

ENTOMOPATOGÉNNÁ HUBA *ENTOMOPHAGA MAIMAIGA* A JEJ POTENCIÁL PRE VYUŽITIE V BIOLOGICKOM BOJI PROTI MNÍŠKE VEĽKOHlavej

Ivan Špilda • Milan Zúbrik • Andrej Kunca • Daniela Pilarska • Marek Barta • Christo Nikolov
Slavomír Rell • Juraj Galko • Roman Leontovýč • Andrej Gubka • Jozef Vakula

Mníška veľkohlavá je jedným z hlavných škodcov našich lesov. Pravidelne sa premnožuje a spôsobuje defoliácie v listnatých porastoch (najmä dubín a topolín). Defoliácie sú obyčajne sprevádzané zvýšeným výskytom druhotných škodcov a následným chradnutím porastov. V roku 2013 bol v populácii mníšky veľkohlavej zistená na dvoch miestach Slovenska nepôvodná huba *Entomophaga maimaiga* (Zúbrik et al. 2013). Tento druh huby (pôvodne z Ázie) napáda húsenice mníšky veľkohlavej. Huba *E. maimaiga* má veľké predpoklady pre využitie v biologickom boji proti mníške veľkohlavej. Existuje reálny predpoklad, že táto huba by mohla v budúcnosti výrazným spôsobom ovplyvniť mníšku veľkohlavú a na niektorých miestach by mohla podstatne znížiť riziko vzniku gradácií škodcu.

Mníška veľkohlavá

Mníška veľkohlavá *Lymantria dispar* [L] je náš najvýznamnejší defoliátor dubín. Patrí medzi mníškovité, ktoré majú na Slovensku približne 16 – 17 zástupcov. U nás škodca žije najmä v dubových a dubovo hrabových porastoch na juhozápadnom a južnom Slovensku, ako aj na Východoslovenskej nížine. Naším územím prechádza severná hranica pravidelných gradácií. Ďalej na sever sú gradácie lokálne a vyskytujú sa v intervale 20 – 30 rokov. Najviac mu vyhovujú teplé, redšie porasty duba cerového (*Quercus cerris* L.). Húsenice sa môžu vyvíjať aj na iných drevinách.

Gradácie na Slovensku zaznamenávame pravidelne. V tomto storočí došlo k viacerým premnoženiam, pričom gradácia v roku 2004-2006 bola najsilnejšia za posledných viac ako 50 rokov. Škodca silne poškodil dubiny a topoľové porasty v okolí Nitry, Levíc, Čifár, Palárikova, Pezinka, Trebišova a na mnohých ďalších miestach.

Žer sa na drevinách objavuje koncom mája a intenzita žeru vrcholí koncom júna. Väčšina drevín reaguje na stratu olistenia tým, že ešte do jesene znovu vypučí a nasadí nové listy. Jednoročný žer obyčajne nemá výraznejšie vedľajšie následky. Pri viac rokov sa opakujúcim poškodení (v kombinácii s extrémami počasia) dochádza k zníženiu odolnosti stromov. Tie sú potom napádané sekundárnymi ochoreniami ako napr. múčnatkou dubovou, tracheomykóznymi ochoreniami či podkôrnikom dubovým. Hynutie stromov sa dostavuje obyčajne jeden až dva roky po gradácii.

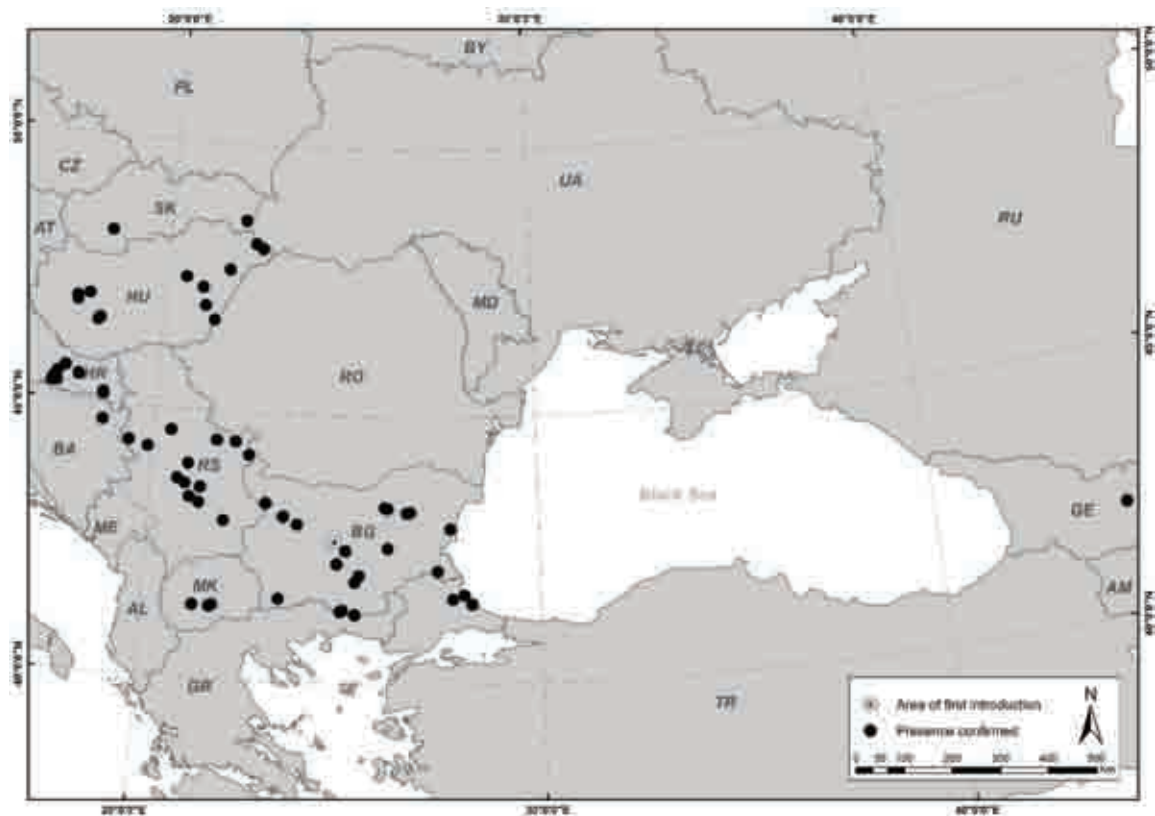
Entomophaga maimaiga

E. maimaiga je vysoko virulentný, hubový patogén, ktorý patrí do druhového komplexu *Entomophaga aulicae*. Na základe biochemickej analýzy bola *Entomophaga maimaiga* identifikovaná ako samostatný druh. Jej veľký potenciál pre požitie v bioregulácii mníšky veľkohlavej vychádza najmä zo skutočnosti, že je hostiteľsky veľmi špecifická a ako svojho hostiteľa dokáže využívať takmer výlučne len mníšku veľkohlavú. *E. maimaiga* bola opísaná a izolovaná ako prirodzený nepriateľ mníšky veľkohlavej v centrálnej oblasti ostrova Honšú v Japonsku. Prirodzený areál rozšírenia tohto druhu zahŕňa Japonsko, Tichomorskú oblasť Číny, Južnú Kóreu, ďaleký východ Ruska a pravdepodobne Indiu.

Šírenie v Európe

Nedávne výskumy naznačujú, že *E. maimaiga* sa rýchlo šíri aj v Európe. Zdá sa veľmi pravdepodobné, že sa šíri z Bulharska, kde bola prvýkrát úspešne umelo introdukovaná v roku 1999 (Pilarska et al. 2000). Huba bola importovaná z USA a následne sa do prírody vysadili mŕtve húsenice *L. dispar* obsahujúce azygospóry. V rokoch 2000 a 2011, bola *E. maimaiga* dodatočne introdukovaná do niekoľkých ďalších populácií *L. dispar* v Bulharsku a dnes sa tam považuje za udomácnenu (Hajek et al. 2005).

V roku 2011 bola *E. maimaiga* zistená v Turecku a v Srbsku (Georgiev et al. 2012; Tabaković-Tošić et al. 2012). V roku 2012 bola huba nájdená v Grécku a v Macedónsku (Georgieva et al. 2013). V roku 2013 bola huba zistená aj na Slovensku a to v oblasti Čífar pri Leviciach a v Ortove pri Veľkých Kapušanoch (Zúbrik et al. 2014). Obe slovenské lokality, kde bola *E. maimaiga* zistená, sú vzdialené asi 450 km severozápadne od Boracki Gaj, Srbsko, v tom čase najsevernejšieho miesta výskytu huby v Európe. Výskyt huby v roku 2013 potvrdili aj v ďalších krajinách, v Maďarsku a Chorvátsku (Csóka et al. 2014; Hrašovec et al. 2013).



Obrázok 1. Mapa výskytu *E. maimaiga* na základe doteraz publikovaných údajov v Európe. Tmavé body predstavujú miesta, kde bola huba zistená, prázdny krúžok označuje miesto prvej introdukcie druhu do Európy (Tabaković-Tošić et al. 2012; Georgieva et al. 2013; Georgiev et al. 2012; Zúbrik et al. 2014; Csóka et al. 2014; Hrašovec et al. 2013; Milotić et al. 2015; Kereselidze et al. 2011)

Bionómia

E. maimaiga produkuje dva druhy spór, konídiá a azygospóry. Konídiá sú produkované „externe“ na telách mŕtvych húseníc. Azygospóry sú produkované „interne“ v telách mŕtvych húseníc. Húsenice môžu byť infikované buď konídiami produkovanými z kľúčiacich azygospór, alebo konídiami produkovanými na telách už uhynutých lariev. Keď sa húsenica prvého alebo druhého instaru nakazí konídiami z azygospór, následne sa na jej tele po uhynutí objavia konídiá, ktoré sa potom voľne šíria do okolia. Na následné šírenie konídií z hostiteľa vplýva viacero faktorov a to najmä teplota a vlhkosť prostredia. Keď sa konídiá z mŕtvej húsenice dostanú na inú (staršiu) húsenicu infikujú ju a v jej mŕtvom tele sa vytvoria azygospóry, ktoré následne prezimujú v pôde.

V máji a júni vyklíčia a začínajú produkovať lepkavé spóry na konci stoniek, ktoré rastú tesne nad povrchom pôdy. Húsenice mnišky veľkohlavej sa v počiatočnom štádiu prenášajú vetrom a tak sa dostanú aj na zem. Takýmto spôsobom sa infikujú. Prípadne staršie štádiá sa dostanú na zem za potravou alebo pri tom ako využijú hrabanku ako úkryt pred spaľujúcim slnkom. Spóry sa postupne dostanú do tela húsenice, kde rastú. Do jedného týždňa húsenica hynie. Konídiá (produkované na začiatku sezóny a v mladších instaroch) majú spravidla krátku životnosť a sú produkované na povrchu mŕtvych, infikovaných tiel húseníc mnišky veľkohlavej v mladších štádiách vývoja. Takto produkované konídiá sú prenášané vetrom a môžu okamžite preniesť infekciu na zdravé húsenice hostiteľa. Cyklus produkcie týchto konídií môže počas leta prebehnúť 4- až 9-krát. Keď sa huba dostane do veľkej, dospeléj húsenice (4 instar), začne produkovať azygospóry. Azygospóry (produkované na konci sezóny a starších instaroch) veľmi rýchlo z tela mŕtvej húsenice

odpadnú (alebo sú vylúhované) na zem a prečkajú zimu ako spiace spóry v pôde. A cyklus sa opakuje. Životný cyklus patogéna je dobre zosynchronizovaný s vývojom mnišky veľkohlavej (Hajek 1999).

Vpýv na necieľové organizmy

V prírode ale aj v laboratóriu sa zistilo, že *E. maimaiga* je úzko naviazaný patogén pre mnišku veľkohlavú a pre ostatné druhy škodcov nie je nebezpečný. Toto zistenie je dôležité aj z toho pohľadu, že entomofauna dubových lesov Európy je veľmi bohatá, pričom sú zastúpené mnohé vzácne a endemické druhy.

V Bulharsku bolo v rokoch 2009–2011 pozbieraných z lesného prostredia 1 499 ks necieľových druhov motýľov, ktoré patrili do 38 druhov a 10 čeladií motýľov. Analýza mŕtvych lariev nepreukázala prítomnosť konídií ani azygospór *E. maimaiga* v žiadnom z nich. Tieto výsledky potvrdzujú, že *E. maimaiga* má pomerne úzke spektrum hostiteľov. Výrazný negatívny efekt tejto huby na domácu entomofaunu sa neočakáva. To tiež vytvára predpoklad pre úspešné použitie tejto huby v biologickom boji proti mniške veľkohlavej.

Vplyv na populáciu mnišky veľkohlavej

Do akej miery vplýva na populáciu mnišky veľkohlavej *E. maimaiga*? Vzhľadom na množstvo prírodných nepriateľov a abiotické podmienky prostredia je ťažké určiť presný vplyv tohto patogéna. V jednom prípade, po epidémii spôsobenej *E. maimaiga* v populácii mnišky veľkohlavej sa neobjavili znášky vajíčok, hoci je bežnejšie, že sa po takejto epidémii len zníži populácia oproti populácii pred epidémiou.

V súčasnosti, v severnej Amerike, kde je mniška veľkohlavá už „udomácnený“ druh, *E. maimaiga* spôsobila náhly pokles v populácii mnišky veľkohlavej do takej miery, že sa vyskytuje v neškodnej hustote. Skutočnosť je taká, že od roku 1989, kedy sa *E. maimaiga* vyskytla na tomto území, práve jej sa pripisuje najväčší pokles populácie mnišky veľkohlavej. Rovnaké výsledky potvrdzuje aj Bulharsko, kde výmera poškodených dubových porastov po introdukcii *E. maimaiga* klesla na 1/10 oproti výmerám, ktoré boli poškodzované v časoch pred nasadením tohto patogéna (Georgiev et al. 2013). Čo je pre mnišku veľkohlavú typické, je periodicita gradácii, a to aj na území Európy. *E. maimaiga* môže spôsobiť zmeny v tejto periodicite a to tak, že zníži početnosť populácie škodcu v čase gradácie všade tam, kde sa bude vyskytovať.

Rozšírenie huby *E. maimaiga* na Slovensku

Výskumné plochy

Výskum sa realizoval v roku 2013, 2014 a 2015. Pre výskum rozšírenia huby boli vybrané také porasty v ktorých sa vyskytuje alebo v nedávnej minulosti vyskytovala mniška veľkohlavá. Vybrali sa len také plochy, kde prevládajúcou drevinou bol dub (rôzne druhy). Celkom sa monitoring realizoval v rámci celého Slovenska na 32 lokalitách. Nie všetky výsledky boli do dnešného dňa spracované. Uvádzame čiastočné výsledky z roku 2013 a 2014 doplnené o niektoré poznatky z roku 2015.

Hmyz použitý v experimentoch

Na experimenty sa použili húsenice mnišky veľkohlavej *L. dispar*. Založil sa laboratórny chov tohto druhu. Vaječné znášky škodcu sa získali z čistého laboratórneho chovu škodcu z USA (USDA, Otis USA). Na chov húseníc sa použila umelá potrava na báze pšeničných klíčkov. Húsenice sa chovali najskôr spoločne v počte cca 50 ks v umelohmotných vaničkách v klimatizovaných boxoch pri teplote 20 °C a pri 16 h svetle a 8 h tme až do 4. instaru, kedy sa použili na experiment.

Odber pôdy

Pôda sa odoberala z každej plochy v marci. V každej porastovej skupine sa náhodne vybralo 10 miest (vzdialenosť medzi nimi minimálne 10 metrov). Z každého miesta sa odoberala 1 vzorka, t. j. 10 odberov pôdy z jednej výskumnej plochy. Pôda sa odoberala do plastových sáčkov, približne 150 g jedna vzorka. Odoberala sa len vrchná 1 – 5 cm vrstva pôdy, po odstránení vrchnej hrabanky. Vzorky sa odoberali z okolia päty stromu – len do vzdialenosti nie viac ako

10 – 15 cm od bázy kmeňa. Následne sa 10 odberov nasypalo do jedného veľkého sáčku, v ktorom sa pôda dokonale premiešala. Vzniknutá vzorka potom reprezentovala jednu plochu.

Odbery húseníc

Húsenice sa odoberali z kmeňov stromov a tiež odklepom do sklepávačov. Húsenice sa dopravili do laboratória a zistila sa pod mikroskopom prítomnosť entomopatogénnych organizmov.

Priebeh pôdnych experimentov

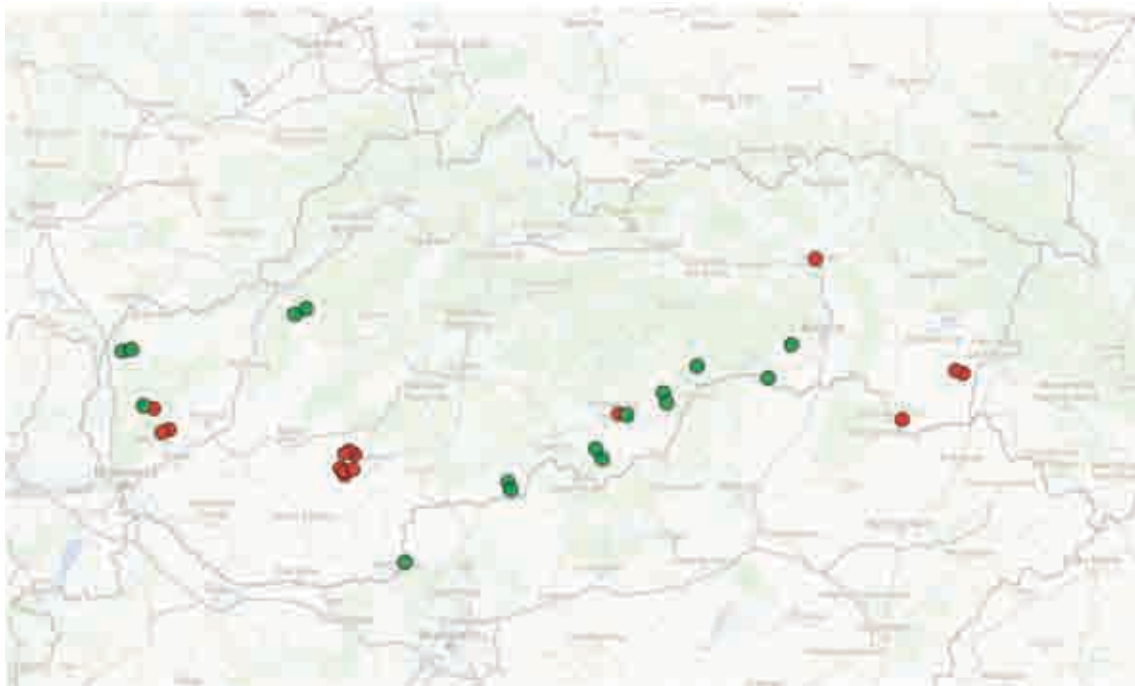
Vzorky pôdy sa po odbere ihneď dopravili do laboratória, kde sa uskladnili v tme pri teplote 15 °C na dobu 30 dní, resp. v igelitových sáčkoch. Pôda sa udržiavala vlhká pravidelným rosením počas uskladnenia. Po vybratí pôdy z chladničky sa 100 g pôdy vložilo do plastovej vaničky, navlhčilo sa 10 ml vody a ponechalo sa 30 minút postáť, aby sa voda vsiakla. Do vaničky na pôdu sa vložilo 10 húseníc *L. dispar* (4. instar). Pre každú plochu sa pripravili 3 vaničky, teda celkom 30 húseníc na jednu plochu.

Pôda s larvami sa vložila späť do klimatizovaného boxu, kde bola uložená 3 dni pri teplote 20 °C a striedaní dňa a noci. Húsenice boli počas tejto doby bez stravy. Po uplynutí 3 dní, sa húsenice umiestnili individuálne do 15 ml kelímok s umelou potravou. Húsenice sa vložili do klimaboxu. Mortalita sa zaznamenávala denne po dobu 14 dní. Uhynuté húsenice sa vložili do vlhkej komôrky pri izbovej teplote na 3 – 4 dni. Potom sa približne 7 dni uložili pri izbovej teplote aby preschli a následne sa vložili do chladničky pri 4 °C až do stanovenia príčin mortality. Každá uhynutá larva sa potom prezrela a zistila sa prítomnosť konídií alebo zimných spór pod mikroskopom.

Výsledky

Prítomnosť huby *E. maimaiga* sa zisťovala na 32 lokalitách, pričom na 16 (50 %) lokalitách sa výskyt *E. maimaiga* potvrdil.

Huba sa vyskytuje v hlavných gradačných územiach mnišky veľkohlavej na Slovensku. Huba bola zistená v celom širšom okolí Čifár, na Záhorí, pri Rimavskej Sobote a na východe Slovenska, pričom lokalita pri Prešove je v súčasnosti najsevernejšou lokalitou výskytu huby v Európe. Z výsledkov vyplýva, že huba zatiaľ nerovnomerne rozšírená na celom území Slovenska.



Obrázok 2. Monitoring výskytu huby *E. maimaiga* na území SR v rokoch 2013–2015 – čiastkové výsledky. Zelené/červené body označujú miesta, kde sa realizoval monitoring a huba nebola/bola zistená

Celkové vyhodnotenie a návrh opatrení

Vykonal sa monitoring výskytu entomopatogénnej huby *E. maimaiga* na území Slovenska. Z celkového počtu 32 lokalít, bola huba zistená na 16 lokalitách. Z výsledkov vyplýva, že huba sa vyskytuje ostrovčekovito takmer na celom území Slovenska od oblasti Sološnica na západe až po Pavlovce nad Uhom na východe. Najsevernejšie bola huba zistená pri Prešove, čo je v súčasnosti zároveň aj najsevernejší výskyt huby v Európe.

Návrh využitia huby *E. maimaiga* v biologickom boji proti mniške veľkohlavej

– V porastoch, v ktorých bola *E. maimaiga* zistená.

Tu sa očakáva, že kalamity mnišky veľkohlavej budú mať nižšiu intenzitu. Na týchto lokalitách je potrebné aj naďalej postupovať pri ochrane porastov proti mniške veľkohlavej v zmysle STN 48 2715. Zvýšenú pozornosť je ale treba venovať monitoringu početnosti škodcu najmä v predgradačnom období. Prítomnosť huby by mohla v budúcnosti znížiť intenzitu gradácií a tým aj potrebu leteckých ošetrení lesných porastov. Uvedené je ale potrebné potvrdiť ďalším výskumom v tejto oblasti a najmä overiť v predgradačnom období detailným sledovaním početnosti mnišky veľkohlavej.

– V porastoch, v ktorých nebola *E. maimaiga* zistená.

Šírenie huby *E. maimaiga* v prostredí je do istej miery závislé od početnosti jej hlavného hostiteľa, mnišky veľkohlavej. Šírenie je ľahšie a intenzívnejšie v čase, keď je jej hostiteľ v porastoch hojnejší. V najbližších rokoch očakávame nízku početnosť mnišky veľkohlavej a tak prirodzené šírenie huby bude určitým spôsobom limitované.

Existuje overený spôsob umelého rozširovania tejto huby v porastoch (Pilarska et al. 2000). V blízkej budúcnosti by bolo vhodné otestovať uvedenú metódu umelej introdukcie *E. maimaiga* do lesov SR, v ktorých sa táto huba zatiaľ nevyskytuje alebo sa vyskytuje v limitovanom množstve. Následná príprava a realizácia takéhoto „Programu introdukcie huby *E. maimaiga*“ do lesov SR“ by mohla ešte výraznejšie znížiť riziko kalamitného premnoženia mnišky veľkohlavej v našich lesoch.

Podakovanie

Tento článok vznikol vďaka podpore v rámci OP Výskum a vývoj pre projekt: „Prognosticko-informačné systémy pre zvýšenie efektívnosti manažmentu lesa“ (ITMS: 26220220109), spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja. Bol tiež podporný Agentúrou na podporu výskumu a vývoja cez projekt č. APVV-0707-12 (Výskum vplyvu disturbančných faktorov na dlhodobý vývoj zdravotného stavu lesov Slovenska) a projekt č. APVV-14-0567 (Informačný a varovný systém pre invázne organizmy v lesnom a urbánnom prostredí). Práca vznikla aj vďaka podpore projektov „Výskum efektívneho využívania environmentálneho, ekonomického a sociálneho potenciálu lesov na Slovensku II“ a „Výskum a vývoj pre inovácie a podporu konkurencieschopnosti lesníckeho sektora“ financovaných financovaných z prostriedkov štátneho rozpočtu cez kontrakt medzi MPRV SR a NLC z rozpočtovej kapitoly MPRV SR (prvok 08V0301) a spolufinancovaných podnikom LESY SR, š. p.

Literatúra

- Csóka, G., Hirka, A., Szócs, L., Hajek, A. E., 2014: A rovarpatogén *Entomophaga maimaiga* Humber, Shimazu & Soper, 1988 (Entomophthorales: Entomophthoraceae) gomba megjelenése magyarországi gyapjaslepke (*Lymantria dispar*) populációkban. Növényvédelem, 50:257–262.
- Georgiev, G., Mirchev, P., Georgieva, M., Rossnev, B., Petkov, P., Matova, M., Kitanova, S., 2012: First record of entomopathogenic fungus *Entomophaga maimaiga* Humber, Shimazu and Soper (Entomophthorales: Entomophthoraceae) in *Lymantria dispar* (Linnaeus) (Lepidoptera: Lymantriidae) in Turkey. Acta Zool Bulgar, 64:123–127.
- Georgiev, G., Mirchev, P., Rossnev, B., Petkov, P., Georgieva, M., Pilarska, D., Golemansky, V., Pilarski, P., Hubenov, Z., 2013b: Potential of *Entomophaga maimaiga* for suppressing *Lymantria dispar* outbreaks in Bulgaria. Cr Acad Bulg Sci, 66:1025–1032.
- Georgieva, M., Georgiev, G., Pilarska, D., Pilarski, P., Mirchev, P., Papazova-Anakieva, I., Matova, M., 2013: First record of *Entomophaga maimaiga* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) in *Lymantria dispar* population in Greece and the former Yugoslavian Republic of Macedonia. Sumar list, 5–6:307–311.

- Hajek, A. E., 1999: Pathology and epizootiology of *Entomophaga maimaiga* infections in forest Lepidoptera. Microbiol Mol Biol Rev, 63:814–835.
- Hajek, A. E., McManus, M. L., Delalibera, I., 2005: Catalogue of introductions of pathogens and nematodes for classical biological control of insects and mites. USDA, For. Serv. FHTET-2005-05.
- Hrašovec, B., Pernek, M., Lukić, I., Milotić, M., Diminić, D., Franjević, M., Hajek, A., Linde, A., Pilarska, D., 2013: First record of the pathogenic fungus *Entomophaga maimaiga* Humber, Shimazu, and Soper (Entomophthorales: Entomophthoraceae) within an outbreak populations of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Erebidae) in Croatia. Period Biol, 115:379–383.
- Pilarska, D., McManus, M., Hajek, A., Herard, F., Vega, F., Pilarski, P., Markova, G., 2000: Introduction of the entomopathogenic fungus *Entomophaga maimaiga* Hum., Shim. & Sop. (Zygomycetes: Entomophthorales) to a *Lymantria dispar* [L.] (Lepidoptera: Lymantriidae) population in Bulgaria. J Pest Sci, 73:125–126.
- Tabaković-Tošić, M., Georgiev, G., Mirchev, P., Tošić, D., Golubović-Ćurguz, V., 2012: *Entomophaga maimaiga* – new entomopathogenic fungus in the Republic of Serbia. Afr J Biotechnol, 34:8571–8577.
- Zúbrik, M., Barta, M., Pilarska, D., Goertz, D., Uradnik, M., Galko, J., Vakula, J., Gubka, A., Rell, S., Kunca, A., 2014: First record of *Entomophaga maimaiga* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) in Slovakia. Biocontrol Sci Technol, 24:710–714.

Ing. Ivan Špilda

LESY Slovenskej republiky, š. p., generálne riaditeľstvo, Nám. SNP 8, 975 66 Banská Bystrica, e-mail: Ivan.Spilda@lesy.sk

Ing. Milan Zúbrik, PhD., Ing. Andrej Kunca, PhD., Ing. Christo Nikolov, PhD., Ing. Slavomír Rell, Ing. Juraj Galko, PhD., Ing. Roman Leontovyč, PhD., Ing. Andrej Gubka, PhD., Ing. Jozef Vakula, PhD.

Národné lesnícke centrum - Lesnícky výskumný ústav Zvolen, Stredisko lesníckej ochrannárskej služby, Lesnícka 11, 969 23 Banská Štiavnica, e-mail: meno.priezvisko@nlcsk.org

Dr. Daniela Pilarska

Institute of Biodiversity and Ecosystem Research, Bulgarian Academy of Sciences, 2 Gagarin Street, 1113 Sofia, Bulharsko, e-mail: dpilarska@yahoo.com

Ing. Marek Bárta, PhD.

Ústav ekológie lesa SAV, L. Štúra 2, 960 53 Zvolen, e-mail: marek.barta@savba.sk