

# APLIKÁCIA ENTOMOPATOGÉNOV DO POPULÁCIÍ ŠKODCOV S VYUŽITÍM FEROMÓNOVÝCH LAPAČOV

Jozef Vakula • Andrej Gubka • Juraj Galko • Štefan Varkonda

## Úvod

Biologické metódy ochrany lesa využívajúce entomopatogénne mikroorganizmy hmyzu sú v súčasnosti vysoko aktuálnou témou, ktorou sa zaoberá viacero výskumných tímov. Biologická ochrana je ekologicky akceptovateľným spôsobom, ktorý má rastúci význam a nachádza svoje uplatnenie v územiach, kde je chemický prístup nežiaduci. Cieľom biologického boja je používanie metód, ktoré zabezpečia ciele ničenie iba úzkej skupiny škodcov, v ideálnom prípade iba jedného druhu škodcu. Pri biologickom boji sa zasahuje iba proti škodcovi, neusmrcujú sa jeho prirodzení nepriatelia a nevnášajú sa do prostredia chemické látky. Týmito metódami sa podporuje udržanie prirodzenej rovnováhy v lesnej biocenóze a prirodzenej samoregulácie početnosti škodcov. Jednou z vhodných metód vnášania entomopatogénov do populácií škodcov, ktorá má viacero špecifických výhod sú feromónové lapače. Túto metódu môžeme definovať ako kombináciu biotechnických (lapače + feromóny) a biologických (entomopatogény) spôsobov boja.

## Patogény podkôrneho hmyzu

Lykožrút smrekový je stále ekonomicky najvýznamnejší podkôrny hmyz v strednej Európe a je naďalej stredobodom záujmu vedeckej komunity (EIDMANN 1992). Výsledky výskumu v oblasti patogénov lykožrúta smrekového v Rakúsku a Českej republike v poslednom období priniesli pomerne prekvapujúce výsledky. Spektrum patogénov v chránených územiach a v hospodárskych lesoch bolo prakticky rovnaké (WEGENSTEINER *et al.* 1996). Početnosť patogénov závisela skôr od stavu vývoja populácie podkôrneho hmyzu a bola vyššia v oblastiach stresovaných abiotickými faktormi (vetrové a snehové kalamity), kde mali pravdepodobne entomopatogény dlhší čas na zvýšenie vlastnej početnosti v silnej populácii hostiteľa.

Biologická ochrana je u podkôrneho hmyzu stále pretrvávajúcim problémom. Už v minulosti boli niektoré druhy húb napr. *Metarhizium anisopliae* a *Beauveria* spp. testované voči larvám niektorých chrobákov. Vždy sa ale ukázalo, že najväčší problém je vnesenie mikroorganizmov do prostredia, kde trávi hostiteľ väčšinu svojho života. U väčšiny entomopatogénov je pre infekciu potrebné aby sa patogén dostal do tráviaceho traktu hostiteľa. Tu ale vzniká problém, pretože kontakt s kontaminovanou potravou je zložitý ako u lariev tak aj u imág vzhľadom na ich špecifický spôsob života. Larvy žerú v relatívne sterilnom prostredí floému a len vzácne prichádzajú do kontaktu s poškramami dospelých imág, ktoré by mohli byť potenciálne prenášačmi ochorenia (ZÚBRİK *et al.* 2008). Do úvahy preto prichádzajú predovšetkým kontaktné druhy entomopatogénov, najmä entomopatogénne huby. Medzi najčastejšie (dominantné) druhy entomopatogénnych húb izolovaných z lykožrúta smrekového patrí rod *Beauveria* spp., no v populáciách bol početne zistený aj druh *Isaria farinosa* (DRAGANOVA *et al.* 2010).

Na našom trhu sa možno stretnúť s biologickým prípravkom obsahujúcim *Beauveriu bassianu* s názvom Boveril, ktorého použitie bude pravdepodobne povolené aj v roku 2012. V Českej republike sa vyrába podobný prípravok s názvom Boverol. Tieto prípravky sú na trhu dostupné vo forme prášku, cena za 100 g prípravku je približne 60 Eur. Tento prášok je najvhodnejšie aplikovať do upravených zberných nádob lapačov na rôzne nosiče, ktoré zabezpečia kontakt prípravku s chrobákmi pri ich prechode po nosiči. Nosiče zároveň šetria množstvo použitého prípravku.

Tabuľka 1. Zoznam vybraných patogénov podkôrneho hmyzu

Názov	Systematické zaradenie	Hostiteľ	Možnosti využitia v biologickom boji
Entomopoxvirus (ItEPV)	Vírus	<i>Ips typographus</i>	Umelý chov problematický. Je možné ho pestovať len na živom hostiteľovi. Umelý chov podkôrneho hmyzu je zložitý a preto aj prípadná masová produkcia vírusov naráža na viacero problémov.
<i>Gregarina typographi</i>	Gregarina	<i>Ips typographus</i>	Umelý chov problematický. Je možné ho pestovať len na živom hostiteľovi. Umelý chov podkôrneho hmyzu je zložitý a preto aj prípadná masová produkcia gregarín naráža na viacero problémov.
<i>Nosema typographi</i> Weiser	Mikrosporidia	<i>Ips typographus</i>	Umelý chov problematický. Je možné ho pestovať len na živom hostiteľovi. Umelý chov podkôrneho hmyzu je zložitý a preto aj prípadná masová produkcia mikrosporidií naráža na viacero problémov. V prípade stimulácie virulencie a pri zachovaní ich selektivity by aj zvýšená náklady na prípravu účinnej látky mohli byť odôvodnené.
<i>Chytridiopsis typographi</i> Weiser, <i>Nosema</i> , <i>Pleistophora</i> , <i>Chytridiopsis</i> , <i>Unikaryon</i>		<i>Ips typographus</i> a iné podkôrníkovité (druhovo špecifické)	
<i>Beauveria bassiana</i> , <i>Beauveria brongniartii</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i> , <i>Verticillium lecanii</i> , <i>Isaria</i> spp.	Huby	<i>Ips typographus</i> a iné podkôrníkovité	Chov pomerne jednoduchý. Je potrebné nájsť najvhodnejšiu metódu introdukcie druhu do ekosystému a jeho ďalšie šírenie v populácii. „Ekologický“ aspekt použitia druhovo nešpecifického organizmu je diskutabilný.
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>tenebrionis</i>	Baktérie	<i>Ips typographus</i> a iné podkôrníkovité	Chov jednoduchý. Nejasný spôsob infekcie jedinca a introdukcie do populácie.

## Feromónové lapače ako súčasť biologického boja

Jednou s nevýhod a často limitujúcim faktorom využitia niektorých biologických metód je ich nízka selektivita voči cieľovým druhom. Jedná sa najmä o entomopatogénne huby. Z tohto dôvodu by sa mali využívať na ich aplikáciu metódy zamedzujúce kontaktu patogéna s cieľovými druhmi hmyzu. Jednou z týchto metód je využitie feromónovej metódy, ktorá je vysoko selektívna a zabezpečuje izolovaný kontakt huby s jedincami cieľového druhu.

Identifikácia feromónu lykožrúta smrekového Bakkem v roku 1970 a následné zavedenie feromónovej metódy do lesníckej praxe v 80. rokoch minulého storočia významne prispelo k rozšíreniu metód ochrany lesa. Feromónová metóda je v dnešnej dobe účinnou a nezastupiteľnou zložkou integrovanej ochrany lesa, ktorá má široké uplatnenie. Je však obmedzená len na druhy škodcov, na ktoré sa vyrába účinný syntetický feromón a druhy patogénov, ktoré infikujú hostiteľa kontaktom (nie požerovo). Synteticky sa u nás vyrábajú feromóny na nasledovné druhy podkôrníkovitých: *Ips typographus*, *Ips duplicatus*, *Pityogenes chalcographus*, *Xyloterus lineatus*, *Ips acuminatus*, *Ips sexdentatus*, *Ips cemrae* (Fytofarm, s. r. o.). V zahraničí sú v ponuke feromóny aj pre ďalšie druhy u nás sa vyskytujúce: *Polygraphus poligraphus*, *Tomicus piniperda*, *Tomicus minor*, *Pityokteines curvidens*, *Platypus cylindrus*, *Xyloterus domesticus* (Witasek, GmbH).

K infekcii hostiteľa patogénom dochádza jeho priamym kontaktom s patogénom v upravených zariadeniach, z ktorých infikované jedince putujú späť do prostredia. Tieto zariadenia sú vlastne upravené zberné nádoby lapačov, ktoré sa bežne využívajú v lesníckej praxi (obr. 1 – 4). Na tento účel je možné využiť nárazové štrbinové typy lapačov (Theysohn, Multiwit BK, Ridex) alebo menej často aj bariérové typy (Ecotrap). Úpravou zbernej nádoby je zabezpečený najmä nútený kontakt odchytených lykožrútov s patogénom, odvedenie zrážkovej vody tak, aby sa nedostala do kontaktu s patogénom a v neposlednom rade únik infikovaných jedincov späť do prostredia. Okrem týchto základných úprav sa úpravou sleduje aj zníženie extrémnych teplôt, zjednodušenie aplikácie prípravku, atď. Tým, že sa biologický prípravok aplikuje v lapačoch priamo len na cieľový druh, dochádza k jeho lepšiemu využitiu a minimálnym stratám, čo je pri ich súčasných cenách nezanedbateľná výhoda.



Obrázok 1. Upravená zberná nádoba lapača Multiwit BK s odtokovým kanálom



Obrázok 2. Inokulačná vložka s Boverolom v zbernej nádobe lapača Multiwit BK



Obrázok 3. Upravená zberná nádoba lapača Theysohn (OZ Námestovo)



Obrázok 4. Nosič s aplikovaným prípravkom Boveril a výletový otvor (OZ Námestovo)

## Aplikácia entomopatogénnych húb do populácie lykožrúta smrekového

Ako modelový príklad možnej aplikácie entomopatogénov do populácie škodcov možno uviesť lykožrúta smrekového (*Ips typographus*) a patogénnu hubu *Beauveria bassiana* obsiahnutú v prípravku Boverol. Tento spôsob aplikácie sme testovali počas trojročného experimentu (2009 – 2011) na území Vojenských lesov a majetkov SR, š. p., polesie Sklené. Na tomto území došlo ku kalamitnému premnoženiu podkôrneho hmyzu od roku 2006 po snehových a vetrových kalamitách.

Použité boli trojité zostavy feromónových lapačov Multiwit BK (tzv. hviezdice) navrhované odparníkom IT Eco-lure Extra (obr. 5). Použitý bol jeden odparník do jednej trojitej lapačovej zostavy, ktorý bol umiestnený v strede. Zostavy boli postavené striedavo vo vzdialenosti 20 – 25 metrov od porastovej steny dlhej 350 metrov, s rozstupom medzi jednotlivými zostavami 30 metrov. Použitých bolo spolu 15 lapačov Multiwit BK (5 zostáv hviezdica) a ďalších 18 lapačov Ecotrap (6 zostáv trio). Zostavy Ecotrap neboli infikované, slúžili výhradne na odchyt lykožrúta smrekového.



Obrázok 5. Trojitá zostava lapačov Multiwit BK hviezdica

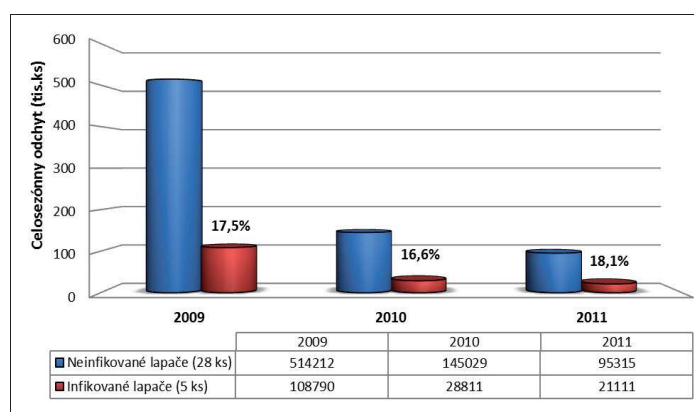


Obrázok 6. Imága lykožrúta smrekového porastené mycéliom huby *Beauveria bassiana*

Vždy jeden z lapačov Multiwit BK v zostave hviezdička slúžil ako zdroj inokula – inokulačné zariadenie, mal špeciálne upravenú zbernú nádobu umožňujúcu návrat infikovaných lykožrútov späť do lokality (obr. 1, 2). Lapače Multiwit BK sú novým typom štrbinových lapačov, ktoré majú upravenú zbernú nádobu tak, aby bola zrážková voda odvádzaná a neprichádzala do kontaktu s inokulačnou vložkou. Toto je zabezpečené odtokovým kanálom, s dvoma postrannými otvormi. Ako inokulátor bola použitá vývojová inokulačná vložka firmy Fytofarm, v ktorej bol preparát Boverol nanesený na podložke o rozmeroch 22 × 5cm zhotovenej z hydrofóbnej plsti netkanej textílie. Kompaktná vložka bola výrobcom vzduchotesne zatavená a pripravená na bežnú manipuláciu. Pri aplikácii sa vložka po nastrihnutí obalu vybrala a vložila do upravenej zbernej nádoby lapača Multiwit BK. Vložku sme podľa potreby, spravidla po 2 až 4 týždňoch, nahradili novou.

Časť lykožrútov, ktoré prešli po inokulačnej vložke bola v laboratóriu chovaná v Petriho miskách, na čerstvej smrekovej kôre. Následne bola na nich sledovaná po 5-tich dňoch mortalita a prítomnosť huby (mycélia) na povrchu tela.

V priebehu trvania trojročného experimentu bolo odchytených do 33 lapačov zostavených do trojitých zostáv 913 tis. lykožrútov smrekových, z ktorých sa vrátilo späť do prostredia 159 tis. lykožrútov, čo predstavuje priemerne 17,4 % (obr. 7). Lykožrúty, ktoré sa vrátili späť do prostredia boli v kontakte s Boverolom pri prechode po inokulačnej vložke, časť z nich bola úspešne infikovaná a časom v dôsledku rozvoja ochorenia uhynula. Malá časť lykožrútov sa zadusila pri prechode po inokulačnej vložke, jemný prášok im upchal dýchacie otvory.



Obrázok 7. Celosezónne odchyty lykožrúta smrekového na výskumnej lokalite Sklené počas trojročného experimentu

Podľa laboratórnych zistení predstavovala mortalita lykožrútov 5. deň po kontakte s Boverolom v priemere 75 % a mycélium sa objavilo na telách lykožrútov u 23 %. To znamená, že za celé trojročné obdobie trvania experimentu opustilo infikované lapače a následne uhynulo 119 tis. lykožrútov a z tohto počtu bolo infikovaných hubou 37 tis. lykožrútov (12 tis. za rok). V praxi by to malo znamenať, že táto časť už nepredstavuje potenciálne riziko z hľadiska ďalšieho rozvoja populácie. Zo zistenia, že u časti odchytených a kontaminovaných jedincov sa nepotvrdil rozvoj infekcie, možno predpokladať, že proces infikovania a rozvoja infekcie môžu ovplyvňovať viaceré faktory, napr. fyziologický stav inokula, vplyvy ako je teplota a vlhkosť v inokulačnom zariadení ako aj ďalšie vonkajšie vplyvy prostredia. Najmä vysoká teplota, ktorá predstavovala v najteplejších mesiacoch aj napriek úpravám lapača hodnoty viac ako 45 °C bola pravdepodobne limitujúcim faktorom účinnosti. Prenos infekcie na potomstvo nebol potvrdený. Tento poznatok naznačil, že nákaza sa v populácii zatiaľ nedokáže vertikálne rozširovať.

Vo veľkej časti populácie, ktorá mala byť hubou kontaminovaná, sa nám nepodarilo dokázať rozvoj a prítomnosť patogéna. Prístup založený na návrate celej populácie, t. j. populácie odchytenej pomocou feromónovej metódy, kontaminovanej patogénom a potom jednoducho vrátenej do lokality, by mohol viesť k väčším rizikám ako úžitku. Z tohto dôvodu je potrebné pristupovať k tejto metóde opatrne, infikovať menší počet lapačov a dobre si zvážiť možné riziká. Nevyhnutnosťou je inštalovať na danej lokalite viacero uzavretých lapačov, aby sa minimalizovalo riziko naletenia lykožrútov na porastové steny. Doterajší rozsah terénnych pokusov však naznačuje perspektívu predloženej alternatívy, a to aj pri použití iných biologických prípravkov. Podiel kontaminovaných lykožrútov sa dá jednoduchým opatrením upraviť (napr. zdvojnásobením počtu infikovaných lapačov). Okrem iného, závisí aj od toho, ako často sa v zostavách lapačov opakuje infikovaný lapač.

Najdôležitejším výsledkom všetkých vykonaných opatrení v lokalite je skutočnosť, že sa po 3 sezónach dostala populácia lykožrúta na základnú úroveň. Je potrebné zdôrazniť, že samotná lesnícka prevádzka mala prominentný záujem na rýchлом zastavení kalamity, asanačné ťažby vykonávala včas a dôsledne. Aj keď nevieme kvantifikovať

skutočnú účinnosť jednotlivých opatrení, každé z týchto opatrení významne prispelo k zníženiu až zastaveniu kalamity.

Aj keď sa nám nepodarilo dokázať majoritný vplyv *Beauverie bassiana* obsiahnutej v Boverole na zníženie populácie alebo presne zistiť skutočný podiel na výslednom priaznivom stave, podarilo sa nám kombináciou použitých metód zastaviť kalamitu. Zistili sme mnoho nových poznatkov o využití zostáv lapačov, konkrétne aj nové poznatky o nových lapačoch Multiwit BK. Popri výhodách sme našli aj niektoré nevýhody, ktorých odstránením sa zvýši ich praktická funkčnosť.

## Podakovanie

Tento článok vznikol vďaka podpore v rámci OP Výskum a vývoj pre projekt Centrum excelentnosti: Progresívne technológie ochrany lesných drevín juvenilných rastových štádií“ (ITMS: 26220220120) spolufinancovaný z zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

## Literatúra

- DRAGANOVA, S., A., TAKOV, D., I., DOYCHEV, D., D., 2010: Naturally-Occurring Entomopathogenic Fungi on Three Bark Beetle Species (Coleoptera: Curculionidae) in Bulgaria, *Pestic. Phytomed.* (Belgrade), 25(1): 59-63.
- EIDMANN, H. H., 1992. Impact of bark beetles on forest and forestry in Sweden.- *J. Appl. Entomol.* 114, 2: 193-200.
- WEGENSTEINER, R., WEISER, J., FUHRER, E., 1996. Observations on the occurrence of pathogens in the bark beetle *Ips typographus* L. (Col., Scolytidae).- *J. Appl. Ent.*, 120: 199-204.
- ZÚBRIK, M., KUNCA, A., NOVOTNÝ, J. VARINSKY, J. VAKULA, J., 2008: Entomopatogény podkôrneho hmyzu a možnosti ich použitia v biologickej ochrane lesa. In: *Aktuálne problémy v ochrane lesa 2008*, Zborník referátov z medzinárodnej konferencie, ktorá sa konala 17. – 18. apríla 2008 v Novom Smokovci, Zvolen : NLC, s. 67-77.