	<i>Pinus sylvestris</i>
	Olaszország	-	<i>Pinus halepensis</i> <i>Pinus pinaster</i> <i>P. pinea</i>
	Oroszország	<i>Ips sexdentatus</i>	
	Portugália	-	<i>Pinus pinaster</i>
	Spanyolország	-	<i>Abies alba</i> <i>Pinus pinaster</i> <i>Pinus</i> sp. <i>Pinus sylvestris</i>
<i>B. silvestris</i>	Franciaország	<i>Ips sexdentatus</i>	<i>Pinus sylvestris</i>
<i>B. sinensis</i>	Kína	-	<i>Pinus</i> sp.
<i>B. steineri</i>	Németország	<i>Synanthedon sphecoformis</i>	<i>Alnus glutinosa</i>
<i>B. sutoricus</i>	Grúzia	<i>Monochamus sutor</i>	<i>Pinus</i> sp.
<i>B. sychnus</i>	Németország	-	<i>Quercus pedunculata</i>
<i>B. talonus</i>	Amerikai Egyesült Államok (Utah)	<i>Dendroctonus monticolae</i> <i>Dendroctonus ponderosae</i>	<i>Pinus contorta</i>
<i>B. teratospicularis</i>	Ciprus	-	<i>Pinus brutia</i>
	Görögország	-	<i>Pinus brutia</i> <i>Pinus halepensis</i> <i>Pinus pinaster</i>

Faj	Ország	Vektor	Növény
	Grúzia	<i>Blastophagus minor</i> <i>Orthotomicus proximus</i> <i>Taphrorychus bicolor</i> <i>Tomicus minor</i>	<i>Carpinus caucasica</i> <i>Juglans</i> sp. <i>Picea orientalis</i> <i>Pinus nigra</i> <i>Pinus sosnowskyi</i> <i>Populus tremula</i> <i>Quercus iberica</i>
	Horvátország	-	<i>Cupressus sempervirens</i>
	Németország	-	<i>Pinus sylvestris</i>
	Olaszország	-	<i>Pinus halepensis</i> <i>Pinus pinaster</i> <i>Pinus pinea</i>
	Portugália	-	<i>Pinus pinaster</i>
	Spanyolország	-	<i>Pinus halepensis</i> <i>Pinus pinea</i>
<i>B. thailandae</i>	Thaiföld	-	<i>Pinus merkusi</i>
	Kína	-	<i>Pinus</i> sp.
<i>B. tritrunculus</i>	Amerikai Egyesült Államok (Texas)	<i>Dendroctonus terebrans</i>	<i>Pinus taeda</i>
<i>B. tusciae</i>	Németország	-	<i>Pinus sylvestris</i>
	Olaszország		<i>Pinus pinea</i>
	Portugália		<i>Pinus pinaster</i>
<i>B. typographi</i>	Grúzia	<i>Ips typographus</i>	<i>Picea orientalis</i>
<i>B. vallesianus</i>	Svájc	-	<i>Pinus sylvestris</i>
<i>B. varicauda</i>	Kanada	<i>Dendroctonus pseudotsugae</i>	-
<i>B. wekuae</i>	Grúzia	<i>Trypophloeus</i> sp.	<i>Carpinus caucasica</i> <i>Fagus orientalis</i>
<i>B. wilfordi</i>	Amerikai Egyesült Államok (Új-Mexikó)	<i>Scolytus ventralis</i>	<i>Abies concolor</i>
<i>B. willi</i>	Amerikai Egyesült Államok (Új-Mexikó)	<i>Dendroctonus valens</i>	<i>Pinus ponderosa</i>
<i>B. xerokarterus</i>	Grúzia	<i>Scolytus scolytus</i> <i>Scolytus multistriatus</i>	<i>Carpinus caucasica</i> <i>Juglans</i> sp. <i>Populus nigra</i> <i>Ulmus foliacea</i>
	Németország	<i>Scolytus scolytus</i> <i>Scolytus multistriatus</i>	<i>Ulmus campestris</i> <i>Ulmus pedunculata</i>
<i>B. xylophilus</i>	Japán	<i>Acalolepta fraudatrix</i> <i>Acanthocinus griseus</i> <i>Arhopalus rusticus</i> <i>Corymbia succedanea</i> <i>Monochamus alternatus</i> <i>Monochamus nitens</i> <i>Monochamus saltuarius</i>	<i>Cedrus deodara</i> <i>Picea excelsa</i> <i>Pinus bungeana</i> <i>Pinus densiflora</i> <i>Pinus echinata</i> <i>Pinus elliotii</i> <i>Pinus engelmannii</i>

Faj	Ország	Vektor	Növény
		<i>Spondylis buprestoides</i> <i>Uraecha bimaculata</i>	<i>Pinus greggii</i> <i>Pinus leiophylla</i> <i>Pinus luchuensis</i> <i>Pinus massoniana</i> <i>Pinus muricata</i> <i>Pinus nigra</i> <i>Pinus oocarpa</i> <i>Pinus palustris</i> <i>Pinus parviflora</i> <i>Pinus pinaster</i> <i>Pinus ponderosa</i> <i>Pinus pseudostrobus</i> <i>Pinus radiata</i> <i>Pinus rigida</i> <i>Pinus strobus</i> <i>Pinus sylvestris</i> <i>Pinus taeda</i> <i>Pinus thunbergii</i>
	Kanada	-	<i>Abies balsamea</i> <i>Larix laricina</i> <i>Picea glauca</i> <i>Picea mariana</i> <i>Picea rubens</i> <i>Pinus banksiana</i> <i>Pinus contorta</i> <i>Pinus ponderosa</i> <i>Pinus resinosa</i> <i>Pinus sp.</i> <i>Pinus strobus</i> <i>Pinus sylvestris</i> <i>Pseudotsuga menziesii</i>
	Kína	<i>Monochamus alternatus</i>	<i>Pinus bungeana</i> <i>Pinus densiflora</i> <i>Pinus elliotii</i> <i>Pinus massoniana</i> <i>Pinus pinaster</i> <i>Pinus thunbergii</i>
	Korea	<i>Monochamus alternatus</i>	<i>Pinus densiflora</i> <i>Pinus thunbergii</i>
	Mexikó (Nuevo León)	-	<i>Pinus estevesii</i> <i>Pinus pseudostrobus</i>
	Portugália	<i>Monochamus galloprovincialis</i>	<i>Pinus pinaster</i>
	Tajvan	<i>Monochamus alternatus</i>	<i>Pinus armandii</i> <i>Pinus elliotii</i> <i>Pinus luchuensis</i> <i>Pinus patula</i> <i>Pinus taeda</i> <i>Pinus taiwanensis</i> <i>Pinus thunbergii</i>
	Amerikai Egyesült Államok	<i>Amniscus sexguttata</i> <i>Arhopalus rusticus obsoletus</i> <i>Arhopalus rusticus obsoletus</i> <i>Asemum striatum</i> <i>Chrysobothris sp.</i> <i>Hylobius pales</i> <i>Monochamus carolinensis</i> <i>Monochamus marmorator</i> <i>Monochamus mutator</i> <i>Monochamus obtusus</i>	<i>Abies balsamea</i> <i>Cedrus atlantica</i> <i>Cedrus deodora</i> <i>Larix americana</i> <i>Larix decidua</i> <i>Larix europaea</i> <i>Larix laricina</i> <i>Picea canadensis</i> <i>Picea glauca</i> <i>Picea pungens</i>

Faj	Ország	Vektor	Növény
		<i>Monochamus scutellatus</i> <i>Monochamus titillator</i> <i>Neacanthocinus pusillus</i> <i>Neocanthocinus obsoletus</i> <i>Pissodes approximatus</i> <i>Xylotrechus sagittatus</i>	<i>Pinus banksiana</i> <i>Pinus cembra</i> <i>Pinus clausa</i> <i>Pinus contorta</i> <i>Pinus densiflora</i> <i>Pinus echinata</i> <i>Pinus elliotii</i> <i>Pinus halepensis</i> <i>Pinus mugo</i> <i>Pinus nigra</i> <i>Pinus palustris</i> <i>Pinus ponderosa</i> <i>Pinus radiata</i> <i>Pinus resinosa</i> <i>Pinus rigida</i> <i>Pinus strobus</i> <i>Pinus sylvestris</i> <i>Pinus taeda</i> <i>Pinus thunbergii</i> <i>Pinus virginiana</i> <i>Pseudotsuga douglasii</i>
	Amerikai Egyesült Államok (Delaware)	-	<i>Pinus resinosa</i> <i>Pinus rigida</i> <i>Pinus strobus</i> <i>Pinus sylvestris</i> <i>Pinus taeda</i> <i>Pinus thunbergii</i> <i>Pinus virginiana</i>
	Amerikai Egyesült Államok (Missouri)	-	<i>Pinus nigra</i> <i>Pinus sylvestris</i>
	Amerikai Egyesült Államok (Texas, Virginia)	<i>Dendroctonus frontalis</i> <i>Ips. sp.</i> <i>Monochamus titillator</i> <i>Neocanthocinus obsoletus</i>	<i>Picea glauca</i> <i>Pinus echinata</i> <i>Pinus palustris</i> <i>Pinus sylvestris</i> <i>Pinus thunbergii</i>

M5. TÁPTALAJOK, TARTÓSÍTÓ- ÉS TÁPOLDATOK, ANTIBIOTIKUMOK, BAKTÉRIUM TÖRZSEK, PUFFEREK

A TAF-oldat összetétele (Goodey 1957):

2 ml trietanolamin

7 ml 40%-os formaldehid

91 ml desztillált víz

Potato Dextrose Agar (PDA) táptalaj:

4 g burgonyakivonat

20 g glükóz

15 g agar

1000 cm³ víz

Transzformáláshoz:

Felhasznált baktérium törzs:

Escherichia coli DH5 α

SOB (Super Optimal Broth) folyékony tápoldat:

0,5% élesztő kivonat

2% bacto-tripton

10 mM NaCl

2,5 mM KCl

10 mM MgCl₂

10 mM MgSO₄

500 ml desztillált vízben (NaOH-val pH 7,00)

TB puffer oldat:

10 mM Hepes

15 mM CaCl₂

250 mM KCl

pH 6,7-re beállítva KOH-val

+55 mM MnCl₂

1000 ml desztillált vízben (45 μ m-es szűrőn sterilre szűrve)

LB (Luria-Bertrani Medium) tápoldat és táptalaj:

A tápoldatot 1 liter desztillált vízben 10 g tripton, 5 g élesztőkivonat és 10 g NaCl feloldásával kell előállítani. A táptalaj készítésénél 16 g L⁻¹ agar-agart kell adni a tápoldathoz.

LB_{Amp,IPTG,X-gal} táptalaj:

20 ml LB táptalajra 40 µl X-gal oldat (20 mg ml⁻¹) és 4 µl IPTG oldat (200 mg ml⁻¹) szélesztendő. 37 °C-on tárolva, 2 óra elteltével felhasználható, mint szelektív táptalaj. Az ampicillin (Amp) antibiotikum 100 µg ml⁻¹ végkoncentrációban kell alkalmazni.

Agaróz gélelektroforézishez:*STOP kék puffer:*

Mintafelvívő oldat, amely leállítja az enzimaktivitást, glicerinnel sűrűsít, brómfenolkék tartalma láthatóvá teszi a futási pozíció frontját a gélben.

1 ml 0,5 mol EDTA, 200 µl 10% SDS, 6,9 ml 87% glicerinnel, 0,0025 g brómfenolkék, 1 ml 10x TBE, 10 ml-re kiegészítve desztillált vízzel.

10xTBE:

1 mol TRIS (C₄H₁₁NO₃)

0,83 mol bórsav (H₃BO₃)

25 mmol Na₂EDTA

1000 ml desztillált vízben (pH 8,3)

2% agaróz gél:

2 g agaróz, 0,1 µl ml⁻¹ etidium-bromid, 100 ml 1xTBE

Molekulatömeg marker:

Valamennyi esetben a Gene Ruler™ DNA Ladder Mix (10 kb, Fermentas) markert használtuk.

M6. PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények

Idegen nyelvű lektorált tudományos közlemények

TÓTH Á., ELEKES M. (2013): Report on the survey for *Bursaphelenchus xylophilus* and the occurrence of other *Bursaphelenchus* species in Hungarian coniferous forests. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 43 (1) 152-154. p.

TÓTH Á., ELEKES M., KISS J. (2012): Monitoring quarantine pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* in Hungary. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 47 (1) 55-59. p.

TÓTH Á. (2011): *Bursaphelenchus xylophilus*, the pinewood nematode: its significance and a historical review. *Acta Biologica Szegediensis*, 55 (2) 213-217. p.

Megjegyzés: E publikáció adja a kötet címlapfotóját (fotó: Tóth Ágnes) az *Acta Biologica Szegediensis* szerkesztőbizottsági döntés alapján.

Magyar nyelvű lektorált tudományos közlemények

TÓTH Á., ELEKES A. (2011): Első jelentés a *Bursaphelenchus mucronatus* és *B. vallesianus* (NEMATODA: Parasitaphelenchidae) magyarországi jelenlétéről tűlevelű fajokon. *Állattani Közlemények*, 96 (1-2) 23-38. p.

TÓTH Á. (2010): A fenyőrontó fonálféreg (*Bursaphelenchus xylophilus*) (Steiner et Buhner 1934) Nickle 1970 és a *Bursaphelenchus* nem egyéb, tűlevelűekben élő fajainak ismertetése. *Növényvédelem*, 46 (4) 169-175. p.

Magyar nyelvű lektorált konferencia kiadványok

TÓTH Á. (2011): A fenyőrontó fonálféreg, *Bursaphelenchus xylophilus* /NEMATODA: Parasitaphelenchidae/ magyarországi felderítési eredményeinek ismertetése. 57. *Növényvédelmi Tudományos Napok 2011*, Budapest, 64. p.

TÓTH Á. (2010): A fenyőrontó fonálféreg, *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhner 1934) Nickle 1970 /NEMATODA: Parasitaphelenchidae/ faj 2009. év felderítési eredménye Magyarországon. 56. *Növényvédelmi Tudományos Napok 2010*, Budapest, 71. p.

TÓTH Á. (2009): A fenyőrontó fonálféreg, *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner és Buhner 1934) Nickle et al. 1970 /NEMATODA: Parasitaphelenchidae/ felderítése Magyarországon. 55. *Növényvédelmi Tudományos Napok 2009*, Budapest, 70. p.

Az értekezés témájához nem kapcsolódó közlemények*Magyar nyelvű lektorált tudományos közlemények*

- ELEKESNÉ K.M., FEKETÉNÉ PALKOVICS Á., **TÓTH Á.**, AVAR K., BALOGH L., BARANYAINÉ TÓTH R., BÁRTFAI J., BUDAI CS., CZIKLIN M., CS. TÓTH A., DOMAK B., FÖLDES L., FÜRST K., GÁSPÁR L., GYŐRFFYNÉ MOLNÁR J., GYULAI P., HOFFER E., HOFFMANN E., JOBBÁGY J., KLEINEIZEL SZ., KOVÁTS ZS., LUKÁCS M., MÁTÉ L., MERŐ F., MOLNÁR J., NAGY A., NAGY K., NEDECZKYNÉ M.A., SIMON A., SOMOGYI E., SZÁNTAINÉ V.M., SZENDREY L., SZEŐKE K., TAMÁS F., TÓTH B., TUBA K., VARGÁNÉ HUTZEK B., VASAS L., VÖRÖS G., VÖRÖSNÉ SZENES B. (2008): A burgonya ciszta-képző fonálférgei (*Globodera rostochiensis* /Woll./ és *G. pallida* Stone) elterjedésének III. országos felmérése (2003-2006). *Növényvédelem*, 44, 615-622. p.
- TÓTH Á. (2007): Kolumbiai és ál-kolumbiai gyökérgubacs-képző fonálféreg (*Meloidogyne chitwoodi* és *Meloidogyne fallax*). Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal Központ, Növény-, Talaj- és Agrárkörnyezet-védelmi Igazgatóság, Budapest, *Növény-egészségügyi információs oldalak*.
- TÓTH Á. (2003): A muskotályzsálya (*Salvia sclarea* L.) thyrus virágzata. *Kanitzia*, 11, 127-132. p.
- TÓTH Á., LEHOCZKY É. (2003): A selyemkóró (*Asclepias syriaca* L.) első éves fejlődésének vizsgálata növekedésanalízis módszerével. *Magyar Gyomkutatás és Technológia*, 4, 36-44. p.

Magyar nyelvű lektorált konferencia kiadványok

- TÓTH Á., LEHOCZKY É. (2004): A selyemkóró (*Asclepias syriaca* L.) első éves fejlődésének sajátosságai. XIV. Keszthelyi Növényvédelmi Fórum, 70. p.

Idegen nyelvű lektorált konferencia kiadványok

- NAGY, P., DOLEZSAI A., SZAKÁLLAS J., ANTON A., **TÓTH Á.**, GYURICZA CS. (2011): Soil zoological studies on the recultivation after the red mud pollution in Kolontár, Hungary. S.34-04-0. 12th European Ecological Federation Congress. 25-29 September 2011, Ávila (Spain), 426. p.
- LEHOCZKY É., **TÓTH Á.**, BÉRES I., NÁDASY E.I. (2003): Changes nutrient content of common milkweed (*Asclepias syriaca* L.). *Trans-Tisza Plant Protection Forum Proceedings*, Debrecen, 288-293. p.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönettel tartozom **Elekes Attiláné** nematológusnak, akinek irányítása alatt ismerkedtem meg a nematológia rejtelseivel és szépségeivel, s aki az értekezés elkészítéséhez is folyamatos szakmai és emberi támogatást biztosított. *Animus in consulendo liber.*

Köszönöm **Dr. Kiss József** intézetigazgató, egyetemi tanár témavezetőmnek nagylelkűségét, segítőkészségét és kiemelkedő szakmai iránymutatását.

Köszönöm **Dr. Posta Katalin** egyetemi docensnek (SZIE Növényvédelmi Intézet, Mikrobiológiai és Környezettoxikológiai Csoport) a molekuláris vizsgálatok elvégzéséhez nyújtott esszenciális segítségét, valamint **Hernádi Ildikó** PhD-hallgatónak és **Dr. Sasvári Zita** egyetemi adjunktusnak a mikrobiológiai laboratóriumi munkában nyújtott támogatását.

Köszönöm munkaadóim (jelenlegi: MTA Természettudományi Kutatóközpont; korábbi: Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal) anyagi és erkölcsi támogatását.

Végül köszönetemet fejezem ki azoknak is, akiket itt név szerint nem említettem, de doktori munkám megvalósulását lehetővé tették.