

Научно становище

за РИСКА ОТ НАВЛИЗАНЕ И РАЗПРОСТРАНЕНИЕ В БЪЛГАРИЯ НА ЦИСТООБРАЗУВАЩИ НЕМАТОДИ ПО ЦАРЕВИЦА И ЖИТНИ - *HETERODERA ZEAЕ*

Караджова О., Илиева Ж., Петрова Е., Крумов В.

Институт по почвознание, агротехнологии и растителна защита, Селскостопанска
Академия

*Scientific opinion on the risks of introduction and spread of the cyst nematode Heterodera zeae
on maize and other representatives of the family Poaceae in Bulgaria*

Karadjova Olia , Ilieva Zhenya, Petrova Elena and Krumov Vladimir

Резюме

Във връзка с установяването на царевичния цистообразуващ нематод *Heterodera zeae* в непосредствена близост до границата на България, до гр. Кавала, Гърция е изготвена оценка на риска от навлизане на вредителя на територията на страната ни. *H. zeae* е известен от началото на 70^{те} години на миналия век, когато е съобщен за територията на Индия. В момента, видът е разпространен в десет страни от четири континента: Азия, Африка, Европа и Северна Америка. *H. zeae* се счита за един от икономически най-важните нематоди, нападащи царевичата и житните култури в Индия и Пакистан. Развитието и размножаването му се благоприятстват от сравнително високи почвени температури в границите на 27 - 36°C, но цистите му могат да запазят жизнеспособност до 3 години при температура 2°C и преживяват безпроблемно 7 месеца на -18°C. Известният гостоприемников кръг на паразита се състои изключително от представители на сем. Роасеае, които се размножават със семена и съответно не се включват в международната търговия с посадъчен материал. Въпреки това, нематодът е установяван в ризосферата на негостоприемникови култури.

Потенциалните пътища за навлизане на *H. zeae* в България посредством внос на растения, растителни продукти и почва от страни, в които неприятелят е установен са следните:

1. Посадъчен материал от негостоприемникови култури от районите на разпространение на *H. zeae* с прилепнали почвени частици (луковици, коренища, клубени и разсад);
2. Луковици, коренища и клубени за директна консумация или преработка.
3. Заразена почва или хранителна среда;
4. Почва, прикрепена към машини, инвентар, обувки и др. (за придвижване на къси разстояния)

Като цяло, **вероятността от навлизане на *H. zeae* в страната е малка**. Рискът е свързан предимно с почвени частици, прикрепени към посадъчен материал или растителни части, предназначени за консумация. Най-вероятно е нематодът да успее да зарази подходящ гостоприемник на територията на България в случай на неадекватно третиране на заразени растителни отпадъци.

За оценка на вероятността от трайно настаняване и разпространение на *H. zeae* в страната е изготвен климатичен модел, който показва, че **е умерено вероятно нематодът да се установи на цялата територия на страната**, с изключение на Рило-Родопския масив, Пирин, Западните покрайнини и Централна Стара планина,

където условията са неблагоприятни за развитието му. Броят на поколенията за една година варира от 1.03 в района на Кюстендил до 1.81 в най-южните части на България. **Рискът от разпространение след трайно установяване е голям**, но видът би се разпространявал много бавно поради очаквания слаб ръст на популациите и ограниченото му самостоятелно придвижване от 1 – 2 метра годишно.

Рискът от икономически значими загуби е малък – значителни вреди се очакват единствено в горещи и сухи години, при царевица, отглеждана на почви с груб механичен състав. Най-ефективната мярка за ограничаване на загубите от *H. zae* е отглеждането на устойчиви сортове, съчетано с подходящо сеитбообращение.

Summary

An assessment of the risk of introduction and spread of *Heterodera zae* on the territory of Bulgaria was prepared in connection to the report of the pest from Paleochori Kavallas, Greece, close to the Bulgarian border. *H. zae* was described in the early 70s from India. The species is currently distributed in ten countries on four continents: Asia, Africa, Europe and North America. *H. zae* is considered as one of the most economically important nematodes on corn and cereals in India and Pakistan. Its development and reproduction are favored by relatively high soil temperatures in the interval of 27 - 36°C but the cysts remain viable for up to three years at 2°C and successfully survive at -18°C for 7 months. The known host range of the parasite consists exclusively of representatives of family Poaceae, which are cultivated from seeds and therefore are not traded internationally as planting material. Nevertheless, the nematode has been established in the rizosphere of non-host crops.

The potential pathways of entry of *H. zae* in Bulgaria through trade of plants, plant products and soil from counties where the pest has been established are as follows:

1. Planting material of non-host crops from countries where *H. zae* is present with soil particles attached (corms, bulbs, tubers, rhizomes and plantlets);
2. Bulbs, rhizomes and tubers intended for consumption or processing;
3. Infested soil or growing media;
4. Soil attached to machinery, equipment, shoes, etc. (for short-distance spread)

Generally, **the probability of entry of *H. zae* in Bulgaria is low**. The risk is mainly connected to soil particles, attached to planting material or plant parts intended for consumption. It is most likely that the nematode finds a suitable host on the territory of Bulgaria in case of inadequate management of plant waste.

For the purposes of evaluating the probability of establishment and spread of *H. zae* in the country, a climatic model has been prepared. The model shows that it is **moderately likely that the nematode establishes on the whole territory of Bulgaria**, except in the mountains of Rila, Rodopi, Pirin, the Western Outlands and the Central Balkan Mountains. The number of generations per year varies from 1.03 in the region of Kiustendil to 1.81 in the southernmost parts of Bulgaria. **The risk of spread after establishment is high**, but the rate would be very low due to the expected low population growth and the limited natural spread of the nematode of 1 – 2 meters per year.

The risk of economic losses is low. Significant damages are expected only in hot and dry years on corn cultivated on light soils. The most effective measure to reduce losses from *H. zae* is cropping of resistant cultivars in combination with appropriate crop rotation.

Съдържание

1. Увод	4
2. Разпространение	4
3. Видова принадлежност	4
4. Биология на <i>Heterodera zeae</i>	7
5. Гостоприемници	7
6. Морфология	9
7. Детекция и методи за инспекция	10
8. Идентификация	11
9. Симптоми на поражение и повреди	11
10. Загуби	12
11. Потенциални пътища на проникване	13
12. Възможности за трайно настаняване и разпространение на <i>H. zeae</i> в България	16
13. Мерки за ограничаване риска от <i>H. Zeae</i>	5
14. Разпространение и загуби в България	18
15. Мерки за редуциране на риска от <i>Heterodera zeae</i> по царевицата	20
16. Използвана литература	22
17. Приложение	26

Увод

През 2009 г. царевичният цистообразуващ нематод беше установен в непосредствена близост до нашата граница до гр. Кавала, Гърция (Scantar et al., 2012). Видът е включен в EPPO Alert List

Целта на настоящата работа е да се оцени риска от навлизане и разпространение на *Heterodera zae* в нашата страна. За изпълнението ѝ си поставихме следните задачи:

- да се определят основните пътища за проникване на този вид;
- да се оцени потенциала му за навлизане и трайно настаняване на територията на нашата страна;
- да се оцени потенциала му за разпространение;
- да се оценят възможните последствия от разпространението на този вид при сегашния климат и при промени на климата в посока повишаване на средногодишните температури и засушаване на територията на страната.

Разпространение

Царевичният цистообразуващ нематод *Heterodera zae* е известен от началото на 70^{те} години на миналия век, когато е съобщен за територията на Индия (Koshi et al., 1971). В последствие е установен в Египет (Aboul-Eid and Ghorab, 1981), Пакистан (Maqbool, 1981), Тайланд (Chinarasri et al., 1995) и Непал (Sharma et al., 2001). През 2008 г. видът е съобщен от остров Мадуро, Индонезия (Baliadi, 2008) и от Афганистан (Asghari et al., 2013).

В новия свят има само две находища в източните щати Мериленд и Вирджиния, САЩ (Sardanelli et al., 1981; Eisenback et al., 1993).

За първи път в Европа видът е намерен през 2002 г. на територията на Португалия (Correia and Abrantes, 2002). През 2012 г. царевичният цистообразуващ нематод беше съобщен и в непосредствена близост до нашата граница – в проби от ферма за органична царевица западно от гр. Кавала, Гърция (Scantar et al., 2012) и през същата година беше включен в EPPO Alert List.



Фигура 1. Разпространение на *Heterodera zeae*

Видова принадлежност

Царство Animalia

Тип Nematoda

Клас Secernentea

Разред Tylenchida

Семейство Heteroderidae

Heterodera zeae Koshy, Swarup and Sethi, 1971

Тривиално названиее:

Царевичен цистообразуващ нематод (ЦЦН) (български)

Corn cyst nematode (CCN) (en)

nématode à kystes du maïs (fr)



Фигура 2. Цисти на *H. zeae* – светлинна микроскопия (фотография Eisenback)

Биология на *H. zeae*

Жизнен цикъл

Развитието и размножаването на *H. zeae* се благоприятстват от сравнително високи почвени температури в границите на 25 - 36°C (Hashmi et al., 1993; Hutzell and Krusberg, 1990; Verma and Yadav, 1978), но оптималните условия за развитие на всеки от стадияте варират. Жизненият цикъл на нематода за първи път е проучен подробно от Lauritius et al. (1983) върху царевични коренови експлантати, сорт Кенуърти. Експериментът е проведен при температура $29.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ въз основа на съобщението, че в лабораторни условия ювенилни втора възраст (J2) се излюпват най-активно при 29 - 31°C (Koshy et al., 1970).

При такава температура, *H. zeaе* завършва жизнения си цикъл от J2 до J2 за 22 дни (Таблица 1). При по-ниски температури цикълът се удължава и трае съответно 42 – 43 дни при 25°C, а при 20°C не завършва дори и 99 дни след инвазията на гостоприемника, независимо, че на 61-вия ден са установени яйца с развита J2 (Hutzell and Krusberg, 1990).

Таблица 1. Жизнен цикъл на *H. zeaе* по Lauritius et al. (1983)

Ден	Стадий	Пояснение
1	Начало на излюпването на J2. Инвазия на главния корен, страничните коренчета и местата на разклоняване.	Оптималната температура за излюпване на J2 е 30 – 36°C; под 25°C се наблюдава намалена инвазиоспособност (Hutzell and Krusberg, 1990; Verma and Yadav, 1984). Излюпване не настъпва при 10 и 40°C (Hashmi and Krusberg, 1995) Ларвите инвазират участъка непосредствено до кореновия връх от 3 до 12 часа след заразяването и мигрират към сърцевината на корена. До главовия им край се образуват синцитии или т.нар. гигантски клетки (Misra et al., 1985) (вж. Повреди).
3 – 4	Второ линеене (M2)	
6	Женски J3, локализирани в кореновите тъкани	
6 – 7	Трето линеене (M3) Върху корените се наблюдават J4, разположени поединично или в струпвания.	
9 – 10	Четвърто линеене (M4) Наблюдават се възрастни женски с желатинозни яйчни торбички	
12	В тялото на женските са оформени малко на брой яйца без образувани ембриони	
13	В тялото на женските се наблюдават многобройни яйца (стадий бяла циста)	Среден брой яйца: - за циста – 237; 150 (Hashmi et al, 1993) - за яйчна торбичка – 229;
14	Първите яйца се отлагат в желатинозните яйчни торбички.	
17	В яйцата се развива J1	
18 – 19	Първо линеене (M1)	
22	Начало на излюпването на J2	

Мъжките индивиди се срещат рядко и не е наблюдавана копулация, следователно размножаването най-вероятно е изцяло партеногенетично (Lauritius et al., 1983; Hutzell, 1984; Hutzell and Krusberg, 1990)

Фактори, повлияващи развитието

Установено е, че коренови извлеци от гостоприемници стимулират излюпването на яйцата при много видове цистообразуващи нематоди (Perry, 1986, 1987). Hashmi and Krusberg (1995) установяват, че торенето води до стимулиране на растежа на царевичната и размножаването на нематодите. И най-малките приложени дози тор водят до удвояване на броя на цистите и женските в сравнение с контролата, но повишаването на дозите не води до по-активно размножаване, т.е. торенето има еднократен стимулиращ ефект върху развитието на *H. zae*. Възрастта и размера на кореновата система не оказват влияние върху излюпването на J2.

Също така, кореновите дифузати на някои плевели, които се срещат в царевичните полета, стимулират излюпването. Най-силно изразен стимулиращ ефект при проучените летни плевели е установен при *Echinochloa colonum*, *Chenopodium album*, *Malva parviflora* и *Portulaca oleracea*, а при зимните – при *Melilotus indica*, *Lolium multiflorum* и *Brassica kaber* (Ismail and Hasabo, 1995).

Биологични раси

Bajaj et al. (1994) установяват наличие на популации на *H. zae* с различна инвазиоспособност и вредоносен потенциал към група изследвани сортове. Тези данни са потвърдени от установени разлики в гостоприемниковия кръг на популации от Индия, САЩ и Египет (Ringer et al., 1987; Srivastava and Jaiswal, 2010). Редица автори отбелязват нееднородността на географски изолираните популации в Индия (Abdollahi, 2009a, b; Szelanski et al., 1997; Umarao et al., 2008; Grace et al., 2009; Gavas Ragesh et al., 2009). Gavas Ragesh et al. (2009) изчисляват при филогенетичен анализ, че изолацията на отделните популации е отпреди поне 4 млн. години.

Преживяемост

При проведени полски опити с *H. zae*, Krusberg and Sardanelli (1989) установяват, че цистите с яйца, съдържащи инвазиоспособни J2, могат да оцелеят най-малко 19 месеца в полета на угар с фина пясъчно-глинеста почва. При лабораторни опити с проби, събрани от заразени полета, същите автори отчитат, че *H. zae* запазва инвазиоспособността си след 4 години в почва, съхранявана на 24°C и след почти 3 години при 2 °C. Също така е установено, че цистите преживяват безпроблемно 7 месеца на -18°C.

H. zae има биологичен часовник за излюпването на J2. В заразените полета, инвазионните ларви са най-многобройни през май – юли, а броят им е най-малък в средата на зимата. Подобна сезонност на излюпването е наблюдавана при *H. avenae* в Австралия, като излюпването е най-активно през април – юни (Banyer and Fisher, 1971a).

Повърхностният 5-сантиметров слой почва е неблагоприятен за развитието на нематодите поради резките промени във влажността и температурата. От цистите, намиращи се там, се излюпват най-малко J2 и се развиват най-малко женски индивиди. Преживяемостта е най-висока на дълбочина 5 – 20 см. (Krusberg and Sardanelli, 1989).

H. zae се развива добре в сравнително леки почви и добавянето на глина в почвени смеси оказва отрицателен ефект върху размножаването (Srivastava and Sethi, 1984).

Гостоприемници

Царевичният цистообразуващ нематод е вид, който доказано паразитира върху културни и диви представители на сем. Роасеае (Таблица 2). Има съобщения за други гостоприемници – домат, патладжан, чесън, слива, праскова, захарно цвекло, картофи, манго, финикова палма и др. (Maqbool, 1981; Abd El-Massih et al., 1986, Oteifa et al., 1997; Nasira and Shahina, 2007; Ibrachim et al. 2010). Shazad and Ghaffar (1986) описват домати

с подтиснат растеж. Сходни признаци са наблюдавани и при семеначета от бадем – *Prunus amygdalus* (Quasim and Ghaffar, 1986). При всички експерименти за заразяване, включващи повече от 300 растителни вида от над 15 семейства (Ringer et al., 1987; Shanina, 1989; Srivastava and Jaiswal, 2010), обаче, тези съобщения не се потвърждават. Възможно е съобщенията да се отнасят до паразитиране не върху основната култура, а върху плевелни растения от сем. Роасеае. При експерименти с изкуствено заразяване с *H. zeaе*, много диви и плевелни растения се оказват добри гостоприемници на вида (Ringer et al., 1987), но не са описани случаи на заразяването им в естествени местонаходища. Списъкът на гостоприемниците е представен в Таблица 2.

Таблица 2. Гостоприемниците на *Heterodera zeaе*

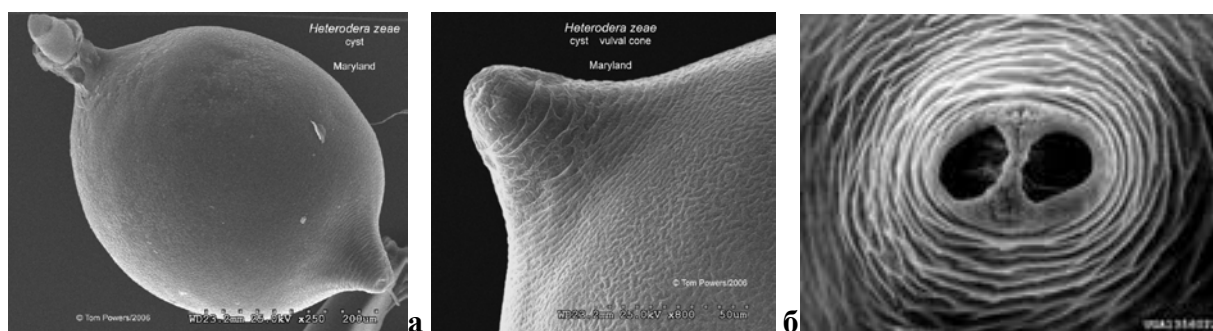
Гостоприемник	Латинско название	Семейство	Тип гостоприемник	Страна
Царевица	<i>Zea mays</i> L.	Роасеае	основен гостоприемник	Индия
Пшеница	<i>Triticum aestivum</i> L.	Роасеае	второстепенен	Индия, Египет, Пакистан
		Роасеае	основен гостоприемник	Египет
		Роасеае	основен гостоприемник	Португалия
		Роасеае	основен гостоприемник	САЩ (Вирджиния)
Ветивер	<i>Chrysopogon zizanioides</i> (L.) Roberty	Роасеае	второстепенен	Индия
Вид азиатско просо	<i>Echinochloa colona</i> (L.) Link	Роасеае	второстепенен	Индия
Африканско просо, Дагуса	<i>Eleusine coracana</i> (L.) Gaertn.	Роасеае	второстепенен	Индияр Египет, Сащ
Ечемик	<i>Hordeum vulgare</i> L.	Роасеае	второстепенен	Индия, Египет, Пакистан
Дребно просо	<i>Panicum sumatrense</i> <i>Roth ex Roem. & Schult.</i>	Роасеае	второстепенен	Индия
Захарна тръстика	<i>Saccharum officinarum</i> L.	Роасеае	второстепенен	Индияр САЩ
Мохар (лудо просо)	<i>Setaria italica</i> (L.) P. Beauvois	Роасеае	второстепенен	Индия
Сорго	<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench	Роасеае	второстепенен	Индия, Пакистан, САЩ
Овес	<i>Avena sativa</i> L.	Роасеае	лош гостоприемник	Индия, Египет, САЩ
Ориз	<i>Oryza sativa</i> L.	Роасеае	лош гостоприемник	Индия, САЩ
Ръж	<i>Secale cereale</i> L.	Роасеае	лош гостоприемник	Индия, Пакистан
Плевел	<i>Tripsacum dactyloides</i> (L.) L.	Роасеае	изкуствено заразяване	САЩ
Теосинт	<i>Zea diploperennis</i> H.H.Iltis Doebley & R.Guzman, 1979	Роасеае	изкуствено заразяване	САЩ
Еквадорска царевица	<i>Zea mays</i> L. subsp. <i>amylacea</i>	Роасеае	изкуствено заразяване	САЩ
Декоративна трева от Южна Америка	<i>Zea mays</i> L. subsp. <i>gracillima</i>	Роасеае	изкуствено заразяване	САЩ
Декоративна трева "Сълзите на Йов"	<i>Coix lacryma-jobi</i>	Роасеае	изкуствено заразяване	САЩ

Мексикански теосинт	<i>Zea mays</i> L. subsp. <i>mexicana</i>	Poaceae	изкуствено заразяване	САЩ
Тръстика	<i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin. ex Steud.	Poaceae	изкуствено заразяване	САЩ
Ливадно шаварче	<i>Alopecurus pratensis</i> L.	Poaceae	изкуствено заразяване	САЩ
Приземен вейник	<i>Calamagrostis eipgeios</i> (L.) Roth	Poaceae	изкуствено заразяване	САЩ
Тръстичина	<i>Phalaris arundinacea</i> L.	Poaceae	изкуствено заразяване	САЩ
Райграс	<i>Lolium perenne</i> L.	Poaceae	изкуствено заразяване	САЩ

Установено е, че температурата влияе на чувствителността към *H. zae* на сравнително по-лоши гостоприемници от основните. Например пшеница не се заразява при 15 и 23°C, но при 32 °C развитието на нематода е сходно с онова при царевицата (Bajaj et al., 1986). При друго проучване с 4 сорта овес и 3 сорта пшеница, Ringer et al. (1987) установяват, че при променливи оранжерийни условия със средни температури 11 - 22 °C няма видимо размножаване на *H. zae*, но при 33 °C е налице слабо размножаване.

Морфология

Цистите са лимоновидни с издадени шийна част и вулва, с дължина 300 – 500 µm. Те са светло кафяви, тънкостенни и без субкристалинен слой. Кутикулата им е равномерно скулптурирана със зигзагообразен профил (Фигура 3). Вулвария конус е добре оформен и издаден. Около вулвата и фенестрите има концентрични кутикулярни ръбове. Фенестрите са от амбифенестрален тип с две семифенестри отделени от вулварния мост и оградени от широка основа. Анусът не е ясно отдиференциран. Булето е с характерното за вида подреждане, състоящо се от 4 пръстовидни части, разположени непосредствено под подмостиято. Под тях са разположени разпръснато отделни малки части на булето. Подмостиято е просто, тънко и късо. Вулварният отвор е много голям.



В

Фигура 3. Сканираща електронна микроскопия на *H. zae* – (а) циста, (б) профил вулварен конус (фотография Tom Powers) и (в) анфас на вулварен конус (фотография на Eisenback)

Ювенилните II възраст (J2) са червеобразни, цилиндрични, с дължина 360 – 460 µm (Фигура 4) Устния край има 4-5 анулации и средно развита главова склеротизация.



Фигура 4. Ювенилни II възраст (фотография Sardanelli)

Мъжките са изключително редки, но при големи популационни плътности честотата им се увеличава (Lauritis et al., 1983; Hutzell, 1984) и по принцип не са използват при диагностика на вида.

Детекция и методи за инспекция

Както при всички останали почвени нематоди, има определени изисквания за броя проби от дадена площ, необходими, за да се получат точни данни без загуба на информация. Видът може да бъде установен чрез събиране на почвени проби и екстракция на цисти от тях.

Процедури по събиране на почвени проби от полето

Агрегираното пространствено разпределение на нематодите (огнищно) налага събирането на пробите да се извършва по определен метод, за да се достигне достатъчно високо ниво на откриваемост. Duncan и Phillips (2009) препоръчват взимането на пробите да се извършва в мрежа от равномерен зиг-загообразен тип. Стъпката е желателно да бъде по-малка от размера на огнищата. Този размер зависи както от културата, така и от сорта, и от почвените характеристики. Дълбочината на пробовземане е от 20 до 40 см, в зависимост от гостоприемника. Добре е пробите да се събират непосредствено след прибирането на продукцията, преди обработките на земята.

За детекция на *Globodera*, Been и Schomaker (2000) предлагат анализ на сборни проби от по 50 сондирания, взети в мрежа с размер на квадрата 5 m x 6 m. Препоръчва се взимането на 6-7 сборни проби за хектар. Това количество проби осигурява вероятност за откриване на вида $\geq 90\%$ при струпвания на паразита с плътност 200 и повече цисти на килограм суха почва в центъра на поле от 1 ха. Вероятно този метод е достатъчен и за детекция на ЦЦН.

Екстракция от почвата и растения

Процедурите и методите за екстракция при различните групи паразитни нематоди са подробно описани в протокола на ЕРРО РМ 7/119 (1)/2013 и са напълно приложими и за ЦЦН.

Стилетът е тънък, с леко насочени напред главички на knobса. Дължината му варира от 15 до 25 μm при различните популации (Golden and Mulvey, 1983; Abdollahi, 2009a). Латералното поле е с 4 линии.

Опашката е къса – 31-52 μm , с хиалинен слой, заемащ около половината от дължината ѝ, и конусовиден, фино закръглен в края си връх.

Идентификация.

Видът се определя по морфологични и морфометрични признаци на цистите и J2, като подробни описания са направени от редица автори (Golden and Mulvey, 1983; Hutzel, 1984; Correia and Abrantes, 2005; Scantar et al., 2012). Доказано е, че морфологичните характеристики на вида варират в определени граници, но има ясно изразени разлики между географски изолирани популации (Abdollahi, 2009a; Abdollahi, 2009b). Видът може да се характеризира и с неспецифичен естеразен профил (Correia and Abrantes, 2005).

При филогенетичен анализ с PCR-RFLP на ITS1-2 участъка на рДНК (Szelanski et al., 1997; Umarao et al, 2008; Grace et., 2009; Gavass Ragesh et al., 2009) са установени ясни различия между популациите с различен географски произход и е доказано по-голямо разнообразие в популациите от Индия. При проучване на гръцката популация, Scantar et al. (2012) секвенират 18S участъка на рДНК. Те установяват сходство с популациите на вида от САЩ и сравнителна отдалеченост от индийските. Счита се, че PCR-RFLP на ITS1-2 е полезен метод за разграничаване на популациите на *H. zae* от онези на други представители на род *Heterodera*, които нападат семейство Poaceae.

Симптоми:

Както при останалите растително паразитни нематоди, заболяването на растенията се характеризира с огнищно разпространение на полето (Фигура 5). Заразените растения в огнищата имат слабо, неравномерно развитие, подтиснат растеж и са бледо зелени на цвят (Koshy and Swarup, 1971). Кореновата система е слабо развита. Новите листа се появяват със закъснение (Aboul-Eid and Ghorab, 1981). Те са с по-малко свежо и сухо тегло.



Фигура 5. Поражения на полето – Вирджиния (фотография Eisenback)

Списък на симптомите:

Цялото растение – вджуджено, рано стареещо

Листа – с нехарактерно оцветяване

Стъбла – с подтиснато развитие или формиращи розетки

Корени – редуцирани, с цисти върху повърхността си

Повреди:

Повредите в корените на царевицата на клетъчно ниво, причинени от *H. zae*, са проучени от Srivastava и Sethi (1985b). След проникването на инвазионните ювенилни II-ра възраст в корена, стените на ендодермиса се удебеляват, а цитоплазмата в клетките

на перицикъла и флоема става гранулирана. Васкуларните снопчета се изтикват встрани и се образуват една или две гигантски клетки. Гигантските клетки са заобиколени от снопчетата на ксилема и от ендодермис с удебелени стени. С развитието на паразитите (ювенилни III-ра и IV-та възраст) кортикалните клетки се пропукват и се оформят празнини.

Загуби.

H. zeaе се счита за един от икономически най-важните нематоди, нападащи царевицата и житните култури в Индия (Sharma and Swarup, 1984) и Пакистан (Maqbool, 1988).

Независимо, че вредоносността на паразита е доказана при царевица, липсват данни за икономическите загуби (Koenning *et al.*, 1999). Установено е, че подтискането на растежа на културата е в пряка зависимост от популационната плътност на нематода (Srivastava and Sethi 1984, Ismail *et al.*, 1994). При температурен режим, оптимален за *H. zeaе*, теглото на растенията непрекъснато намалява (Hashmi *et al.*, 1993). Krusberg *et al.* (1997) установяват, че растежът и добивът намаляват с 13% до 73%. Това е особено силно изразено при топли и сухи лета, и при почви с по-груб механичен състав. Наличието на по-високо съдържание на фини почвени частици подтиква бързото нарастване на популациите на паразита.

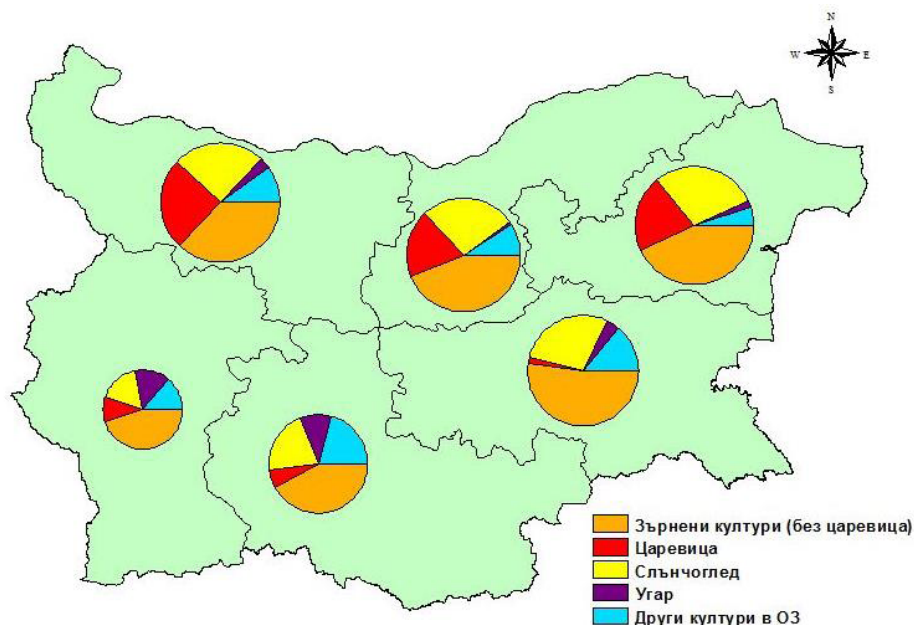
Потенциално застрашена зона в България

През последните години, зърнените култури заемат голяма част от обработваемите площи в страната (Таблица 3.). Водеща култура е пшеницата, следвана от царевицата и ечемика. Овесът и ръжта са по-слабо застъпени, като при ръжта се наблюдава увеличаване на реколтираните площи. Оризът се отглежда на сравнително ограничени площи само в Централен южен район. Разпределението културите по райони е представено на Фигура 6.

Таблица 3. Обработваема площ на зърнени култури и царевица за България за периода 2008-2012

Култура	2008	2009	2010	2011	2012
Царевица	329 345	274 229	500 000	399 400	466 800
Пшеница	1 111 530	1 247 720	1 108 700	1 137 642	1 090 000
Ечемик	222 659	258 449	245 400	178 993	191 400
Овес	24 868	19 996	23 000	14 794	16 600
Ръж	7 406	10 000	10 900	10 298	12 600
Ориз	5 042	8 312	12 000	11 791	9 900

По данни на Агостатистика (197/2012), по-голямата част от сеитбообръщенията са: пшеница – царевица – слънчоглед – ечемик, като дялът на угарите достига 16%. Все по-често се наблюдава монокултурно отглеждане. Този начин на производство би подпомогнал развитието на популации на *H. zeaе* при наличие на други благоприятни условия.



Фигура 6. Относителен дял на производството на зърнени култури по райони за 2012 г. (Агростатистика 197/2012)

Потенциални пътища на проникване

Нематодите не се предвиждат самостоятелно на разстояния по-големи от 1-2 метра годишно. Разпространението на повечето видове става чрез пасивни методи: вятър, воден поток, чрез хора и животни и т.н. Основните доказани гостоприемници на вида не се разпространяват с подземни части и/или в хранителна среда, а със семена. Видимо няма потенциални пътища за проникване. Съобщенията на редица автори за намирането на вида в ризосферата на картофи, домати, чесън, моркови, семеначета от род *Prunus*, манго и т.н. (вж. Гостоприемници) подсказват за възможността растения и растителни продукти, по които се задържа дори минимално количество почва да осигуряват път за навлизане на вида в нови територии. Установено е, че например по време на прибиране на реколтата от картофи, моркови, захарно цвекло и др. значително количество почва се изнася от полето, прилепена по растенията или към малки камъчета залепени по кореноплодите и клубените (Ruysschaert *et al.*, 2007). Macleod *et al.* (2012) правят изчисление, че всяка година на територията на ЕС около 400 000 тона почва се мести само заедно картофите.

Проучваните растения и растителни продукти, чийто внос би могъл да способства за навлизането на *Heterodera zeae* в България, не са гостоприемници на паразита. При отглеждане на растенията върху почви, заразени с ЦЦН съществува възможност той да бъде пренесен с минимално количество почва, прикрепена към подземни растителни части (луковици, коренища, клубени и т.н.).

Тази теза се доказва и от становището на Панела по растително здраве към Европейския агенция по безопасност на храните (EFSA PLH, 2012), относно рискът от навлизане на неевропейски популации на картофените цистообразуващи нематоди от род *Globodera*. При този анализ са открити два пътя за проникване на картофените

нематоди, които носят риск и за проникване на ЦЦН: 1. Посадъчен материал от луковици, клубени (различни от Картофови), коренища, ризоми и т.н.; и 2. Картофи за консумация и преработка от Египет.

За втория път има специална дерогация в Директива 2000/29 - дерогация CD 2000/568/ЕС и нейните продължения. Производството обаче се извършва и по делтата на река Нил, с поливни води от реката, където е известно, че видът ЦЦН е също разпространен (Ismail et al., 2010), което е възможност за веда да попадне с тези стоки на европейския пазар.

При настоящата оценка бяха установени следните потенциални пътища на проникване на този вредител:

За придвижване на големи разстояния са установени следните пътища на проникване:

1. Посадъчен материал от негостоприемникови култури, от райони, където е разпространен ЦЦН, включително и луковици, коренища и клубени.
2. Луковици, коренища и клубени за директна консумация или обработка.
3. Заразена почва/хранителна среда

На къси разстояния

4. Почва прикрепена към машини, инвентар, обувки или растителни продукти.

Характерно за всеки един от пътищата на проникване е, че паразитите не могат да се размножават по време на транспорта на почвата, растенията или растителните продукти, но могат да преживеят високи и ниски температури и засушаване. Krusberg и Sardanelli (1989) установяват, че инвазиоспособността на J2 се запазва до 7 месеца при -18°C. При попадане в почвата и при наличие на гостоприемник (например плевелни растения от сем. Роасеае), паразитите могат развият популация. Не са необходими голям брой екземпляри, поради партеногенетичния начин на размножаване (Lauritis et al., 1983).

Обемът на пратките и честотата им на движение по пътищата на проникване са оценени въз основа на информация от базата данни на EUROSTAT. Проучването е за 5 години назад за внос от трети страни, както и търговия с двете страни членки, в които видът е установен. Подробните резултати са изложени в Приложение 1.

1. Посадъчен материал

1а. *Луковици, коренища, клубени, в т.ч. на украсни растения, с прилепнали почвени частици, от страни, където видът е разпространен (Приложение 1: Таблица 1)*

Вносът на спящи луковици, коренища, клубени и ризоми от украсни растения от държави, където е разпространен *H. zeae*, е сравнително по-активен от Индия и до известна степен от САЩ и Тайланд към ЕС. От останалите страни, той не е ритмичен и внасяните количества са малки. За България, редовен пряк внос има от Индия и спорадичен от САЩ. Неизвестно остава до каква степен производството на тези растения се извършва върху или в близост до почви, заразени с *H. zeae*. Това изглежда

по-вероятно за вноса от Индия, тъй като там видът е широко разпространен. В САЩ, нематодът е с ограничено разпространение, само в 3 района на Мериленд и един район на Вирджиния. ЕС не внася тези стоки от Пакистан, а Португалия не продава тези стоки в ЕС.

Този път на навлизане е малко вероятен за нашата страна.

1б. *Семена от картофи*, с прилепнали почвени частици, от страни, където видът е разпространен (Приложение 1: Таблица 2)

Вносът на семена от картофи от трети страни в ЕС е забранен и този път на проникване на неприятеля би трябвало да се приема за затворен. Въпреки това, в базата данни на EUROSTAT има информация за внос на малки количества посадъчен материал от картофи от Египет, Тайланд и САЩ. Към България, такъв внос не е осъществяван пряко през изследвания период и навлизането на вредителя по този път е много малко вероятно.

Този път на навлизане е практически невъзможен за условията на нашата страна и е затворен според действащото законодателство.

1в. *Разсад от зеленчуци и ягоди*, с прилепнали почвени частици, от страни, където видът е разпространен (Приложение 1: Таблица 3)

Навлизането на *H. zeae* в България с разсад от зеленчуци и ягоди от страни, където нематодът е разпространен, е много малко вероятно. Вносът от Египет, Индия и Индонезия е изключително малък по обем и нередовен. Вносът на посадъчен материал от зеленчуци от САЩ е редовен и в големи обеми, но при ограниченото разпространение на вида считаме, че рискът от пренасяне е много нисък.

Този път на навлизане е малко вероятен.

2. Растения за консумация – подземни части, по които може да прилепне почва, с прилепнали почвени частици, от страни, където видът е разпространен

Има активен внос на кореноплоди, клубени, луковици и ядливи корени от Египет, Индия, Тайланд и САЩ в България (Приложение 1: Таблицы 4, 5, 6 и 7). С тези стоки може да се пренесе минимално количество пръст и съответно цисти на нематода. Тъй като те са предназначени за пряка консумация или преработка, вероятността паразитът да зарази подходящ гостоприемник, след като е навлязъл в страната е малка. При растенията и растителните продукти, предназначени за преработка, има минимална възможност цисти на *H. zeae* да попаднат в отпадни води и оттам – на полето, където нематодите да заразят житни плевели или култури от гостоприемника. При внос на лукови често в складовете се отстраняват коренчетата, с полепнала по тях пръст, които могат да бъдат изхвърлени в близост до складовите бази и борси. Някои от тях граничат със земеделски площи. Независимо, че има общо изискване за съответстващо унищожаване на остатъците не са точно посочени мерките след пакетиране или преработка.

Този път на навлизане е много малко вероятен за условията на нашата страна при стоки като картофи за консумация, сладки картофи и целина и малко вероятен при луковите.

3. Почва и хранителна среда

Почвата като стока е забранена за внос от трети страни в ЕС и съответно в България. Изключение има за страните от Северна Африка, включително и Египет, където ЦЦН е разпространен. Хранителните среди като торф, смеси с инертни носители и т.н. (без изкуствените такива) се добиват извън ареала на разпространението на вида. За тях също има изискване да са чисти от вредители. Неясно остава количеството и начинът на внос на почва от Египет.

Този път на проникване е много малко вероятен, със средно ниво на неопределеност поради недостатъчни данни за количеството и типа на внос на почва от Египет.

Като цяло, **вероятността от навлизане на *H. zeaе* в страната е малка**. Рискът е свързан предимно с почвени частици, прикрепени към посадъчен материал или растителни части, предназначени за консумация. Най-вероятно е нематодът да успее да зарази подходящ гостоприемник на територията на България в случай на неадекватно третиране на заразени растителни отпадъци.

Възможности за трайно настаняване и разпространение на *H. zeaе* в България

За да се оцени потенциала на *Heterodera zeaе* за трайно настаняване и разпространение в България беше изработен **климатичен модел**. За целта, беше направена литературна справка за географското разпространение и биологичните параметри на вида. За обработка на климатичните данни, както и на специфичните биологични параметри на *H. zeaе* и за прогнозиране на потенциалното разпространение на вида е използван специализиран софтуер (Climex v. 3). Моделът се основава на връзката между актуалното разпространение на даден вид и климатичните условия, които са оптимални за него. CLIMEX използва алгоритми, които определят потенциалното разпространение на вида, сезонната фенология и до някаква степен популационната плътност.

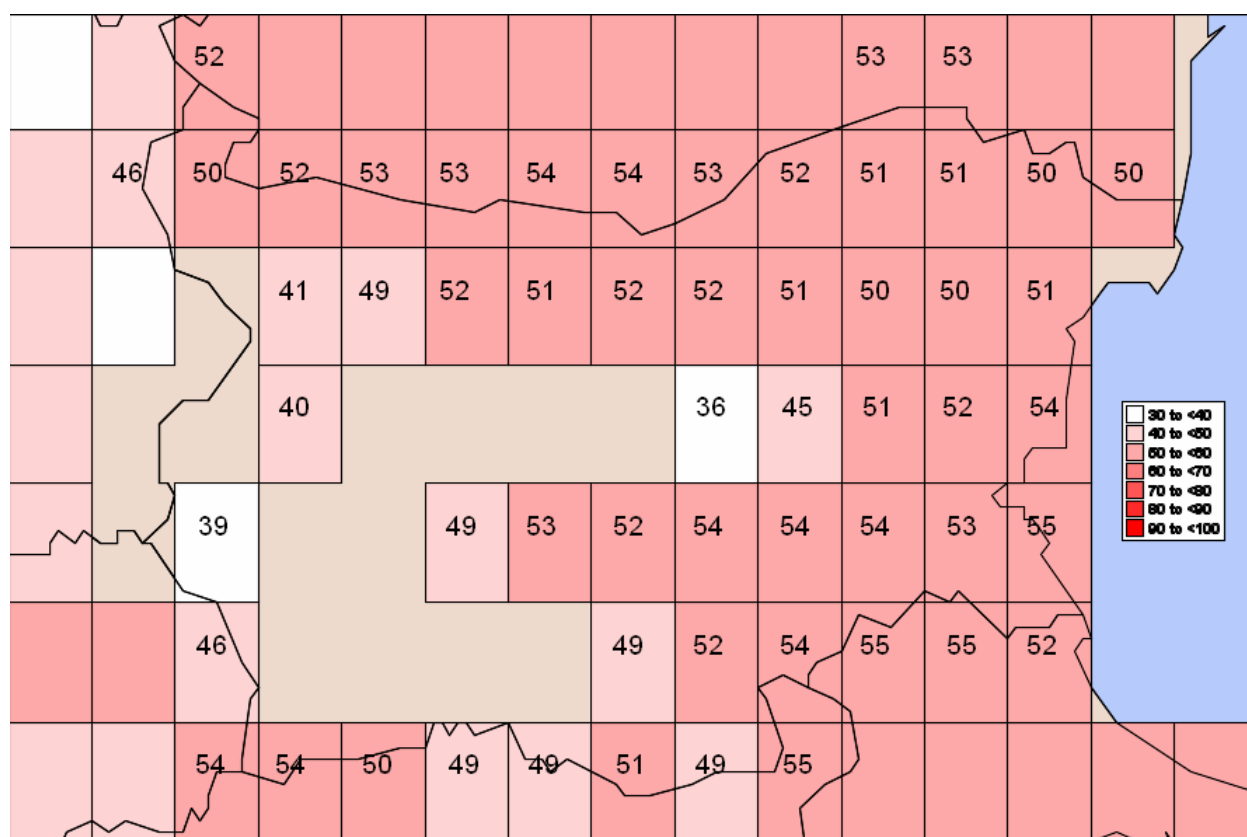
Параметрите, които бяха използвани при изготвяне на климатичния модел (Таблица 1), се основават на литературни данни от изследвания в полски и лабораторни опити. Като цяло, за развитието на *H. zeaе* най-голямо влияние оказва растението гостоприемник и температурата на почвата (Ismail et al. 1993). За долен и горен температурен праг възприехме температурите 10°C и 40°C на база на изследванията на Hashmi и Krussberg (1995). Оптималните температури за развитие варират при различните автори, но са в границите на 15 - 30°C (Hutzell and Krussberg, 1990; Bajaj et al., 1986; Srivastava and Seti, 1985a; Srivastava and Seti, 1986; Hashmi and Krussberg, 1995). Дните на ефективните температури за развитие на поколение бяха изчислени въз основа на изследванията на Hutzell и Krussberg (1990).

В CLIMEX се използват стресови параметри, които ограничават възможностите на вида за оцеляване в различни климатични условия и съответно неговото географско разпространение. При *H. zeaе*, влияние оказват стресът при студ и стресът при влага. Добавен е и параметър на синергичното действие на температурата и влажността.

Изготвени са карти на еоклиматичните индекси на *H. zeaе*. Еоклиматичният индекс (EI) описва потенциала за популационно развитие, като включва и различните видове стрес през неблагоприятните сезони. EI е мярка за потенциала на даден район да поддържа трайни популации на даден вид и приема стойности от 0 до 100. Когато стойностите са близко до 0, това означава, че районът не е подходящ за поддържане на трайни популации. При стойности над 30 се счита, че климатичните условия са подходящи за преживяване на вида (Sutherst et al. 2007), което е предпоставка за възникване на трайни жизнеспособни популации свързани с икономически значими плътности.

Настоящият модел не взема предвид наличието на растенията гостоприемници, тъй като за България те са масово отглеждани културни растения и не могат да се приемат за сериозен лимитиращ фактор.

Фигура 7 представя еоклиматичните индекси на *H. zeaе* за страната. Моделът показва, че видът може да се установи у нас, като районите, в които EI е под 30 и условията са неблагоприятни са Рило-родопският масив, Пирин, Западните покрайнини и Централна Стара планина. В останалата част от страната EI е подходящ за установяване и поддържане на трайни популации на вида. Броят поколения, които могат да се развият за една година в условията на нашата страна са от 1.03 в района на Кюстендил до 1,81 в най-южните части на България (Фигура 8).



Фигура 7. CLIMEX карта на България, показваща еоклиматичните индекси за *Heterodera zeaе*.



Фигура 8. Брой поколения на *Heterodera zeae*, които могат да се развият в България.

Според симулациите за промените на климата, направени на базата на основните емисионни сценарии на НИМХ-БАН, се очаква повишение на температурата в България между 2 и 5 градуса до края на XXI-ви век (Александров и съавтори, 2010).

Създаден бе климатичен модел с включване на параметър „повишаване на средната годишна температура с 2 градуса“, във връзка с прогнозираните климатични промени в страната. Затоплянето на климата ще доведе и до промяна в потенциалното разпространение на *H. zeae*. Според климатичния модел, ЕІ на вида ще достигне стойности над 30 (42 - 62), което показва, че *H.zeae* ще може да се установи в цялата страна и може да създаде трайни жизнеспособни популации (Фигура 9). Климатичните промени ще повлияят и на броя поколения, които ще могат да достигнат 1.05 – 2.26 (Фигура 10).

От така направените моделни симулации може да се заключи, че видът може да се настани трайно в по-голямата част от страната. Първоначално се очаква да се създадат локални транзитни популации. Растежът на популациите, обаче, няма да е много интензивен и очакваните вреди от паразита няма да бъде много големи при нормални условия и почви с по-фин механичен състав.

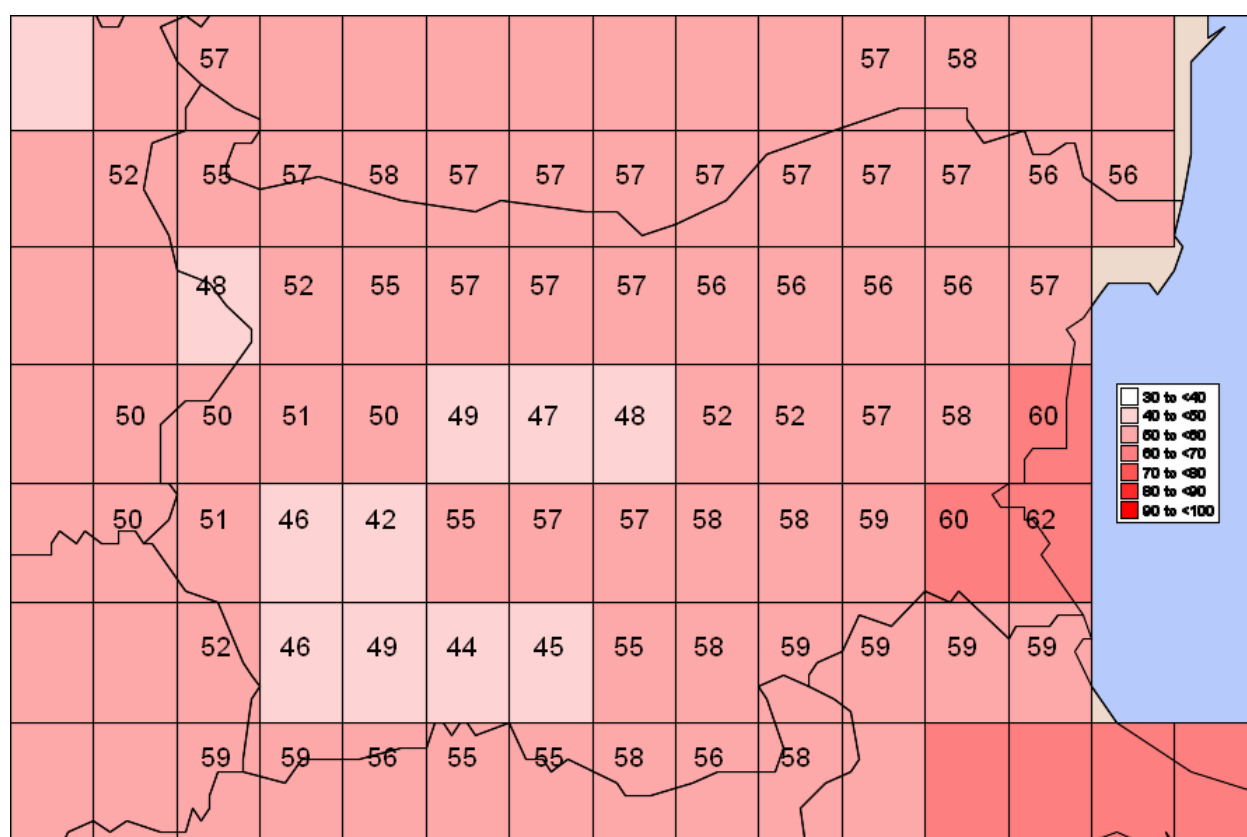
Разпространение и загуби в България

Разпространението на вида в страната ще бъде бавно поради малката плътност на популациите, невъзможността за самостоятелно придвижване повече от 1-2 м годишно

(Tillitkalla et al., 1995), а опитът от навлизането на САЩ показва около 320 км за 11 години при съдействие на човешкия фактор (Krusberg et al., 1997).

При сухи и горещи лета загубите в царевични площи с по-груб механичен състав могат да бъдат значителни.

При повишаване на континенталния елемент в климата на нашата страна с удължаване, относително засушаване и затопляне на летните месеци, *H. zea* показва значително по-интензивен растеж на популациите в цялата страна, а оттам и на загубите, причинени от вида. При такива условия ще се наблюдават и по-интензивни повреди по второстепенните гостоприемници като например ечемика (Bajaj et al., 1986) или някои устойчиви сортове царевица (Ismail et al., 1993).



Фигура 9. CLIMEX карта на България, показваща екоклиматичните индекси за *Heterodera zea* при повишаване на средната годишна температура с 2°C.



Фигура 10. Брой поколения на *Heterodera zeae*, които могат да се развият в България при повишаване на средната годишна температура с 2°C..

Мерки за редуциране на риска от *Heterodera zeae* по царевичата.

Повечето нематоди са микроскопични и живеят в почвата, затова представляват едни от най-трудните вредители за откриване, определяне и борба (Stirling et al., 1988). Щетите, причинени от растителнопаразитните нематоди, понякога се подценяват както от фермерите, така и от специалистите по растителна защита, но се счита, че загубите от тях достигат 10% от световната земеделска продукция (Whitehead, 1998). *H. zeae* и *H. avenae* са основни вредители по пшеница и ечемик в Пакистан (Maqbool, 1988). В Индия, *H. zeae* се счита за един от икономически най-важните нематоди по житните култури (Sharma and Swarup, 1984).

Химични средства.

Използването на нематодици при царевичата е ограничено. Третирането на големи площи е скъпо и неефективно мероприятие, което води до замърсяване на продукцията и околната среда (McDonald and Nicol, 2005). Fayez (1990) препоръчва след третиране с нематодици да се прилагат азотофиксиращи агенти, тъй като видовете от род *Azospirillum* предизвикват стимулиране на растежа на царевичата. Препаратите, използвани успешно в Индия и Пакистан, са забранени за употреба в ЕС.

Биологични средства. Въпреки, че са изпитани голям брой биологични агенти за подтискане на популациите на нематодите, нито един от тях няма доказан ефект при житните култури (McDonald and Nicol, 2005).

Устойчивост на културата към нематоди. По отношение на устойчивостта на царевичата към паразитни нематоди Jordaan and De Waele (1987) подчертават, че

въвеждането на гени за резистентност може да доведе до загуба на някои желани и предпочитани качества на културата. От друга страна, селекцията без търсене на устойчивост към нематоди може да доведе до силно чувствителни и нетолерантни царевишни сортове, при които загубите могат да бъдат значителни, независимо от начина на производство. Има разлика между невъзможността на нематодите да се размножават върху царевицата и толерантността към повреди, причинени от нематодите (Jordaan and De Waele 1987; McDonald and Nicol, 2005). Авторите описват толерантността като способност на културата да преодолява вредната дейност на нематодите без загуби, дори когато е заразена в умерена до силна степен. При опит за въвеждане на резистентност към нематоди в търговските хибриди, растениевъдите и нематолозите трябва да работят заедно, за да се уверят, че крайния продукт ще бъде приемлив за производители, преработватели и потребители. При кръстосване на голям брой линии царевица при оранжерийни условия е доказана различна степен на устойчивост към *Heterodera zeaе* (Hashmi *et al.* 1993a; Aruna and Siddiqui, 1997b).

Като цяло, повечето изследвания сочат, че използването на устойчиви сортове царевица самостоятелно или в комбинация с другите мерки за намаляване на риска е ефективно, но то трябва да бъде съчетано с добри агрономически качества, продължителна устойчивост към нематоди и висок добив.

Агротехнически мерки.

Доказано е, че сеитбообращението, дълбоката оран, времето на засяване, прилагането на органични подобрители и общи фитосанитарни мерки при отглеждането на царевицата са ефективни за намаляване на популациите на нематодите.

Сеитбообращение. В много случаи царевицата се прилага при ротацията на културите като не-гостоприемник на коренови нематоди. Поради специфичната устойчивост на културите към конкретни видове, сеитбообращението не може да бъде универсална мярка за намаляване на числеността на растителнопаразитните нематоди. Запасеността на почвата с хранителни елементи като азот и фосфор играе важна роля при включване в сеитбообращението на зеленчуци. (Burkert *et al.*, 2001).

Обработка на почвата. Широкият кръг от гостоприемници на растителнопаразитните нематоди включва и някои плевели, които трябва да се имат предвид, когато се разработва стратегия за борба. Според Minton (1986) обработката на почвата и придружаващите фактори в някои случаи засягат популациите на нематодите (Sumner *et al.*, 2002), а в други не се наблюдава ефект върху числеността им (McSorley and Gallaher, 1994). Препоръчва се почвените обработки да се съчетават със сеитбообращение. (McDonald and Nicol, 2005).

Дата на сеитба и торене. В Мексико е наблюдавано, че ранната сеитба и оптималното торене намаляват повредите по царевицата от вида *Punctodera chalconensis* (Sosa-Moss, 1987). От друга страна, Krusberg *et al.* (1997) установяват, че дори оскъдното торене води до удвояване на числеността на *H. zeaе* по царевица. Този ефект е еднократен и допълнителното торене не стимулира в по-голяма степен размножаването на неприятеля. При *Punctodera chalconensis* е установено до 60% снижаване на числеността на популацията на нематодите при царевицата при торене с калций (Ivezic *et al.*, 1996).

Нито една от разгледаните мерки за намаляване на риска от икономически загуби от *H. zeaе*, не е достатъчно ефективна, когато се прилага самостоятелно. Използването на

устойчиви и толерантни сортове, съчетано с подходящо сеитбообращение е най-ефективно.

Съществуващи фитосанитарни мерки, които биха могли да се използват и срещу *H. zea*

Въпреки, че видът *H. zea* не е включен в Директива 2000/29 на ЕС и в Наредба 1 за фитосанитарен контрол от 1998 г, някои мерки, включени в приложенията на наредбата, могат косвено да предотвратят навлизането на вредителя в нашата страна:

- забрана за внос на картофи от трети страни (Приложение 3 към чл. 9, ал. 1 и 2, Част А, чл. 10)
- забрана за внос на почва и хранителна среда (Приложение 3 към чл. 9, ал. 1 и 2, Част А, чл. 14)

Вносът на картофи от Египет, където *H. zea* е разпространен, е разрешен с дерогация, а тази държава прави изключение и от забраната за внос на почва.

Член 34 от Наредба 1 изисква почвата и хранителните среди, внасяни в страната да бъдат свободни от вредители, но не е напълно ясно какви мерки се вземат от търговските партньори от трети страни при износ за България.

Исползвана литература

Агростатистика, 2012 «Резултати и анализи», № 197 - 2012

Александров, В., Симеонов, П., Казанджиев, В., Корчев, Г., Йотова, А. 2010. Климатични промени (второ издание). НИМХ-БАН, 1-49

Abd El-Massih, M. I., S. El-Eraki, El-Gindy A.Y., 1986. Plant parasitic nematodes associated with sugar beet in Egypt. *Bulletin of Faculty of Agriculture, Cairo University* 37:477-483.

Abdollahi, 2009a. Analysis of cyst and cone tope morphometrics of Indian populations of Maize Cyst Nematode *Journal of Plant Protection Research* 49 (1):

Abdollahi, 2009b. Hierarchical cluster analysis of Indian populations of *Heterodera zeae* based on second stage juveniles and egg morphometrics. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11 (6): 756–760

Aboul-Eid H.Z., Ghorab A.I. , 1981. The occurrence of *Heterodera zeae* in maize fields in Egypt. *Egyptian Journal of Phytopathology* 13:51-61.

Aruna, P. and Siddiqui, A.U., 1997. Population fluctuation of *Heterodera zeae* on maize and barley in Rajasthan. *Journal of Mycology and Plant Pathology* 27: 321–322.

Asghari R., Pourjam E., Heydari R., Tanha Maafi Z., Latifi A.M., 2013. First report of corn cyst nematode, *Heterodera zeae* in Afghanistan. *Australasian Plant Disease Notes*, 01/2013; DOI:10.1007/s13314-013-0104-z

Bajaj, H. K., Gupta, D. C., Dahiya, R. S. 1986. Development of *Heterodera zeae* Koshy et al. on wheat and maize. *Nematologica*. 1986, 32 (2): 209-215.

Baliadi Y., 2008. Identifikasi karater morfologi nematoda sista pada tahaman jagung (*Heterodera zeae*) di Indonesia. *Berkala Penelitian Hayati, (Journal of Biological Researches)* 4: 1-5. (English summary).

Chinnasri B., Tangchitsomkid N., Toida Y., 1995. *Heterodera zeae* on maize in Thailand. *Japanese Journal of Nematology* 24, 35-38.

Correia F.J.S., de O. Abrantes I.M., 2002. Morphobiometrical and biochemical characterisation of *Heterodera zeae* Portuguese populations. *Nematology* 4 (2): 243-244.

Duncan, L. W., Phillips M. S., 2009. Sampling root-knot nematodes. In: *Root-knot nematodes*, Eds R. N. Perry, M. Moens and J. L. Starr, Wallingford, UK: CABI, pp 275-300.

EFSA Panel on Plant Health (PLH), 2012. Scientific Opinion on the risks to plant health posed by European versus non-European populations of the potato cyst nematodes *Globodera pallida* and *Globodera rostochiensis*. *EFSA Journal* 10(4):2644 [71 pp.]. 10.2903/j.efsa.2012.2644 Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal

Gavas Ragesh, Grace, T., Uma Rao, Kaushal K. K., and Vangapandu, S., 2009. Genetic differentiation among populations of *Heterodera zeae* as revealed by Restriction Fragment Length Polymorphism. *International Journal of Nematology* 19 (2): 189-195.

Golden A.M., Mulvey R.H., 1983. Redescription of *Heterodea zeae*, the Corn Cyst Nematode, with SEM Observations. *Journal of Nematology*, 15(1): 60–70.

Grace, T.; Gavas Ragesh; Antony, G.; Kaushal, K. K., 2009. Phylogenetic analysis of ITS region of rDNA reveals strong genetic divergence among geographically isolated populations of *Heterodera zeae*. *International Journal of Nematology* 19 (2): 196-202.

Fayez, M. 1990. Interaction of some nematicides with *Azospirillum lipoferum* and the growth of maize. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 153, 219–223.

Hague, S.S., Overstreet, C. and Van Santen, E. 2002. Crop rotation effects on nematode populations. *Proceedings of the 25th Annual Southern Conservation Tillage Conference for Sustainable Agriculture*. Auburn University, Auburn, Alabama, pp. 156–160.

Hashmi, S., Krusberg, L. R., Sardanelli, S., 1993. Reproduction of *Heterodera zeae* and its suppression of corn plant growth as affected by temperature. *Journal of Nematology* 25 (1): 55-58.

Hashmi, S. and Krusberg, L. R. 1995. Factors influencing emergence of juveniles from cysts of *Heterodera zeae*. *Journal of Nematology*. 1995. 27: 3, 362-369.

Hutzel P.A., 1984. Description of Males of *Heterodera zeae*. *Journal of Nematology* 16(1): 83-86.

Hutzell, P. A. and Krusberg, L. R. 1990. Temperature and the life cycle of *Heterodera zeae*. *Journal of Nematology*. 1990. 22: 3, 414-417.

Ibrahim, I. K. A. 1990. The status of phytoparasitic nematodes and the associated host plants in Egypt. *International Nematology Network Newsletter* 7:33-38.

Ibrahim, I. K. A., A. A. Mokbel, and Z. A. Handoo, 2010. Current status of phytoparasitic nematodes and their host plants in Egypt. *Nematropica* 40:239-262.

- Ismail, A. E., Abadir, S. K., Kheir, A. M. 1993. Population dynamics of *Heterodera zae* on some corn hybrids in relation to soil temperature. *Bulletin of Faculty of Agriculture, University of Cairo*. 1993. 44: 4, 919-930.
- Ismail, A. E.; Abadir, S. K.; Kheir, A. M., 1994. Damage potential and reproduction of *Heterodera zae* on corn under field conditions. *Bulletin of Faculty of Agriculture, University of Cairo* 45 (1): 231-242.
- Ivezic, M., Samota, D., Raspudic, E. and Horvat, D. .1996. Population density of plant parasitic nematodes. of maize at higher doses of potassium fertilizer. *Poljoprivreda* 2, 29–32.
- Johnson, A.W. 1997. Resistance of sweetcorn cultivars to plant-parasitic nematodes. *Plant Disease Reporter*. 59, 373–376.
- Jordaan, E.M. and De Waele, D. 1987. Resistance of maize to plant-parasitic nematodes: a literature review. *Proceedings of the Seventh South African Maize Breeding Symposium, 1986*. Department of Agriculture and Water Supply, Pretoria, pp. 60–66
- Kheir A.M., A. A. Farahat, and S. K. Abadir, 1989. Studies on the CCN , *Heterodera zae* in Egypt : II- Morphometric comparisons of four populations of the corn cyst nematode. *Bull. Zool. Soc., Egypt*,, 38 (1): 35-40.
- Koenning S.R., Overstreet C., Noling J.W. Donald P.A., Becker J.O. and B. A. Fortnum, 1999. Survey of Crop Losses in Response to Phytoparasitic Nematodes in the United States for 1994. *Supplement to the Journal of Nematology* 31(4):587–618.
- Koshy, P. K., and G. Swarup. 1971. Distribution of *Heterodera avenae*, *H. zae*, *H. cajani*, and *Anguina tritici* in India. *Indian Journal of Nematology* 1:106–111.
- Koshy, P. K., G. Swarup, and C. L. Sethi. 1971. *Heterodera zae* n. sp. (Nematoda: Heteroderidae), a cyst-forming nematode on *Zea mays*. *Nematologica* 16:511–516.
- Krusberg L.R., Sardanelli S., and A.P. Grybauskas, 1997. Damage potential of *Heterodera zae* to *Zea mays* as affected by edaphic factors. *Fundamental and Applied Nematology* 20 (6): 593-599.
- Krusberg L.R. and S. Sardanelli, 1989. Survival of *Heterodera zae* in Soil in the Field and in the Laboratory. *Journal of Nematology* 21(3):347-355.
- Lauritis, J. A., R. V. Rebois, and L. S. Graney, 1983. Life cycle of *Heterodera zae* Koshy, Swarup, and Sethi on *Zea mays* L. axenic root explants. *Journal of Nematology* 15 (1): 115-119.
- Macleod A, Anderson H, Follak S, van der Gaag DJ, Potting R, Proivost O et al., 2012. Pest Risk Assessment for the European Community plant health: a comparative approach with case studies. Supporting Publications 2012: EN-319. [1052 pp.]. <http://www.efsa.europa.eu/fr/supporting/doc/319e.pdf> [accessed on 1 Sept 2013].
- Maqbool M.A., 1981. Occurrence of root-knot and cyst nematodes in Pakistan. *Nematologia Mediterranea* 9: 211-212
- Maqbool M.A., 1988. Present status of research on plant parasitic nematodes in cereals and food and forage legumes in Pakistan. In: *Nematodes parasitic to cereals and legumes in temperate semi-arid regions*. Eds M.C. Saxena, R.A. Sikora & J.P. Srivastava, Aleppo, Syria, ICARDA, 173-180.
- McDonald A H and Nicol J M 2005. Nematode Parasites of Cereals, *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture, 2nd Edition* (eds M. Luc, R.A. Sikora, J. Bridge) CAB International. 131-191.
- McSorley, R. and Gallaher, R.N. 1994. Effect of tillage and crop residue management on nematode densities. on corn. *Supplement to the Journal of Nematology* 26, 669–674.
- Minton, N.A. 1986. Impact of conservation tillage on nematode populations. *Journal of Nematology* 18, 135–140.
- Nasira K., Shahina F., 2007. Nematode investigation in some cereals, fruits and vegetables of Pakistan. *Pakistan Journal of Nematology* 25, 15-27.
- Nicol, J.M., A Turner, A Coyne, L. den A Nijs, S. Hockland, Z.Tahna Maafi, 2011. Current Nematode Threats to World Agriculture In: *Genomics and Molecular Genetics of Plant-Nematode Interactions* 2011, pp 21-43
- Oteifa, B. A., M. M. Shams El-Dean, and M. H. El-Hamawi. 1997. A preliminary compiled study on the biodiversity of free-living, plant and insect parasitic nematodes in Egypt. *Egyptian Journal of Agronomatology* 1:1-36.
- Qasim, M.; Ghaffar, A., 1986. *Heterodera zae* in the risosphere of declining almond trees. *Nematologia Mediterranea* 14 (1): 159.
- Perry, R. N. 1986. Physiology of hatching. In *Cyst nematodes*. F. Lamberti and C. E. Taylor, eds. NATO Advanced Study Institute Series. New York: Plenum Press. 119-131
- Perry, R. N, 1987. Host-induced hatching of phytoparasitic nematode eggs. In: J. A. Veech and D. W. Dickson, eds. *Vistas on nematology*. Hyattsville, MD: Society of Nematologists, 159-164
- Ringer C.E., S. Sardanelli, and L.R. Krusberg, 1987. Investigations of the Host Range of the Corn Cyst Nematode, *Heterodera zae*, from Maryland. *Annals of Applied Nematology* 1 : 97-106.

- Sardanelli, S., L. R. Krusberg, and A. M. Golden.** 1981. Corn cyst nematode, *Heterodera zeae*, in the United States. *Plant Disease* 65 (7): 622.
- Shanina F.,** 1989. Studies on the Important Plant Parasitic Nematodes of Cereal and Vegetable Crops of Pakistan with Special Reference to *Heterodera zeae* and *H. avenae*. PhD Thesis, Dept Botany, University of Karachi: 1-339.
- Shahzad, S.; Ghaffar, A.,** 1986. Tomato, a natural host of *Heterodera zeae* in Pakistan. *International Nematology Network Newsletter* 1986. 3- 4: 38.
- Sharma, S.B. & Swarup, G.,** 1984. Cyst forming nematodes of India. New Delhi. *Ind. Cosmo Publ.*, 1-150.
- Sharma, S. B.; Pande, S.; Saha, M.; Kaushal, K. K.; Lal, M.; Singh, M.; Khajan Singh; Pokharel, R.; Upreti, R. P.,** 2001. Plant parasitic nematodes associated with rice and wheat based cropping systems in Nepal. *International Journal of Nematology* 11 (1), 35-38.
- Skantar A.M., Handoo Z.A., Zanakis G.N., Tzortzakaris E.A.,** 2012. Molecular and morphological characterization of the corn cyst nematode, *Heterodera zeae*, from Greece. *Journal of Nematology* 44(1), 58-66.
- Srivastava, A. N., Jaiswal, R. K.,** 2010. Biodiversity of maize cyst nematode, *Heterodera zeae* in maize-wheat cropping system in Himachal Pradesh. *Annals of Plant Protection Sciences* 18 (1): 282
- Srivastava A.N., Sethi C.L.,** 1984. Relationship of initial populations of *H. zeae* with plant growth of maize and nematode reproduction. *Indian Journal of Nematology* 5: 257–259.
- Srivastava, A. N. and Sethi, C. L.** 1985a. On the larval penetration and biology of *Heterodera zeae* on maize. *Indian Journal of Nematology*. 15: 1, 18-20.
- Srivastava, A.N., Sethi, C.L.,** 1985b. Histopathology of maize roots infected with maize cyst nematode, *Heterodera zeae*. *Indian Journal of Nematology*, 14 (2): 205-206
- Srivastava, A. N. and Sethi, C. L.** 1986. Effect of temperature on larval emergence on *Heterodera zeae*. *Indian Journal of Nematology*. 15: 2, 242-243.
- Stirling, G.R.** 1991. *Biological Control of Plant Parasitic Nematodes. Progress, Problems and Prospects.* CAB International, Wallingford, UK.
- Sumner, D.R., Hall, M.R., Gay, J.D., MacDonald, G., Savage, S.I. and Bramwell, R.K.** 2002. Root diseases, weeds, and nematodes with poultry litter and conservation tillage in a sweetcorn–snap bean double crop. *Crop Protection* 21, 963–972.
- Sutherst, R.W., Maywald, G.F., Kriticos, D.J.,** 2007. CLIMEX Version 3: User's Guide. www.Hearne.com.au: Hearne Scientific Software Pty Ltd; Melbourne, Australia. 131 pp.
- Umarao; Grace, T.; Kaushal, K. K.; Vangapandu Sashi,** 2008. Molecular characterization of Indian populations of maize cyst nematode, *Heterodera zeae* using PCR-RFLP of ribosomal DNA. *Indian Journal of Nematology*. 38 (1): 81-85.
- Whitehead, A.G.** 1998. *Plant Nematode Control.* CAB International, Wallingford, UK.