



ВЛИЯНИЕ НА ТЕМПЕРАТУРАТА ВЪРХУ ПРИКРЕПВАНЕТО И РАЗВИТИЕТО НА *PASTEURIA PENETRANS*
SAYRE & STARR ВЪРХУ *MELOIDOGYNE INCOGNITA*
INFLUENCE OF THE TEMPERATURE ON THE ATTACHMENT AND DEVELOPMENT OF *PASTEURIA PENETRANS*
ON *MELOIDOGYNE INCOGNITA*

Хари Самалиев

Harry Samaliev

Аграрен университет – Пловдив
Agricultural University – Plovdiv

E-mail: h.y.samaliev@abv.bg

Резюме

При in vitro и in vivo експерименти в “затворени съдове” (метод на Philips et al., 1980) беше установено влиянието на различни температури (16, 20, 24, 28 and 32°C) върху прикрепването и развитието на смесена популация на *Pasteuria penetrans* върху *Meloidogyne incognita* – раса 1. Най-голям брой прикрепени ендоспори на *P. penetrans* към кутикулата на ларви от 2-ра възраст беше установен в температурния интервал 24-32°C. При 32 и 28°C зрели ендоспори в тялото на женските нематоди на *M. incognita* преобладаваха съответно на 36-я и 48-я ден след заразяването, а при 24°C и 20°C - съответно след 84 дни и след 120 дни. В началния етап от развитието на формираните се женски на *M. incognita* темпът на нарастване на заразените с *P. penetrans* екземпляри беше по-бавен от този на незаразените. В крайното отчитане при вариантите с температури 24, 28 и 32°C размерът на тялото на заразените с бактерията женски се изравни с този на незаразените екземпляри. При температура 20, 24, 28 и 32°C броят на продуцираните в тялото на женски на *M. incognita* от *P. penetrans* ендоспори на коренова система беше съответно $12,5 \times 10^6$, $27,4 \times 10^6$, $12,1 \times 10^7$ и $11,3 \times 10^7$.

Abstract

In vitro and in vivo experiments in closed containers (method of Philips et al., 1980) were conducted to estimate the influence of different temperatures (16, 20, 24, 28 and 32°C) on the attachment and development of a mixed population of *Pasteuria penetrans* on *Meloidogyne incognita* – race 1. The greatest attachment rate of endospores of *P. penetrans* occurred in second-stage juveniles at 28-32°C. The bacterium developed at a greater speed within its host at 24, 28 and 32°C than at 20°C. Mature sporangium was the predominant life stage observed after 36, 48, 84 and 120 days at 32, 28, 24 and 20°C, respectively. The body width and length of *M. incognita* females infected with *P. penetrans* were smaller initially than the respective dimensions in the uninfected females, but became considerably larger over time at 24, 28 and 32°C. At temperatures of 20, 24, 28 and 32°C, the average number of endospores per root system was 12.5×10^6 , 27.4×10^6 , 12.1×10^7 , and 11.3×10^7 , respectively.

Ключови думи: бактерия, биологичен контрол, галови нематоди, *Meloidogyne incognita*, паразитизъм, *Pasteuria penetrans*, развитие, *Solanum tuberosum*.

Key words: bacterium, biological control, nematodes, *Meloidogyne incognita*, parasitism, *Pasteuria penetrans*, development, *Solanum tuberosum*.

ВЪВЕДЕНИЕ

Бактерията *Pasteuria penetrans* Sayre and Starr е облигатен паразит на растителнопаразитните видове нематоди и е с потенциал на биологичен агент за борба с галовите нематоди от род *Meloidogyne* (Самалиев, 2002, 2003; Mankau, 1975; Sayre, 1980; Stirling, 1985; Gowen and Chaner, 1988; Chen et al., 1996; Samaliev,

1998; Davies et al., 1988; Daudi et al., 1990; Samaliev and Baycheva, 2004, 2005; Darban et al., 2005; Samaliev and Baycheva, 2006). Стадиите от жизнения цикъл на паразита започват с покълване и проникване на прикрепената към кутикулата ендоспора, следва вегетативен стадий, фрагментация (размножаване чрез делене) и образуване на спори (спорулация). Узрялата

спора е неподвижен спорангий, съдържащ ендоспори, които впоследствие се разпръскват в почвата. Статусът на гостоприемника се определя след размножаването и образуването на новите бактериални ендоспори в тялото на гостоприемника.

От условията на околната среда най-съществено влияние върху развитието на бактерията в тялото на *Meloidogyne spp.* оказва температурата. По данни на Stirling (1981) оптималната температура за развитието и размножаването на *P. penetrans* в тялото на *M. javanica* е 30°C, а за *M. arenaria* Hatz and Dickson (1992) докладват – температура между 30 и 35°C.

В тази статия се описват резултатите от изследванията ни за определяне на влиянието на температурата върху прикрепването на ендоспори на *P. penetrans* към кутикулата на ларви от 2-ра възраст (L_2) на *M. incognita*, развитието на бактерията в тялото на нематодата и нейната репродуктивност.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Размножаване на *M. incognita* и *P. penetrans*. За целта на експеримента *M. incognita* – раса 1, размножихме от единична яйчна торбичка върху домат сорт Tiny Tim при контролирани условия (фотопериод 16/8 часа и температура 25±1°C). Яйцата от яйчните торбички на патогена екстрахирахме с натриев хипохлорид по метода на Hussey and Barker (1973), след което L_2 инкубирахме по метода на Baermann (1917) и тествахме до 3-тия ден след излюпването. *P. penetrans* – популация *Ppmix* (вж. Samaliev and Baycheva, 2006), размножихме върху *M. incognita* по метода на Stirling and Wachtel (1980).

Влияние на температурата и времето на излагане върху прикрепването на ендоспори на *P. penetrans* – популация *Ppmix*, към кутикулата на L_2 на *M. incognita*. Суспензия от ендоспори на *P. penetrans* в концентрация ~1,28x10⁵ ендоспори/ml получихме по метода на Stirling and Wachtel (1980). Средна проба (5 ml) от така приготвената концентрация ендоспори на *P. penetrans* поставихме в петриев съдове. Веднага след това 100 L_2 на *M. incognita* (с 0,5 ml вода) пипетирахме във всеки съд с *P. penetrans*. Съдовете с бактериална суспензия и L_2 преместихме в термостат при температури 16±1, 20±1, 24±1, 28±1, 30±1 и 32±1°C. Всеки вариант беше в четири повторения. След 24, 36 и 48 часа броят на ендоспорите, прикрепени към кутикулата на всяка от 20-те случайно подбрани L_2 , отчетохме с помощта на микроскоп (x400).

Влияние на температурата върху развитието и репродуктивността на *P. penetrans* – популация *Ppmix*, в тялото на *M. incognita*. Ларви от 2-ра възраст на *M. incognita* пипетирахме в суспензия от ендоспори на *P. penetrans* в концентрация ~1.28x10⁵ ендоспори/ml в петриев съд, за различен период от време, така че да се

получат 6-10 ендоспори/ L_2 . Приблизително по 650 от заразените с *P. penetrans* L_2 пипетирахме около корените на две седмични картофени растения сорт „Desiree”, отглеждани в “затворени съдове” (8 cm височина и Ø10 cm), съдържащи 350 ml стерилизирана почва (3:1 пясък/глина) с 45-55% от ППВ, в термостат при температура 28±1°C (метод на Philips et al., 1980). Други картофени растения заражихме с по 650 неинфектирани със спори на *P. penetrans* L_2 (контрола). След това поставихме съдовете отново в термостат при 28±1°C. След 48 часа отделихме растенията от почвата, измихме с вода корените им, пресадохме ги в други съдове с предварително стерилизирана почва, затворихме съдовете и отново ги поставихме в термостат при 16±1, 20±1, 24±1, 28±1, 30±1 и 32±1°C. Всеки вариант беше в 4-ри повторения. развитието на *P. penetrans* в тялото на женските екземпляри на *M. incognita* определяхме на всеки шест дни, като за целта използвахме скалата за диференциране на отделните стадии на Sayre and Wergin (1977): 1 = микроколонии - преобладаващ стадий; 2 = микроколонии и квартети; 3 = квартети - преобладаващ стадий; 4 = квартети и незрели ендоспори; 5 = незрели ендоспори - преобладаващ стадий; 6 = незрели и зрели ендоспори; 7 = зрели ендоспори - преобладаващ стадий. Първото отчитане беше на 12-ия ден.

В края на експеримента за всяка тествана температура определихме размера (дължина/ширина) на инфектираните с бактерията зрели женски (по 20 екземпляра/корен) по метода на Hartman and Sasser (1985) и броя на зрите ендоспори/корен по Stirling and Wachtel (1980). Размера на тялото на зрели женски в контролата определихме средно на 20 екземпляра/корен за всяка експериментална температура (20±1, 24±1, 28±1 и 32±1°C) съответно на 48-ия ден, на 38-ия ден, на 32-ия и на 26-ия ден.

Статистическа обработка на получените резултати

За математическата обработка на данните бяха използвани готови програмни продукти - Microsoft Excel, SPSS, SigmaPlot и Table Curve.

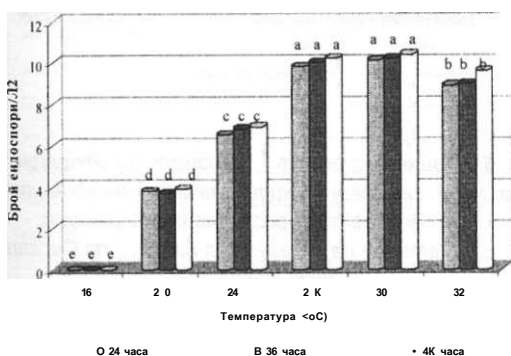
РЕЗУЛТАТИ

Влияние на температурата върху прикрепването на ендоспори на *P. penetrans* към кутикулата на L_2 на *M. incognita*

При температура 20±1°C и експозиция 24 часа отчетеният среден брой на прикрепените по тялото на L_2 ендоспори беше сравнително нисък – 3,8 ендоспори/ L_2 . С увеличаване на температурата до 30±1°C броят на прикрепените ендоспори към кутикулата на L_2 нарасна значително (P<0,05, фиг. 1). След тази граница обаче с покачването на температурата до 32±1°C броят на ендоспорите, прикрепени към тялото на ларвите,

започна да намалява. Така например във вариантите с температури $24 \pm 1^\circ\text{C}$, $28 \pm 1^\circ\text{C}$, $30 \pm 1^\circ\text{C}$ и $32 \pm 1^\circ\text{C}$ броят на прикрепените към L_2 на *M. incognita* ендоспори на бактерията е съответно 6,5, 9,7, 10,0 и 8,9 ендоспори/ L_2 ($P < 0,05$, фиг. 1). След 24-я до 48-я час, когато беше последното отчитане, статистически доказана разлика в броя на прикрепените ендоспори на *P. penetrans* към кутикулата на L_2 на *M. incognita* и при петте тествани температури не беше отчетена ($P < 0,05$, фиг. 1). При температура $16 \pm 1^\circ\text{C}$ и експозиции 24, 36 и 48 часа ендоспори по тялото на L_2 не бяха установени ($P < 0,05$, фиг. 1).

Статистическата обработка на експерименталните данни показва висока степен на корелация ($r = 0,97$) между температурата и броя прикрепени ендоспори на *P. penetrans* към кутикулата на ларви от 2-ра възраст на *M. Incognita* (фиг. 2).

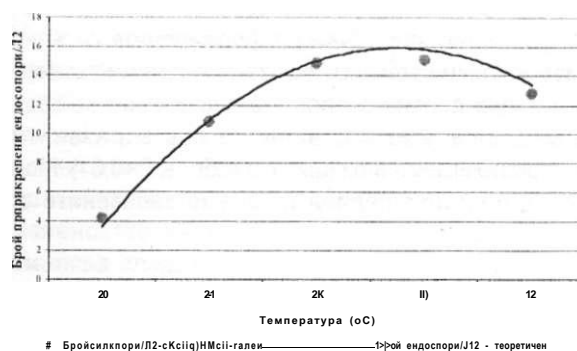


Фиг. 1. Брой ендоспори на *P. penetrans*, прикрепени по кутикулата на ларви от 2-ра възраст на *M. incognita* след 24, 36 и 48 часа контакт на ларвите с бактерията при различна температура а, б, с,.....степен на доказаност при $P_{0.05}$ по Duncan's Multiple Range Test

Fig. 1. Attachment of endospores of *P. penetrans* on second-stage juveniles of *M. incognita* after 24, 36 and 48 hours incubation in *P. penetrans* at different temperature а, b, с,.....degree of proof with $P_{0.05}$ after Duncan's Multiple Range Test

Влияние на температурата върху развитието и репродуктивността на *P. penetrans* в тялото на женски на *M. incognita*

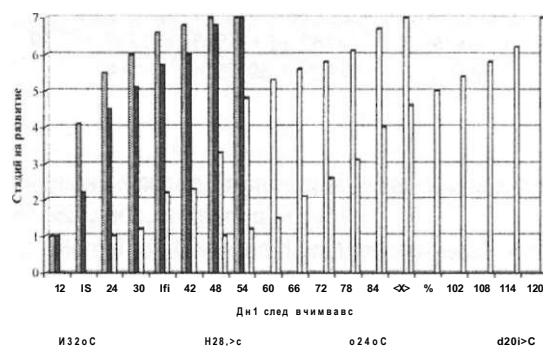
Установено беше, че с нарастване на температурата развитието на бактерията протича по-бързо и зрели ендоспори в тялото на женските индивиди на *M. incognita* бяха наблюдавани значително по-рано (фиг. 3). Така например развитието на микроколонии - доминиращ стадий, беше наблюдавано след 16 дни при температура 32°C и 28°C , след 24 дни - при температура



Фиг. 2. Брой ендоспори на *P. penetrans*, прикрепени към кутикулата на ларви от 2-ра възраст на *M. incognita* след 24-часов контакт на ларвите с бактерията при различна температура

Fig. 2. Attachment of endospores of *P. penetrans* on second-stage juveniles of *M. incognita* after 24, 36 and 48 hours incubation in *P. penetrans* at different temperature

24°C , и след 48 дни - при температура 20°C . При 32°C и 28°C зрели ендоспори в тялото на женските нематоди на *M. incognita* преобладаваха съответно на 36-я и 48-я ден след заразяването (фиг. 3). При 24°C и 20°C развитието на *P. penetrans* протече по-бавно в сравнение с това при 28°C и 32°C и зрелите ендоспори на бактерията доминираха след 84 дни при 24°C и след 120 дни при 20°C (фиг. 3).

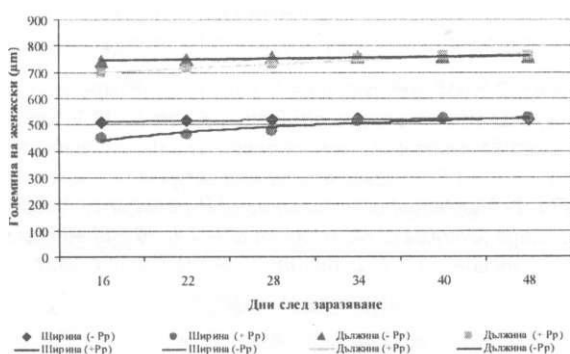


Фиг. 3. Развитие на *P. penetrans* в тялото на *M. incognita* по корените на картофи сорт „Dusirue“ при различна температура. Колонките показват диапазона на стадия на развитие (по Sayre and Wergin, 1977)

Fig. 3. Development of *P. penetrans* in females of *M. arenaria* on potato roots cv. "Dusirue" at different temperature. Bars report the range of stage of development (after Sayre and Wergin, 1977)

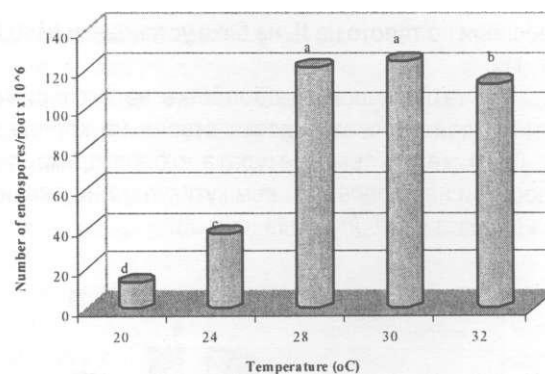
Развитието на незаразените нематоди на *M. incognita* протича по-бързо и формиралите се женски екземпляри първоначално бяха с по-големи размери и достигнаха полова зрелост за значително по-кратък период от време в сравнение със заразените с бактерията екземпляри (фиг. 4 и табл. 1, $P < 0,01$). Макар и след по-дълъг период от време заразените с *P. penetrans* женски екземпляри на *M. incognita* също увеличиха първоначално отчетените по-малки размери, в сравнение с контролата, като в края на експеримента значима разлика в размерите на заразените с бактерията и незаразените зрели женски не беше установена (фиг. 4 и табл. 1, $P < 0,01$). До края на нашето изследване при температура 20°C големината на тялото

увеличиха първоначално отчетените по-малки размери, в сравнение с контролата, като в края на експеримента значима разлика в размерите на заразените с бактерията и незаразените зрели женски не беше установена (фиг. 4 и табл. 1, $P < 0,01$). До края на нашето изследване при температура 20°C големината на тялото



Фиг. 4. Темп на нарастване на тялото на незаразени (-Pp) и заразени (+Pp) с *P. penetrans* женски на *M. incognita* при 28°C . Ширина: незаразени - $Y = 523,90 + (-3732,90) / X^2$, $r = 0,97$, заразени - $Y = 211,28 + 87,27 \ln x$, $r = 0,94$. Дължина: незаразени - $Y = 762,36 + (-5335,80) / X^2$, $r = 0,99$, заразени - $Y = 501,24 + 69,65 \ln x$, $r = 0,97$

Fig. 4. Degree of growth of body of uninfected (-Pp) and infected (+Pp) with *P. penetrans* females of *M. incognita* at 28°C . Width: uninfected - $Y = 523,90 + (-3732,90) / X^2$, $r = 0,97$, uninfected - $Y = 211,28 + 87,27 \ln x$, $r = 0,94$. Length: uninfected - $Y = 762,36 + (-5335,80) / X^2$, $r = 0,99$, infected - $Y = 501,24 + 69,65 \ln x$, $r = 0,97$



Фиг. 5. Брой ендоспори на *P. penetrans* (произведени в женски на *M. incognita*) на коренова система на картофи сорт „Desiree“ при различна температура a, b, c, ... степен на доказаност при $P_{0.05}$ по Duncan's Multiple Range Test

Fig. 5. Number of endospores of *P. penetrans* (produced in *M. incognita*) per root system of potato cv. "Desiree" at different temperature a, b, c, ... degree of proof with $P_{0.05}$ after Duncan's Multiple Range Test

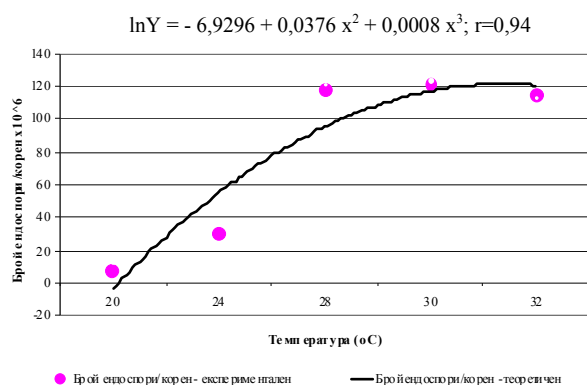
Таблица 1. Големината на тялото (дължина и ширина) на женски на *M. incognita*** незаразени (-Pp) и заразени (+Pp) с *P. penetrans*, след 36, 48, 84 и 120 дни, при различна температура

Table 1. Size of body (length and width) of females of *M. incognita*** uninfected (-Pp) and infected (+Pp) with *P. penetrans* after 36, 48, 84 and 120 days at different temperature

Варианти Variants	Големината на тялото на женски (µm)* / temperature (°C) Size of body of females (µm)* / temperature (°C)			
	20°C	24 °C	28°C	32°C
Ширина (- Pp) Width (- Pp)	518±12a	520±19a	523±17 a	522±20 a
Ширина (+ Pp) Width (+Pp)	507±15b	523±14a	526±12 a	528±11a
	20°C	24 °C	28°C	32°C
Дължина (- Pp) Length (- Pp)	755±13a	757±11 a	760±14 a	761±13a
Дължина (+ Pp) Length (+ Pp)	747±17b	761 ±15 a	764±11 a	765±18a

на заразните с *P. penetrans* женски екземпляри не достигна големината на зрелите женски в контролата ($P < 0,01$, табл. 1).

Отчетеният брой ендоспори на *P. penetrans* на коренова система също беше повлиян от температурата ($P < 0,01$, фиг. 5). Установено беше, че с нарастване на температурата от 20°, 24°, 28°, 30° и 32°C средният брой ендоспори на коренова система нарастваше и достигна съответно $12,5 \times 10^6$, $37,4 \times 10^6$, $12,1 \times 10^7$, $12,4 \times 10^7$ и $11,3 \times 10^7$ ендоспори на корен ($P < 0,01$, фиг. 5). Статистическата обработка на експерименталните данни показва висока степен на корелация ($r = 0,94$) между температурата и броя продуцирани от *P. penetrans* ендоспори в тялото на зрели женски на *M. incognita* (фиг. 6).



Фиг. 6. Брой ендоспори на *P. penetrans* (продуцирани в женски на *M. incognita*) на коренова система на картофи сорт „Desiree” при различна температура

Fig. 6. Number of endospores of *P. penetrans* (produced in *M. incognita*) per root system of potato roots cv. "Desiree" at different temperature

ОБСЪЖДАНЕ

Броят на ендоспорите на *P. penetrans* - популация *Ppmix*, които се прикрепиха към кутикулата на L_2 на *M. incognita*, беше повлиян от температурата.

Установено беше, че с увеличаване на температурата броят на прикрепените ендоспори на *P. penetrans* към тялото на L_2 на *M. incognita* нараства. Получените резултати са във връзка с изследвания за определяне на влиянието на температурата върху прикрепването на ендоспори на бактерията върху L_2 , проведени с други *P. penetrans* популации (Samaliev and Baicheva, 2004) и други *Meloidogyne sp.* (Stirling, 1981; Stirling et al., 1990; Hatz and Dickson, 1992). Вероятната причина за увеличаване на темпа на прикрепване на ендоспорите на *P. penetrans* по тялото на L_2 свързваме с по-интензивното движение на L_2 при оптимални за *M. incognita* условия (Самалиев, 1990; Самалиев и

Стоянов, 2007; Wallace, 1966; Sasser and Carter, 1985). При температура 32°C броят на прикрепените ендоспори по тялото на L_2 започна отново да намалява. Този факт е в подкрепа на изказаното от нас по-горе становище, че прикрепването на спорите на *P. penetrans* по кутикулата на L_2 на *Meloidogyne spp.* е свързано с жизнеността на нематодата. Установено е, че жизнеността на тествания вид галова нематода намалява след 31,2°C (Самалиев, 1990) и е силно потисната при температури над 38°C и под 5-6°C (Стоянов, 1980; Van Gundy, 1985). При температура 20°C и след 24-часов контакт на ларвите с бактерията броят на ендоспорите на *P. penetrans*, които се прикрепиха към кутикулата на L_2 на *M. incognita*, беше от 1 до 6 ендоспори/ L_2 , като около 52% от L_2 бяха с 3 ендоспори/ L_2 и около 12% с повече от 3 прикрепени ендоспори/ L_2 . По данни на Stirling (1984), Davies et al. (1988) и Самалиев (2003), за да се осигури заразяването на *Meloidogyne spp.*, са необходими поне 3 прикрепени ендоспори на всяка L_2 . След 24-я до 48-я час, когато беше последното отчитане, значима разлика в броя на прикрепените ендоспори на *P. penetrans* към тялото на L_2 на *M. incognita* и при четирите тествани температури не беше отчетена.

Температурата е един от факторите на околната среда, който оказва влияние и върху развитието на микроорганизмите. Следователно наблюдаваното в експеримента нарастване на темпа на развитие на бактерията с увеличаването на температурата не беше неочаквано. Установено беше, че при температура между 24 и 32°C развитието на *P. penetrans* в тялото на *M. incognita* приключва за значително по-кратък период от време в сравнение с това при 20°C. Тези резултати потвърждават изследванията на Stirling (1981), проведени с други популации на *P. penetrans* и с други видове галови нематоди (*M. javanica*). В нашия експеримент обаче развитието на *P. penetrans* в женските на *M. incognita* изискваше значително по-дълъг период от време до появата на зрели ендоспори от периода, съобщен от Stirling (1981) за *M. javanica*. Подобно на това здрави женски на *M. incognita* полагат първите яйца в яйчните торбички след по-дълъг период на развитие от този при *M. javanica* (Самалиев, 1990). Следователно има синхронизиране при развитието на гостоприемника и паразита. Оптималната температура за развитието на *P. penetrans* варираше между 28 и 32°C. Получените резултати се потвърждават с установения в експеримента ни по-голям брой ендоспори на коренова система при температури 28 и 32°C в сравнение с този при температури 20 и 24°C. Тъй като не наблюдавахме развитие на бактерията при температура 16°C, следва да предположим, че минималната температура за развитието на паразита е между 16 и 20°C.

Максималната температура за развитие на бактерията в този експеримент не беше определена, но вероятно тя съвпада с максималната температура, необходима за развитието на нематодите.

Установено беше, че паразитизмът на *P. penetrans* оказва съществено влияние върху темпа на нарастване на тялото на заразените женски на *M. incognita*. При използваната в експеримента начална популационна плътност - 625 Л₂ на корен, големината (дължина/ширина) на незаразените с бактерията женски индивиди на *M. incognita* е в нормалните за този вид граници. В началния етап от развитието на формиралите се женски на *M. incognita* темпът на нарастване на заразените с *P. penetrans* екземпляри беше по-бавен от този на незаразените. В крайното отчитане обаче при вариантите с температури 24, 28, 30 и 32°C размерът на тялото на заразените с бактерията женски се изравни с този на незаразените екземпляри. По-бавният темп на нарастване на заразените с бактерията женски нематоди свързваме с началния процес на инфекция от паразита (Самалиев, 2003; Davies et al., 1988). При темпа на забавено развитие при 20°C допускаме, че размерът и на заразените с *P. penetrans* женски при тази температура ще достигне този на незаразените индивиди, ако продължим нашия експеримент.

Продуцираните в тялото на женски на *M. incognita* от *P. penetrans* ендоспори на коренова система беше във връзка с температурата. Най-голям брой ендоспори на корен бяха отчетени при температура 28° и 30°C, а най-малък – при 20°C.

ИЗВОДИ

1. В температурния интервал 24-32°C популация *Pasteuria penetrans* причини най-висока степен на прикрепване на ендоспори към тялото на ларва от 2-ра възраст на *M. incognita*.
2. При 32 и 28°C зрели ендоспори в тялото на женските нематоди на *M. incognita* преобладават съответно на 36-я и на 48-я ден след заразяването, а при 24°C и 20°C - респективно след 84 дни и след 120 дни.
3. В началния етап от развитието на формиралите се женски на *M. incognita* темпът на нарастване на заразените с *P. penetrans* екземпляри беше по-бавен от този на незаразените. В крайното отчитане обаче при вариантите с температури 24, 28 и 32°C размерът на тялото на заразените с бактерията женски се изравни с този на незаразените индивиди.
4. Най-голям брой ендоспори на *P. penetrans* на корен бяха отчетени при температура 28 и 30°C, а най-малък – при 20°C, съответно $12,1 \times 10^7$, $12,4 \times 10^7$ и $12,5 \times 10^6$ ендоспори на корен.

ЛИТЕРАТУРА

- Самалиев, Х., 1990. Галовите нематоди от род *Meloidogyne* (Goeldi) по тютюна. Биология, екология и борба. Дисертация, с. 189.
- Самалиев, Х., 2002. Патогенитет на *Pasteuria penetrans* (Sayre & Starr) паразит по галовите неаматоди от род *Meloidogyne* (Goeldi) в България. I част. – Растениевъдни науки, 39: 76-82.
- Самалиев, Х., 2003. Патогенност на *Pasteuria penetrans* (Sayre & Star), паразит по галовите нематоди от род *Meloidogyne* в България. I. – Растениевъдни науки, 40: 76-82.
- Самалиев, Х., Д. Стоянов, 2007. Паразитни нематоди по културните растения и борбата с тях. Академично издателство на Аграрния университет, Пловдив, с. 332.
- Стоянов, А., 1980. Растителни нематоди и борбата с тях. Земиздат, София, с. 182.
- Baermann, G., 1917. Eine einfache Methode zum Auffinden von Ankylostomen (Nematoden) Larven in Erdproben. *Geneeskundig Tijdschrift voor Nederlansch*. - Indie 57: 131-137.
- Davies, K. G., Kerry, B. R. and C. A. Flynn, 1988. Observations on the pathogenicity of *Pasteuria penetrans*, a parasite of root knot nematodes. – *Annals of Applied Biology* 112, 491-501.
- Daudi, A. I., A. G. Channer, R. Ahmed, S. R. Gowen, 1990. *Pasteuria penetrans* as a biocontrol agent of *Meloidogyne javanica* in the field in malawi and in Pakistan. – In: *Proceedings of the British Crop Protection Conference. Pests and Diseases*, 1: 253-257.
- Derban, D. A., S. R. Gowen, B. Pembroke, A. N. Mahar, 2005. Development of *Pasteuria penetrans* in *Meloidogyne javanica* females as affected by constantly high vs fluctuating temperature in a in-vivo system. – *Journal of Zhejiang University Science*, 6 (3): 155-157.
- Gowen, S., A. G. Channer, 1988. The production of *Pasteuria penetrans* for control of root knot nematodes. Brighton of protection conference - *Pests and Diseases*, 1215-1220.
- Hatz, B. D. W. Dickson, 1992. Effect of temperature on attachment, development, and interactions of *Pasteuria penetrans* on *Meloidogyne arenaria*. – *Journal of Nematology*, 24: 512-521.
- Hartman, K. M., J. N. Sasser, 1985. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal pattern morphology. – In: *An Advanced Treatise on Meloidogyne*, Vol. 2. Methodology (Edited by Barker, K. R., C. C. Carter and J. N. Sasser). North Carolina State University Graphics. Raleigh, North Carolina, 69-74.
- Hussey, R. S., K. R. Barker, 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. – *Plant Disease Reporter* 57:1025-1028.



- Philips, M. S., Forest, J. M. S., L. A. Wilson*, 1980. Screening for resistance to potato cyst nematode using closed containers. – *Annals of Applied Biology*, 6: 317-322.
- Samaliev, H.*, 1998. Observations on spore attachment of *Pasteuria penetrans* on *Meloidogyne* species populations from vineyards in Bulgaria. – *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, vol. 3, 34-36.
- Samaliev, H., O. Baycheva*, 2004. Effect of soil temperature on attachment and interactions of Bulgarian population of *Pasteuria penetrans* on *Meloidogyne javanica*. – *Experimental Pathology and Parasitology*, 6 (11): 25-30.
- Samaliev, H., O. Baicheva*, 2006. Effectiveness of *Pasteuria penetrans* (Sayre & Starr) alone and in combination with other methods for control of *Meloidogyne* spp. on vegetables grown in greenhouses in Bulgaria. – *Experimental Pathology and Parasitology*, 9/2, 18-26.
- Sasser, J. N., C. C. Carter*, 1985. *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Vol. 1. Biology and control. North Carolina State University Graphics. Raleigh, North Carolina, p. 422.
- Sayre, R. M.*, 1980. Biocontrol: *Bacillus penetrans* and related parasites of nematodes. – *Journal of Nematology* 12, 260-270.
- Sayre, R. M., W. P. Wergin*, 1977. Bacterial parasite of a plant nematode: Morphology and ultrastructure. – *Journal of Bacteriology*, 129, 1091-101.
- Stirling, G. R.*, 1981. Effect of temperature on infection of *Meloidogyne javanica* by *Bacillus penetrans*. – *Nematologica*, 27: 458-462.
- Stirling, G. R.*, 1984. Biological control of *Meloidogyne javanica* with *Bacillus penetrans*. – *Phytopathology*, 74, 55-60.
- Stirling, G. R.*, 1985. Host specificity of *Pasteuria penetrans* within the genus *Meloidogyne*. – *Nematologica* 31: 203-209.
- Stirling, G. R., R. D. Sharma, J. Perry*, 1990. Attachment of *Pasteuria penetrans* spores to the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in soil and its effects on infectivity. – *Nematologica*, 36: 246-252.
- Stirling, G. R., M. F. Wachtel*, 1980. Mass production of *Bacillus penetrans* for the biological control of root knot nematodes. – *Nematologica* 26: 308-312.
- Van Gundy, S. D.*, 1985. Ecology of *Meloidogyne* species – emphasis of environmental factors affecting survival and pathogeneticity. – In: *Sasser, J. N. and Carter, C. C. (eds.), An Advanced Treatise on Meloidogyne, Volume I, Biology and Control*. University of North Carolina Press, Raleigh, 177-179.
- Wallace, H. R.*, 1966. Factors influencing the infectivity of plant parasitic nematodes. – *Proc. Royal Soc. B.*, 164, 592-614.

Статията е приета на 3.06.2009 г.
Рецензент – доц. д-р Янко Димитров
E-mail: y.dimitrov@au-plovdiv.bg