

MAJÚ ENTOMOPATOGÉNNÉ HUBY POTENCIÁL KONTROLOVAŤ POPULÁCIU TVRDOŇA SMREKOVÉHO V LESNÝCH EKOSYSTÉMOCH?

Juraj Galko • Slavomír Rell • Marek Barta • Andrej Kunca • Michal Lalík

Úvod

Hmyz má v prírodnom prostredí množstvo druhov patogénov, ktoré sa vzájomne evolučne ovplyvňovali a prispôbovali. Nazývame ich entomopatogénne organizmy, kam zaraďujeme najmä entomopatogénny hmyz (predátory, parazitoidy atď.), entomopatogénne huby a háďatká. O potenciálnom využití týchto organizmov v ochrane rastlín a lesa hovorí množstvo vedeckých prác. Ako príklad výsledkov výskumu v tejto oblasti biologickej ochrany rastlín, prepojený s praxou možno uviesť využitie týchto organizmov v skleníkoch na potlačenie a kontrolu cieľových druhov škodcov. Dajú sa však uvedené organizmy množiť, regulovať a použiť aj prírodnom prostredí lesných ekosystémov? To je veľmi ťažká otázka, ktorá si už vyžadovala a bude vyžadovať obrovské úsilie vedeckých tímov.

V uvedenom príspevku sa zaoberáme infekciou a priebehom mortality imág tvrdoňa smrekového infikovaných prípravkami s obsahom spór entomopatogénnych húb. Tejto otázke sa dosiaľ v Európe nevenovala veľká pozornosť, nakoľko bolo publikovaných len pár vedeckých príspevkov.

Na Stredisku lesníckej ochrany služby (LOS) testujeme tieto huby už niekoľko rokov a v ďalšom texte rozoberáme čiastkové výsledky posledného experimentu založeného v roku 2015. Boli stanovené nasledovné ciele experimentu:

- zistiť, porovnať a vyhodnotiť účinnosť rôznych kmeňov entomopatogénnej huby *Beauveria bassiana* na imága tvrdoňa smrekového v laboratórnych podmienkach,
- navrhnúť ďalšie smerovanie výskumu.

Metodika experimentu

V roku 2015 sme pokračovali v laboratórnom testovaní entomopatogénnych húb, ako jednej z možností biologického boja na infekciu imág tvrdoňa smrekového. V poradí bol založený VIII. experiment (Obrázok 1).



Obrázok 1. Pri zakladaní pokusu s entomopatogénnymi hubami nám pomáhali aj zahraničné študentky z medzinárodnej organizácie IASTE, ktoré boli na LOS na stáži (zľava Agathoklea Neofytou – Cyprus, Larissa Fly – Rakúsko, Slavomír Rell – LOS)

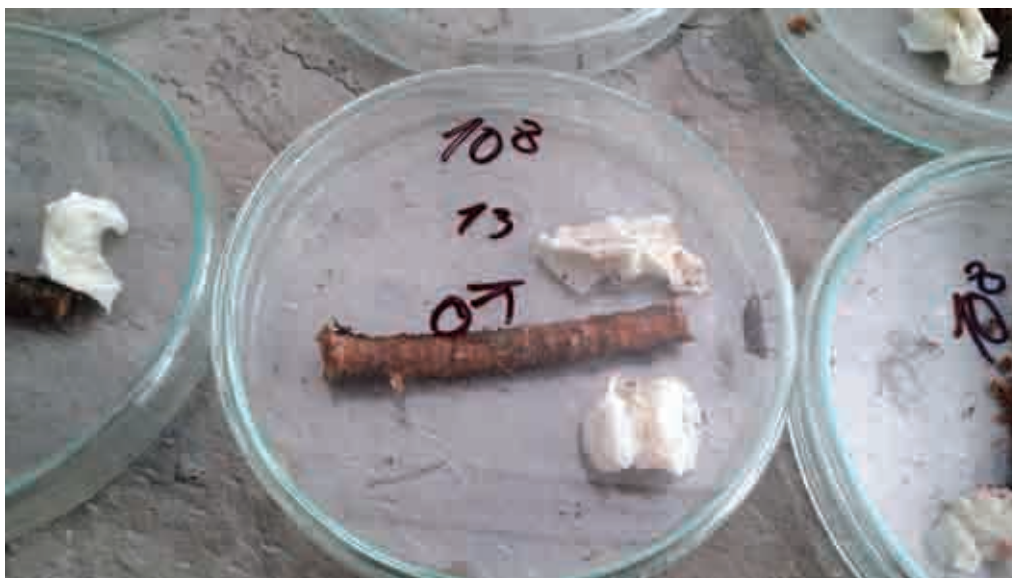
V tomto experimente bolo použitých 270 imág tvrdoňov smrekových rozdelených podľa pohlavia v pomere 1 : 1 (samec, ♂ : samica, ♀). Pred začiatkom každého experimentu boli imága umiestnené do podmienok s laboratórnou teplotou na aklimatizáciu niekoľko dní.

Na začiatku pokusu (10. 7. 2015) boli všetky imága tvrdoňa smrekového infikované roztokom (suspenziou), ktorý obsahoval spóry entomopatogénnych húb. Boli použité dva rôzne kmene entomopatogénnej huby *Beauveria bassiana*. Prvý kmeň (A) sme izolovali na LOS z uhynutého imága tvrdoňa smrekového pred niekoľkými rokmi. Druhý kmeň (B) tejto huby obsahuje komerčný prípravok BoVerol. Boli použité rôzne koncentrácie (Tabuľka 1).

Tabuľka 1. Dizajn pokusu infekcie imág tvrdoňa smrekového entomopatogénnymi hubami

Označenie	Variant a koncentrácia suspenzie	Ošetrované jedince podľa pohlavia a spolu	
K	Kontrola	15 ♂ + 15 ♀	30
A	<i>B. bassiana</i> , 10 ⁵	15 ♂ + 15 ♀	30
	<i>B. bassiana</i> , 10 ⁶	15 ♂ + 15 ♀	30
	<i>B. bassiana</i> , 10 ⁷	15 ♂ + 15 ♀	30
	<i>B. bassiana</i> , 10 ⁸	15 ♂ + 15 ♀	30
B	BoVerol, 10 ⁵	15 ♂ + 15 ♀	30
	BoVerol, 10 ⁶	15 ♂ + 15 ♀	30
	BoVerol, 10 ⁷	15 ♂ + 15 ♀	30
	BoVerol, 10 ⁸	15 ♂ + 15 ♀	30
Za celý experiment v roku 2015		135 ♂ + 135 ♀	270

Po infikovaní suspenziou obsahujúcou rôznu koncentráciu entomopatogénnej huby bolo každé imágo vložené do samostatnej Petriho misky spolu s potravou (Obrázok 2). V pravidelných intervaloch (10 – 14 dní) bola potrava (borovicový konárik) vymieňaná a bol zmeraný jeho povrch, ako aj zožratá plocha v mm².



Obrázok 2. Detail imága tvrdoňa smrekového v Petriho miske s potravou

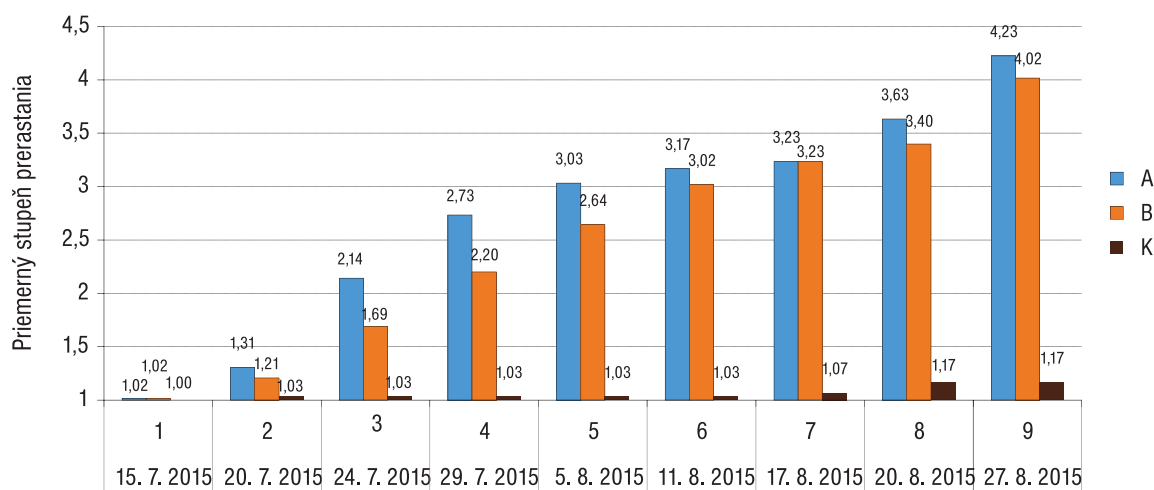
Infikované imága postupne prerastajú hýfami tejto huby v závislosti od použitej koncentrácie. Prerastanie imág sme hodnotili v pravidelných intervaloch (4 – 5 dní) podľa stupňov prerastania entomopatogénnymi hubami (Tabuľka 2). Celkovo bolo vykonaných 9 hodnotení počas priebehu pokusu.

Tabuľka 2. Stupnica hodnotenia prerastania imág tvrdoňa smrekového

Stupeň prerastania	Stav
1	živé imágo
2	mŕtve imágo, bez prerastania hubou
3	mŕtve imágo, prerastené do 1/3 povrchu tela
4	mŕtve imágo, prerastené do 2/3 povrchu tela
5	mŕtve imágo, prerastené nad 2/3 povrchu tela

Vyhodnotenie prerastania imág tvrdoňa smrekového entomopatogénnymi hubami

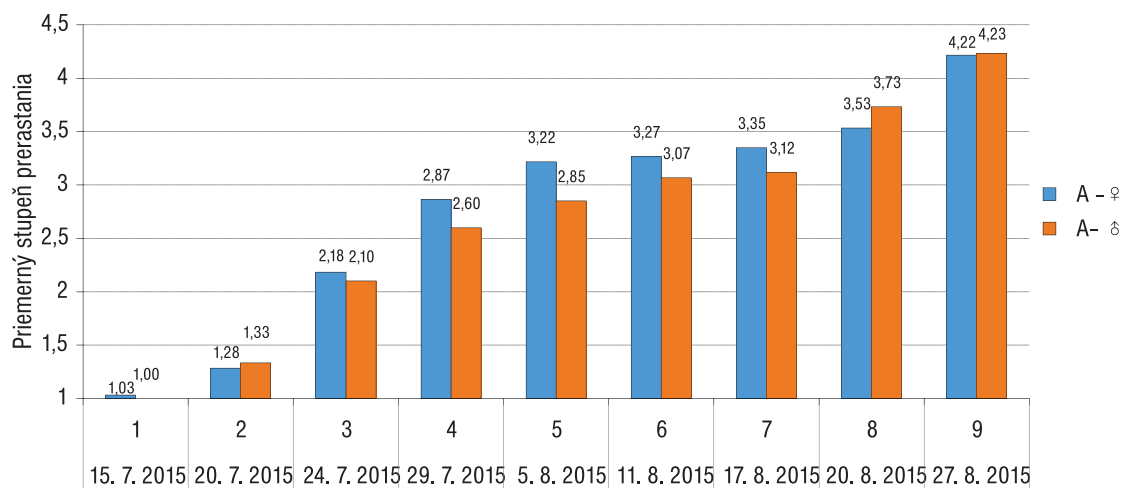
Priebeh nárastu priemerného stupňa prerastania imág infikovaných tvrdoňov smrekových testovanými kmeňmi huby *Beauveria bassiana* bez ohľadu na pohlavie imág a koncentráciu spór v suspenzii je zachytený na obrázku 3. Môžeme vidieť, že pri prvej kontrole (5 dní od infekcie) ešte nedošlo k úhynu takmer žiadnych imág. Od druhej kontroly (10 dní od infekcie) už dochádza k výraznému nárastu mortality imág, pričom imága infikované kmeňom A, najmä zo začiatku, lepšie a rýchlejšie prerastali. Na konci pokusu (48 dní od infekcie) prežilo len 5 % zo všetkých infikovaných imág tvrdoňov a v neošetrenej kontrole prežilo 93,9 % imág. Z týchto výsledkov teda vyplýva, že kmeň huby A, ktorý sme pomerne náhodne izolovali na Stredisku LOS sa zdá byť agresívnejší ako kmeň huby B, čo je v podstate komerčný prípravok s obsahom týchto spór.



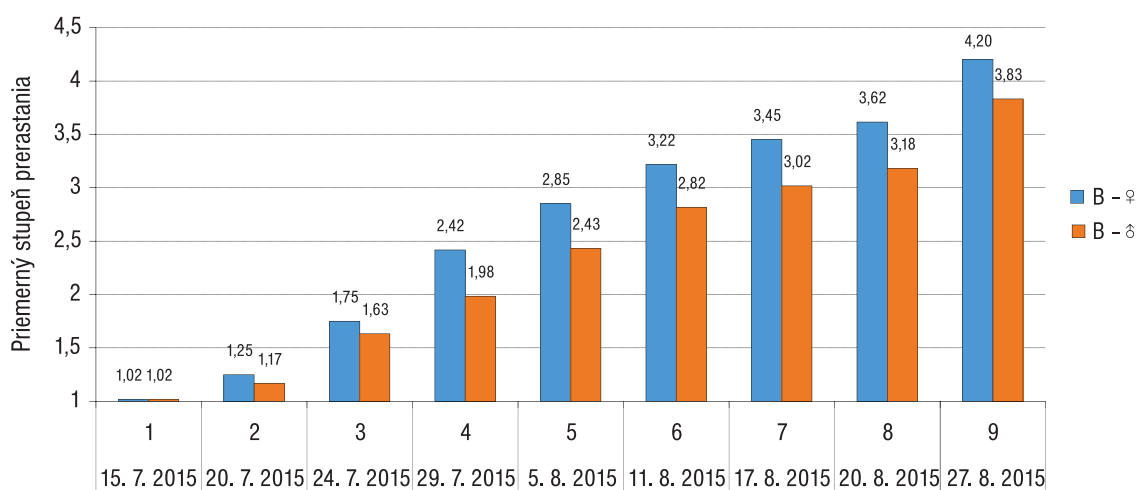
Obrázok 3. Priebeh nárastu priemerného stupňa prerastania imág infikovaných tvrdoňov smrekových testovanými kmeňmi huby *Beauveria bassiana*

Priebeh nárastu priemerného stupňa prerastania imág tvrdoňa smrekového rozdelených podľa pohlavia použitým kmeňom huby A je zachytený na obrázku 4 a huby B na obrázku 5. Výsledné hodnoty v uvedených obrázkoch sú priemerné hodnoty bez ohľadu na koncentráciu spór použitých húb v suspenzii. Z výsledkov jasne vyplýva, že samice boli počas tohto pokusu viac náchylné na prerastenie hubou a prerastali aj rýchlejšie. Považujeme to za nové zistenie, ktoré treba štatisticky overiť v pripravovanej vedeckej publikácii.

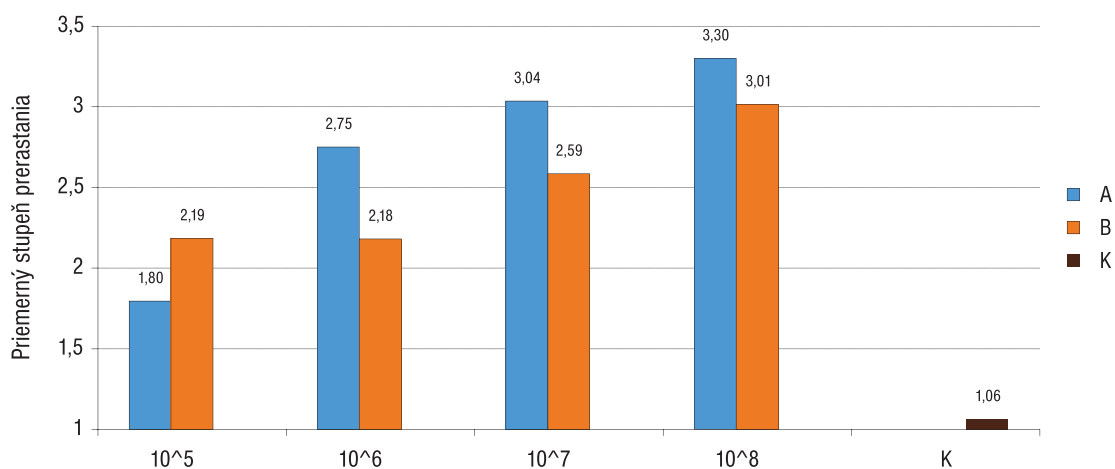
Priemerný stupeň prerastania imág tvrdoňa smrekového za celé sledované obdobie podľa použitej koncentrácie za oba druhy testovaných kmeňov a kontrolu (bez ohľadu na pohlavie) je zachytený na obrázku 6. V koncentrácií 10^5 dosiahol lepšie výsledky komerčný kmeň huby B, avšak v koncentráciách 10^6 , 10^7 a 10^8 dosiahol lepšie priemerné hodnoty nekomerčný kmeň huby A, pričom so stúpajúcou koncentráciou, podľa očakávania, priemerná účinnosť oboch kmeňov húb stúpala. Vo všeobecnosti môžeme teda povedať, že so stúpajúcou koncentráciou spór húb v suspenzii, v ktorej boli ošetrené, stúpa aj mortalita ošetrených imág, t. j. účinnosť ošetrovania.



Obrázok 4. Priebek nárastu priemerného stupňa prerastania imág infikovaných tvrdoňov smrekových testovaným kmeňom A rozdelený podľa pohlavia



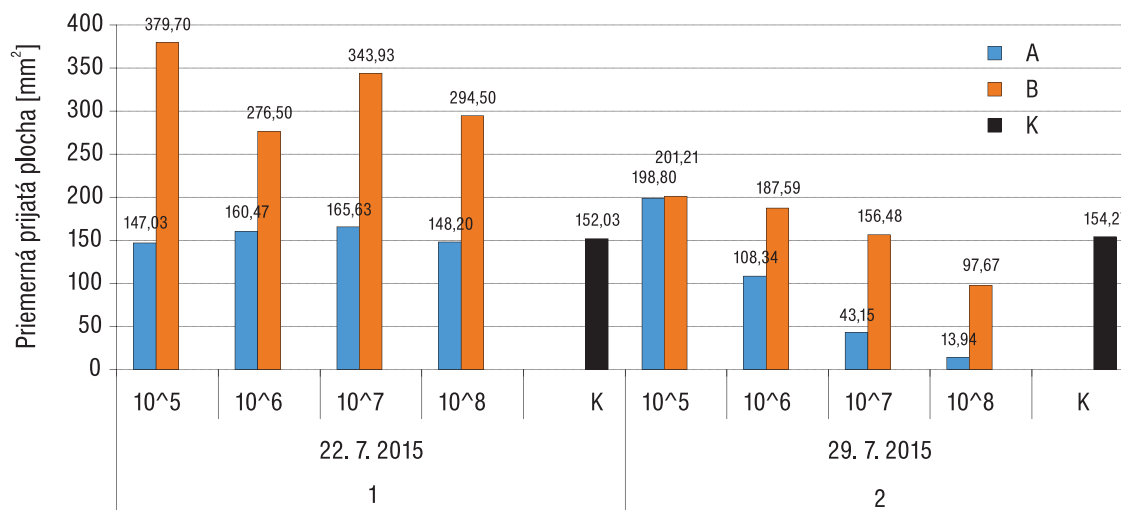
Obrázok 5. Priebek nárastu priemerného stupňa prerastania imág infikovaných tvrdoňov smrekových testovaným kmeňom B rozdelený podľa pohlavia.



Obrázok 6. Priemerný stupeň prerastania imág tvrdoňa smrekového za celé sledované obdobie podľa použitej koncentrácie za oba druhy testovaných kmeňov a kontrolu (bez ohľadu na pohlavie)

Vyhodnotenie prijatej potravy

Vyhodnotenie priemerného množstva prijatej plochy potravy (mm^2) imágami tvrdoňa smrekového v závislosti od infekcie použitých kmeňov húb a koncentrácie za obe pohlavia spolu je znázornené na obrázku 7. Pri prvom hodnotení vzoriek potravy imága infikované kmeňom B prijali viac ako dvojnásobok potravy (priemerne $323,6 \text{ mm}^2$) oproti imágam infikovaným kmeňom A (priemerne $155,3 \text{ mm}^2$), resp. kontrole ($152,0 \text{ mm}^2$). Je to nové a prekvapivé zistenie, nakoľko sa potvrdilo rôzne správanie infikovaných imág tvrdoňa smrekového rôznymi kmeňmi tej istej entomopatogénnej huby.



Obrázok 7. Priemerná prijatá plocha potravy (mm^2) imágami tvrdoňa smrekového v závislosti od použitých kmeňov húb a koncentrácie (obe pohlavia spolu)

Navyše môžeme to pozorovať pri všetkých použitých koncentráciách počas prvého hodnotenia prijatej potravy. Počas druhého hodnotenia bolo už oslabenie imág entomopatogénnou hubou veľmi znateľné v závislosti od použitej koncentrácie, napriek tomu imága infikované kmeňom B stále prijímali výrazne viac potravy ako imága infikované kmeňom A. Kontrolné imága počas prvého a druhého hodnotenia priemerne prijali takmer rovnaké množstvo potravy.

Zhrnutie výsledkov

V príspevku sme zhrnuli výsledky posledného experimentu s vyhodnotením potenciálu entomopatogénnych húb na kontrolu populácie tvrdoňa smrekového. Výsledky možno zhrnúť nasledujúco:

- v laboratórnych podmienkach sme potvrdili účinnosť entomopatogénnych húb na imága tvrdoňa smrekového ako potenciálnu formu biologickej ochrany,
- náš získaný kmeň huby *B. bassiana* počas riešenia tohto projektu dosiahol lepšie výsledky ako komerčne vyrábané prípravky na báze tejto huby,
- riešenie experimentu prinieslo nové poznatky do vzťahu patogén vs. hostiteľ v tejto málo preskúmanej oblasti,
- otázkou ostáva prenos týchto poznatkov a úspešná aplikácia tejto biologickej technológie v lesníckej praxi, čo si bude vyžadovať ďalší viacročný výskum.

Výsledky zo všetkých našich pokusov v tejto oblasti budú publikované vo vedeckej publikácii. Počas niekoľkých rokov nášho výskumu sme zistili veľký potenciál najmä entomopatogénnej huby *B. bassiana*, najmä „nášho“ nového kmeňa z prírodného prostredia, ktorý dosiahol lepšie výsledky ako komerčné prípravky s obsahom tejto huby.

Náš ďalší výskum v tejto oblasti bude smerovať k odpovedi na otázku: Akým spôsobom môžeme bezpečne infikovať imága tvrdoňa smrekového týmito hubami v prírodnom prostredí? Účinný kmeň entomopatogénnej huby už máme.

Pod'akovanie

Táto práca vznikla vďaka výskumnému projektu „Výskum efektívneho využívania environmentálneho, ekonomického a sociálneho potenciálu lesov na Slovensku II“, financovaného z prostriedkov štátneho rozpočtu cez kontrakt medzi MPRV SR a NLC z rozpočtovej kapitoly MPRV SR (prvok 08V0301) a spolufinancovaného podnikom Lesy SR, š. p., (75 %) a vďaka finančnej podpore v rámci operačného programu Výskum a vývoj pre projekt „Progresívne technológie ochrany lesných drevín juvenilných rastových štádií“ (ITMS: 26220220120) (25 %). Ďalej bola táto práca podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-0707-12.

Ing. Juraj Galko, PhD., Ing. Slavomír Rell, Ing. Andrej Kunca, PhD.

Národné lesnícke centrum - Lesnícky výskumný ústav Zvolen, Lesnícka ochrannárska služba, Lesnícka 11, 969 01 Banská Štiavnica, e-mail: galko@nlcsk.org

Ing. Marek Barta, PhD.

Arborétum Mlyňany SAV, Vieska nad Žitavou 178, 951 52 Slepčany, e-mail: marek.barta@savba.sk

Ing. Michal Lalík

Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýčká 129, 165 21 Praha 6 – Suchbátka, e-mail: lalik@fld.czu.cz