

INTEGROVANÁ OCHRANA LESA PROTI TVRDOŇOVI SMREKOVÉMU ZAHRŇUJÚCA VYUŽITIE ENTOMOPATOGÉNEJ HUBY *BEAUVERIA BASSIANA*

Juraj Galko • Slavomír Rell • Michal Lalík • Marek Barta • Milan Zúbrik

Úvod

V Stredisku lesníckej ochrannárskej služby v Banskej Štiavnici (ďalej LOS) bolo od roku 2010 riešených viacero výskumných projektov zameraných na výskum vplyvu zrelostného žeru tvrdoňa smrekového (*Hylobius abietis*) a rôzne formy potlačania jeho škodlivosti na ihličnaté sadenice.

Počas riešenia týchto projektov bolo publikovaných viacero odborných článkov zaoberajúcich sa problematikou využitia lapacích kôr (Galko et al. 2012, 2013), voskovaných sadeníc (Ondruš et al. 2014; Galko et al. 2015a, 2016a), potenciálu rôznych druhov entomopatogénnych húb (Galko et al. 2015b, 2016b; Rell et al. 2015, 2016; Lalík et al. 2017) na potlačenie škodlivosti tohto škodcu, či vypracovanie zhodnotenia a porovnania nákladov na rôznu formu ošetrovania ihličnatých sadeníc proti tvrdoňovi smrekovému (Galko et al. 2015c). V roku 2016 bola revidovaná STN 48 2712 Ochrana lesa proti tvrdoňom a lykokazom na sadenicích (Galko et al. 2016c).

Hmyz, tvrdoňa smrekového nevynímajúc, 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.

Bionómia tvrdoňa smrekového

Tvrdoň smrekový je považovaný za jedného z najvýznamnejších hmyzích škodcov v Európe (Långström & Day 2004; Moore et al. 2004). Jeho bionómia je opísaná v STN 48 2712. Je to chrobák a patrí do čeľade nosáčikovitých (Curculionidae), je čiernohnedého sfarbenia so svetlými škvrnami na krovkách, dlhý od 10 mm do 14 mm. Hlavu má predĺženú do výrazného nosáčka s tykadlami a ústnym otvorom na jeho konci.

Škodlivé je imágo svojím zrelostným žerom. Poškodzuje ihličnaté sadenice najmä po výsadbe. Pri premnožení môže spôsobiť vážne straty na ihličnatých výsadbách, osobitne na smreku a borovici, ktoré vedú až k opakovanému zalesneniu. Je vážnym a chronickým škodcom predovšetkým v stredných a vyšších polohách, a to v ihličnatých porastoch, kde sa každoročne vykonáva ťažba, alebo v lokalitách opakovane poškodených vetrovými, podkôrníkovými alebo inými kalamitami.

Samičky kladú vajíčka celú jar a leto do koreňov (koreňových nábehov) čerstvých pňov všetkých ihličnatých dreív, hlavne borovic. Larvy spočiatku vyžierajú lyko pod kôrou, neskôr i dlhé chodby v belí. Kuklia sa v lôžku vyhlodanom do dreva. Larvy väčšinou prezimujú. Žer lariev nie je škodlivý, naopak užitočný, lebo napomáha rozkladu pňov. Nové chrobáky sa liahnu od jari nasledujúceho roka, časť chrobákov sa však liahne už v auguste, septembri a prezimuje v hrabanke. Celý vývoj pohlavne zrelého jedinca trvá od 4 mesiacov do 15 mesiacov podľa teploty a ďalších okolností, napr. času kladenia vajíčok, nadmorskej výšky, expozície a pod.

Na jar sa chrobáky objavujú najčastejšie už koncom apríla a hneď začínajú so zrelostným žerom na sadenicích: najprv tesne nad zemou, na koreňovom krčku, neskôr aj na kmienku sadeníc. Práve v tomto období je žer najintenzívnejší. Kôru ohlodávajú v hlbokých, lievikovitých jamkách až do belí, čo vyvoláva silný výron živice. Pri silnejšom napadnutí sú ranky po celom obvode kmienka a sadenica hynie. Treba si však uvedomiť, že imágo tvrdoňa môže žiť až niekoľko rokov (3 roky až 4 roky) a počas tohto obdobia môže stále spôsobovať škody. Takýto žer v teréne sa nedá odlíšiť od zrelostného žeru. Najväčšie škody tvrdoň spôsobuje v ihličnatých kultúrach vysadených na čerstvých rúbaniskách, kde ho láka vôňa živice z čerstvých pňov (STN 48 2712).

Biologické metódy ochrany lesa využitím entomopatogénnych organizmov proti tvrdoňovi smrekovému

V súčasnosti prevláda v Európe tendencia výrazne obmedziť až zamedziť používanie chemických postrekov a ich nahradenie biologickými metódami na znižovanie počtu imág tvrdoňa a elimináciu poškodenia sadeníc (Galko et al. 2013c). Pri využití biologických metód ochrany sa jedná o cieľavedomé využívanie živých organizmov alebo ich produktov pre udržanie biotických škodcov pod prahom hospodárskej škodlivosti. Podstatou je cielečné ničenie iba úzkej skupiny škodcov. Pri tvrdoňovi k nim patria napríklad metódy s využitím entomopatogénnych hádčatiek, entomopatogénnych húb, parazitoidov, prípadne mravcov (Rell 2018).

Entomopatogénne hádčatká

Entomopatogénne hádčatká (EPH) (*Steinernema* a *Heterothabditis*) sú parazity hmyzu, ktoré sú vzájomne späté s entomopatogénnymi baktériami (*Xenorhabdus* a *Photorhabditis*).

Komerčne dostupné hádčatká sú v podobe prášku, ktorý musí byť až do použitia uskladnený pri mínusových teplotách. Pre aktiváciu hádčatiek sa produkt tesne pred aplikáciou zmieša s vodou. Na jeden peň sa odporúča použiť 3,5 milióna hádčatiek. Výskumníci National University of Ireland Maynooth (NUIM) a Forest Research UK spolupracovali, aby vybrali druh hádčatka najefektívnejší pre reguláciu tvrdoňa a vyvinuli vhodnú metódu pre ich aplikáciu. Použili hádčatko *Steinernema carpocapsae* a ako spôsob aplikácie zvolili vyvážaciu súpravu, na ktorú umiestnili vodnú nádrž. Týmto spôsobom aplikovali hádčatká niekoľko rokov suspenziou na ihličnaté pne. Na ošetrovaných plochách bol v dôsledku zrelostného žeru tvrdoňa hlásený menej ako 5 % úhyn sadeníc, na rozdiel od neošetrovaných plôch, kde bol úhyn 45 – 85 % (Dillon & Griffin 2008). Náklady na aplikáciu 3,5 milióna hádčatiek na peň pomocou tejto technológie boli približne 500 €/ha. Výskumníci z NUIM dokázali, že iný druh hádčatka, *Heterorhabditis downesi*, je účinnejší na borovicových aj na smrekových pňoch (Dillon et al. 2006, 2008).

Entomopatogénne huby

Entomopatogénne huby sú bežným komponentom pôdnej mikrobiálnej zložky. Nachádzajú sa hlavne v pôde ako saprofyty organickej hmoty, ale tiež ako príležitostné parazity vo forme hustého mycélia na povrchu mŕtveho hmyzu, kedy produkujú množstvo hydrofóbnych konídií (Pavlík a kol. 2015). V prípade parazitizmu infikujú svojho hostiteľa, čerpajú z neho živiny, čím ho oslabujú a v konečnom dôsledku usmrčia. Entomopatogénne huby ako *Metharhizium anisopliae* a *Beauveria bassiana* sú komerčne dostupné (Ansari & Butt 2012) a vykazujú významný potenciál v boji proti rôznym pôdnym a listožravým hmyzím škodcom (Butt et al. 2001; Ansari et al. 2004, 2008, 2009; Ansari & Butt 2012).

Nakazenie hmyzu začínajú vitálne, virulentné konídiá, ktoré sú roznášané rôznymi prirodzenými mechanizmami. Z abiotických faktorov podieľajúcich sa na ich šírení ide predovšetkým o vietor, dážď alebo toky vody v pôde. K šíreniu bežne dochádza kontaktom s konídiami a to buď živým jedincom alebo vajíčok pri ich kladení. Uchytenie suchých, hydrofóbných konídií je zabezpečené priamou interakciou medzi dvomi hydrofóbnymi povrchmi, elektrostatickými silami alebo molekulárnou interakciou medzi zložkami prítomnými na povrchu konídií a zložkami prítomnými na povrchu kutikuly hostiteľa. Konídiá sú dostatočne zásobené a vyklíčiť dokážu aj bez potreby absorpcie ďalších živín z vonkajšieho prostredia. K ich vyklíčeniu na povrchu hostiteľa nastáva za priaznivej teploty a relatívnej vlhkosti (Pavlík a kol. 2015). Po vyklíčení vyrastú ako hýfy a klonizujú kutikulu. Nakoniec fyzikálnym rastom a chemickým rozpúšťaním preniknú cez tenšie vrstvy kutikuly do telesnej dutiny a kolonizujú kutikulu. V priebehu niekoľkých dní svojho hostiteľa zabijú a znovu prerastajú na povrch v podobe plesňového porastu a produkujú nové, vzduchom šíriteľné konídiá (Ansari & Butt 2012). Konídiá sú v latentnom štádiu schopné udržať sa pri živote aj niekoľko týždňov až mesiacov. Suché konídiá však môžu strácať svoju virulenciu vystavením vysokým teplotám a slnečnému žiareniu (Moore et al. 1993; Morley-Davies et al. 1996; Ansari & Butt 2012). Najdôležitejšími faktormi nevyhnutnými pre ich vývoj sú teplota a vysoká vlhkosť. Ideálna teplota je medzi 20 °C a 30 °C. Pre rast na povrchu hostiteľa a pre vývoj konídií je zvyčajne potrebná veľmi vysoká vlhkosť, viac ako 90 %, ale pre uvoľnenie konídií je dostatočná aj vlhkosť pod 50 % (Landa 2007; Koubová 2009; Pavlík et al. 2015).

Entomopatogénna huba *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, ako už bolo spomínané vyššie v texte, je bežným komponentom pôdnej mikrobiálnej zložky ako saprofyt organickej hmoty a príležitostný parazit hmyzu vo forme husté-

ho bieleho mycélia, ktoré vyrastá na povrchu usmrteného hmyzu a produkuje konídiá. K nakazeniu dochádza primárne konídiami, ktoré sa zachytia na tele hmyzu.

Ansari a Butt (2012) vo svojej štúdií dokázali, že všetky vývojové štádiá tvrdoňa smrekového sú náchylné k napadnutiu entomopatogénnou hubou, pričom larvy a kukly sú citlivejšie a k úhynu dochádza oveľa skôr ako pri imágach. Rozdielnosť v citlivosti rôznych vývojových štádií tvrdoňa na napadnutie entomopatogénnou hubou môže byť vysvetlená faktom, že adultné jedince majú hrubú a silno sklerotizovanú kutikulu, naproti tomu larvy a kukly majú jemnejšiu a flexibilnejšiu kutikulu. Hrubá a pevná kutikula adultných jedincov môže výnimočne predstavovať bariéru v efektívnosti entomopatogénnej huby, minimálne v predĺžení času do usmrtenia hostiteľa (Ansari & Butt 2012; Butt et al. 1995; Markova 2000). Ansari & Butt (2012) v tej istej štúdií tiež zistili, že niektoré kmene húb sú účinnejšie ako iné (Rell 2018).

Kombinácia entomopatogénnych húb a háďatiek

Do úvahy prichádza ešte kombinácia entomopatogénnych húb s háďatkami, pri ktorej by sa teoreticky mohla využiť pohyblivosť háďatiek a ich snaha nájsť hostiteľa, k distribúcií konídií húb priamo k larvám tvrdoňa, ktoré by ich mohli infikovať v prípade neúspešného napadnutia lariev háďatkami. Ansari (pers. comm.) sa na základe jeho nepublikovaných výsledkov domnieva, že práve kombinácia týchto dvoch metód má potenciál dosiahnuť vyššiu úspešnosť v boji proti škodám spôsobeným tvrdoňom. Táto metóda si zaslúži ďalšie preskúmanie s inými hostiteľmi a kombináciami patogénov (Rell 2018).

Výskum účinnosti entomopatogénnych húb na tvrdoňa smrekového na LOS

Experiment aplikácie spór entomopatogénnej huby *B. Bassiana* na imága tvrdoňa smrekového

Týchto experimentov bolo celkom od roku 2013 vykonaných 8. V každom experimente bolo spolu použitých 150 ks imág tvrdoňa smrekového (pomer pohlavia 1 : 1, t. j. 75 samcov a 75 samíc) a v každom experimente bolo vykonaných 5 ošetrení ($30 \times 5 = 150$ tvrdoňov), pričom každé ošetrenie predstavovalo 30 jedincov (15 samcov a 15 samíc). Imága boli ošetrené suspenziou s obsahom spór entomopatogénnych húb v rôznej koncentrácii.

Imága pochádzali z terénnych odchytov z oblasti Nízkych Tatier a boli skladované v chladničke pri teplote 5 – 7 °C s prístupom potravy. Počas experimentov bol každý tvrdoň uložený samostatne v Petriho miske (priemer 12 cm, výška 2 cm) (obr. 1), spolu 150 Petriho misiek na jeden experiment. Na udržanie potrebnej vlhkosti sa do Petriho misiek pridávali v pravidelných intervaloch 2 ks namočenej buničiny do vody. Ako potrava pre tvrdone sa pridávali do Petriho misiek borovicové konáriky v rozmeroch asi 8 – 10 cm, priemeru asi 0,7 cm (obr. 1). V určitých intervaloch sa potrava vymieňala. Na použitej potrave sme merali celkovú a zožranú plochu v mm² pomocou transparentného milimetrového papiera

Stupeň prerastania imág podľa jednotlivých ošetrení sa hodnotil vo všetkých experimentoch rovnako, t. j. každé 3 dni podľa nasledovnej stupnice:

Stupnica pre hodnotenie:

- 1 – živý
- 2 – mŕtvy, bez prerastania
- 3 – mŕtvy, prerastený do 1/3
- 4 – mŕtvy, prerastený do 2/3
- 5 – mŕtvy, prerastený viac ako 2/3

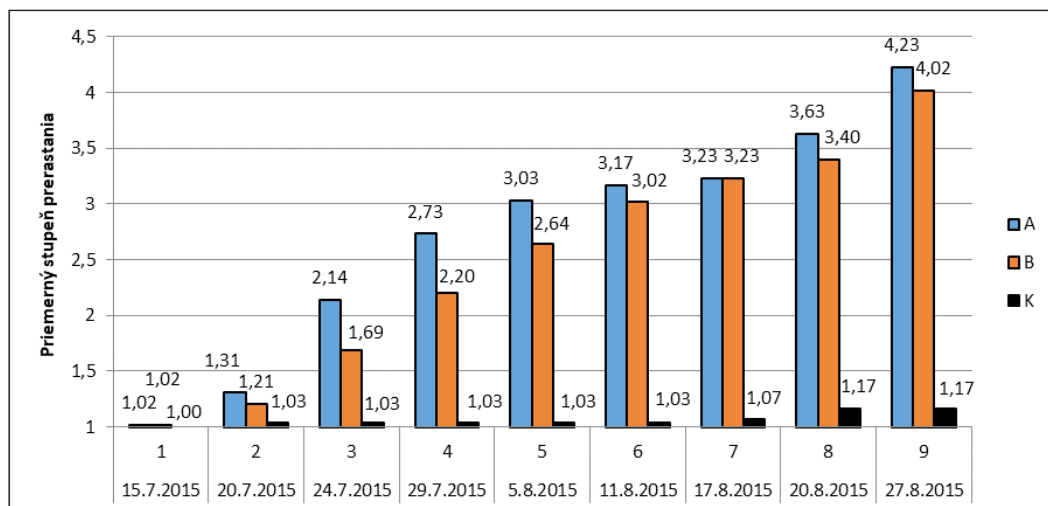
Výsledky zo všetkých experimentov sa momentálne vyhodnocujú a je pripravovaná vedecká publikácia. Príklad účinnosti prerastania imág tvrdoňa smrekového hubou *B. bassiana* (obr. 2) je znázornený na obrázku 3, kde porovnávame ošetrenie dvoch variantov tejto huby (A a B) s neošetrenou kontrolou (K) počas jednotlivých kontrolných intervalov. Tieto výsledky boli čiastočne publikované v práci Galko et al. (2016).



Obrázok 1. Detail imága tvrdoňa smrekového v Petriho miske s potravou a buničinou



Obrázok 2. Ukážka postupného prerastania imága tvrdoňa smrekového hubou *B. bassiana*



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

Experiment aplikácie spór entomopatogénnej huby *B. Bassiana* na kmenky sadeníc

V ďalších experimentoch sme na LOS testovali prenos spór huby *B. bassiana* z ošetrovaného kmenka sadenice na imágo pri vykonávaní zrelostného žeru. Experiment prebiehal vo vonkajších priestoroch LOS. Za týmto účelom sme ošetri- li smrekové sadenice suspenziou, ktorá obsahovala vodu, zmáčadlo a spóry huby *B. bassiana*. Ošetrované sadenice boli porovnávané s kontrolovanými neošetrovanými sadenicami. Ku každej sadenici (obr. 4) bolo pridané jedno imágo tvrdo- ňa smrekového. Hodnotila sa mortalita a prerastanie imág tvrdoňa podľa stupnice uvedenej v predošlom experimente. Čiastočné výsledky týchto pokusov boli publikované v práci Lalík et al. (2017).



Obrázok 4. Sadenice ošetrované suspenziou

Zistili sme, že entomopatogénna huba *B. bassiana* aplikovaná formou suspenzie ako postrek dokáže nakaziť a usmrtiť imága tvrdoňa aj na šiesty deň od aplikácie. Nainfikované imága sú usmrtené od 19 do 37 dní od infekcie. Všetky usmrtené chrobáky boli následne prerastené hubou. Sadenice boli umiestnené v tieni, čo má dobrý vplyv na prežívanie spór húb. Tento spôsob obrany nie je taký účinný ako insekticídy, ale je o to šetrnejší voči prírode a pri aplikácií na kmenky sadeníc sú napadnuté len tvrdone smrekové a nie ostatný hmyz.

Integrovaná ochrana lesa proti tvrdoňovi smrekovému

Na základe našich dlhoročných výsledkov, pozorovaní a skúseností bola vykonaná revízia spomínanej STN, kde sa prvýkrát uvažuje aj o použití entomopatogénnych organizmov. Podrobne možno opatrenia ochrany lesa rozdeliť nasledovne:

- **Základný stav.** Pri základnom stave žiadne opatrenia nevykonávame.
- **Zvýšený stav**
 - a. dodržiavať porastovú hygienu, napr. dokonalou likvidáciou zvyškov po ťažbe alebo kalamite;
 - b. podľa možnosti v maximálnej miere podporiť prirodzenú obnovu;
 - c. vysádzať vyspelý sadbový materiál, pretože väčšie sadenice lepšie odolávajú prípadnému poškodeniu;
 - d. podľa možnosti ponechať zostatky materského porastu, pod ktorým sadenice výrazne lepšie prežívajú;
 - e. pri výsadbe voliť pestré drevinové zloženie, napr. zvýšiť zastúpenie listnatých drevín;
 - f. uprednostniť kvalitnú jamkovú sadbu pred štrbinovou, pričom je nevyhnutné dokonalé prekopanie humusovej vrstvy; pravidelné a dôkladné vyžínanie nežiadúcej vegetácie, pretože sadenice sú v burine výrazne viac poškodzované.
- **Kalamitný stav**
 - a. odklad zalesňovania (o 1 rok až 3 roky), ak nehrozí prílišné zaburinenie holín;
 - b. asanácia pňov a koreňových nábehov na holinách po ťažbe chemickým postrekom alebo mechanickým odstránením;
 - c. chemická ochrana sadeníc:
 - autorizovaným insekticídum ošetriť sadenice v škôlke pred ich vyzdvihnutím alebo ošetriť nadzemnú časť ihličnatých sadeníc namáčaním v roztoku insekticídu pred výsadbou;
 - ak neboli sadenice chemicky ošetrené pred výsadbou, treba ošetrenie vykonať dokonalým individuálnym (bodovým) postrekom kmenkov sadeníc hneď po výsadbe (pred rašením) a ošetrenie opakovať každé dva mesiace v období od apríla do októbra; celoplošný postrek sa nevykonáva;
 - aplikovaním granulovaných insekticídov (ak sú autorizované) pred výsadbou do sadbovej jamky (účinné najmä voči lykokazom) alebo po výsadbe okolo krčka sadeníc a na povrchu sadbovej jamky s miernym prekrytím zemou;
 - d. mechanická ochrana sadeníc:
 - zalesňovanie voskovaných sadeníc;
 - využitie špeciálnych ochranných golierov a pančušíek;
 - e. **možné využitie entomopatogénnych organizmov (hád'atka, huby).**

Zhrnutie

Počas niekoľkých rokov nášho výskumu sme zistili veľký potenciál najmä entomopatogénnej huby *B. bassiana*, a najmä „nášho“ nového kmeňa tejto huby z prírodného prostredia, ktorý dosiahol lepšie výsledky ako komerčné prípravky s obsahom tejto huby. Momentálne pracujeme na legislatívnej právnej ochrane nového spôsobu zavlečenia huby *B. bassiana* do prírodného prostredia. Vzhľadom na zamýšľanú patentovú ochranu nemôžeme poskytnúť podrobnejšie informácie.

V príspevku sme sčasti zhrnuli výsledky experimentov s vyhodnotením potenciálu entomopatogénnych húb na kontroľ populácie tvrdoňa smrekového. Výsledky možno zhrnúť nasledovne:

- 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 experimentov prinieslo nové poznatky do vzťahu patogén vs. hostiteľ v tejto málo preskúmanej oblasti,
- naďalej hľadáme možnosti úspešného prenosu spór huby *B. bassiana* do prírodného prostredia.

Podakovanie

Tento článok vznikol vďaka podpore z Agentúry na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-15-0348 Nové metódy v integrovanej ochrane lesa zahŕňajúce využitie entomopatogénnych húb a zmluvy č. APVV-16-0031 Výskum alternatívnych metód ochrany ihličnatých sadeníc pred hmyzími škodcami. Ďalej bol článok podporený projektom „Výskum a vývoj na podporu konkurencieschopnosti slovenského lesníctva – SLOV-LES“, projekt financovaný z rozpočtovej kapitoly MPRV SR (prvok 08V0301).

Literatúra

- Ansari, M. A., Butt, T. M., 2012: Susceptibility of different developmental stages of large pine weevil *Hylobius abietis* (Coleoptera: Curculionidae) to entomopathogenic fungi and effect of fungal infection to adult weevils by formulation and application methods. *Journal of Invertebrate Pathology*, 111(1): 33–40.
- Ansari, M. A., Brownbridge, M., Shah, F. A., Butt, T. M., 2008: Efficacy of entomopathogenic fungi against soil dwelling life stages of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) in plant growing media. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 127, s. 80–87.
- Ansari, M. A., Evans, M., Butt, T. M., 2009: Identification of pathogenic strains of entomopathogenic nematodes and fungi for wireworm control. *Crop. Prot.*, 28, s. 269–272.
- Ansari, M. A., Tirry, L., Vestergaard, S., Moens, M., 2004: Selection of a highly virulent fungal isolate, *Metarhizium anisopliae* CLO 53, for controlling *Hoplia philanthus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 85, s. 89–96.
- Butt, T. M., Ibrahim, L., Clark, S. J., Beckett, A., 1995: The germination behaviour of *Metarhizium anisopliae* on the surface of aphid and flea beetle cuticles. *Mycological Research*, 99, s. 945–950.
- Butt, T. M., Jackson, C. W., Magan, N., 2001: Introduction – fungal biological control agents: progress, problems, potential. In: Butt, T. M., Jackson, C. W., Magan, N. (eds.): *Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential*. CAB International, Wallingford, Oxford, UK, s. 1–8.
- Dillon, A., Griffin, CH., 2008: Controlling the large pine weevil, *Hylobius abietis*, using natural enemies. *Coford, Silviculture / Management No. 15*.
- Dillon, A. B., Moore, C. P., Downes, M. J. & Griffin, C. T., 2008: Evict or Infect? Managing populations of the large pine weevil, *Hylobius abietis* using a bottom-up and top-down approach. *Forest Ecology and Management*, 225, s. 2634–2642.
- Dillon, A. B., Ward, D., Downes, M. J., Griffin, C. T., 2006: Suppression of the large pine weevil *Hylobius abietis* (Coleoptera: Curculionidae) in pine stumps by entomopathogenic nematodes with different foraging strategies. *Biological Control*, 38, s. 217–226.
- Galko, J., Gubka, A., Vakula, J., 2012: Praktické skúsenosti s využitím lapacích kôr na zníženie škod spôsobených tvrdoňom smrekovým na mladých výsadbách ihličnatých drevín. In: Kunca, A. (ed.): *Aktuálne problémy v ochrane lesa 2012*, Zvolen, NLC, s. 60–64.
- Galko, J., Ondruš, M., Rell, S., Gubka, A., Vakula, J., 2013: Využitie lapacích kôr pri monitoringu populačnej hustoty tvrdoňa smrekového a lykokazov rodu *Hylastes*. In: Kunca, A. (ed.): *Aktuálne problémy v ochrane lesa 2013*, zborník referátov z 22. Medzinárodnej konferencie konanej 25 – 26. 4. 2013 v Novom Smokovci, Zvolen, NLC, s. 142–145.
- Galko, J., Kunca, A., Vakula, J., Rell, S., Gubka, A., Nikolov, CH., Zúbrik, M., 2013c: Usmernenie Lesníckej ochrannárskej služby ku kontrole, ochrane a obrane sadeníc pred poškodením tvrdoňom smrekovým a lykokazmi rodu *Hylastes*. Zvolen, NLC, 21 s. Dostupné na internete: <http://www.los.sk>
- Galko, J., Kunca, A., Vakula, J., Rell, S., Gubka, A., Maľová, M., Longauerová, V., Nikolov, Ch., Zúbrik, M., 2014: Kontrola, ochrana a obrana sadeníc pred poškodením tvrdoňom smrekovým a lykokazmi rodu *Hylastes*. Usmernenie Lesníckej ochrannárskej služby č. 2, III. vydanie, 8 s.

- Galko, J., Kunca, A., Ondruš, M., Špilda, I., Rell, S., 2015a: Zhodnotenie a porovnanie nákladov na rôznu formu ošetrovania ihličnatých sadeníc proti tvrdoňovi smrekovému. In: Kunca, A. (ed.): Aktuálne problémy v ochrane lesa 2015, Zborník referátov z 24. medzinárodnej konferencie konanej 29. – 30. 1. 2015 v Kongresovom centre Kúpeľov Nový Smokovec, Zvolen, NLC, s. 101–105.
- Galko, J., Kunca, A., Rell, S., Ondruš, M., Špilda, I., Vakula, J., Gubka, A., 2015b: Vyhodnotenie experimentov voskom ošetrovaných sadeníc, ako mechanickej ochrany proti tvrdoňovi smrekovému a návrh technologického postupu voskovania. In: Kunca, A. (ed.): Aktuálne problémy v ochrane lesa 2015, Zborník referátov z 24. medzinárodnej konferencie konanej 29. – 30. 1. 2015 v Kongresovom centre Kúpeľov Nový Smokovec, Zvolen, NLC, s. 21–30.
- Galko, J., Vakula, J., Kunca, A., Rell, S., Gubka, A., 2016: STN 48 2712, Ochrana lesa proti tvrdoňom a lykokazom na sadeniciach, Úrad pre normalizáciu, metrológiu a skúšobníctvo SR, 8 s.
- Galko, J., Rell, S., Barta, M., Kunca, A., Lalík, M., 2016: Majú entomopatogénne huby potenciál kontrolovať populáciu tvrdoňa smrekového v lesných ekosystémoch? In: Kunca, A. (ed.): Aktuálne problémy v ochrane lesa 2016, Zborník referátov z 25. medzinárodnej konferencie konanej 21. – 22. 1. 2016 v Kongresovom centre Kúpeľov Nový Smokovec, Zvolen, NLC, s. 127–132.
- Koubová, D., 2009: Využití hub v biologické ochraně rostlin proti škůdcům. UZEL, Agronavigátor, s. 1–42.
- Lalík, M., Galko, J., Rell, S., 2017: Možnosti biologickej ochrany sadeníc proti tvrdoňovi smrekovému (*Hylobius abietis*). In: Kunca, A. (ed.): Aktuálne problémy v ochrane lesa 2017, Zborník referátov z 26. medzinárodnej konferencie konanej 26. – 27. 1. 2017 v Kongresovom centre Kúpeľov Nový Smokovec, Zvolen, NLC, s. 162–166.
- Landa, Z., 2007: Využití houby *Beauveria bassiana* v ochraně proti lykožroutu smrekovému. Lesnická práce, 10/2007, s. 14–15.
- Língström, B., Day, K. R., 2004: Damage, Control and Management of Weevil Pests, especially *Hylobius abietis*. In: Lieutier, F. et al.: Bark and Wood Boring Insects in Living Trees in Europe, A Synthesis, Kluwer, s. 415–444.
- Markova, G., 2000: Pathogenicity of several entomogenous fungi to some of the most serious forest insect pest in Europe IOBC wprs. Bulletin, 23, s. 231–239.
- Moore, R., Brixey, J., Milner, A. D., 2004: Effect of time of year on the development of immature stages of the large pine weevil (*Hylobius abietis* L.) in stumps of Sitka spruce (*Picea sitchensis* Carr.) and influence of felling date on their growth, density and distribution. J. App. Entomol., 128: 167–176.
- Moore, D., Bridge, P. D., Higgins, P. M., Bateman, R. P., Prior, C., 1993: Ultra-violet radiation damage to *Metarhizium flavoviride* conidia and the protection given by vegetable and mineral oils and chemical sunscreens. Annals of Applied Biology, 122, s. 605–616.
- Morley-Davies, J., Moore, D., Prior, C., 1996: Screening of *Metarhizium* and *Beauveria* spp. conidia with exposure to simulated sunlight and a range of temperatures. Mycological Research, 100, s. 31–38.
- Ondruš, M., Galko, J., Rak, J., 2014: Voskovanie – ekologická metóda ochrany sadeníc. In: Kunca, A. (ed.): Aktuálne problémy v ochrane lesa 2014, Zborník referátov z 23. medzinárodnej konferencie konanej 23.–24. 4. 2014 v Kongresovom centre Kúpeľov Nový Smokovec, Zvolen, NLC, s. 95–97.
- Pavlík, M., Kmeť, J., Galko, J., Lalík, M., 2015: The efficiency of chosen entomopathogenic fungi on mortality of pine weevil *Hylobius abietis*. SGEM2015 Conference Proceedings, June 18–24, 2015, Book3, vol. 2, s. 551–560.
- Rell, S., 2018: Alternatívne spôsoby ochrany ihličnatých sadeníc proti tvrdoňovi smrekovému (*Hylobius abietis*). Dizertačná práca. Technická univerzita vo Zvolene.

Ing. Juraj Galko, PhD., Ing. Slavomír Rell, PhD., Ing. Michal Lalík, Ing. Milan Zúbrik, PhD.
 Národné lesnícke centrum - Lesnícky výskumný ústav Zvolen, Lesnícka ochrannárska služba, Lesnícka 11, 969 23 Banská Štiavnica, e-mail: galko@nlcsk.org

Ing. Michal Lalík
 Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta lesnická a dřevařská, Katedra ochrany lesa a entomologie, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 – Suchbát

Ing. Marek Barta, PhD.
 Ústav ekológie lesa SAV, Ľudovíta Štúra 2, 960 53 Zvolen