

# ŠTÚDIA VYUŽITIA ENTOMOPATOGÉNEJ HUBY *BEAUVERIA BASSIANA* V INTEGROVANEJ OCHRANE LESA PROTI TVRDOŇOVI SMREKOVÉMU *HYLOBIUS ABIETIS*

Michal Lalík • Juraj Galko • Slavomír Rell • Andrej Kunca • Jozef Vakula • Andrej Gubka • Christo Nikolov • Roman Leontovyč • Milan Zúbrik

Lalík, M., Galko, J., Rell, S., Kunca, A., Vakula, J., Gubka, A., Nikolov, C., Leontovyč, R., Zúbrik, M.: Study of the use of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* in integrated forest protection against the large pine weevil *Hylobius abietis*. APOL, 2022, vol. 3, no. 1, p. 37–46.

**Abstract:** The large pine weevil (*Hylobius abietis*) is an important pest of freshly planted coniferous trees. Feeding damage to conifer seedlings can be prevented by protecting the seedlings (mechanically or chemically), or by reducing *H. abietis* abundance. The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* has promise for *H. abietis* control. To test the effects of the *B. bassiana*-colonized carriers (25 mm in diameter and colonized by strain AMEP20, BB alpha and beta) on *H. abietis* adults that move into forest clearances, we performed several experiments. These included an experiment in Petri dishes under laboratory conditions and a field experiment. Infection by *B. bassiana* and mortality of *H. abietis* was confirmed in all experiments. The total mortality rate in two treatments Petri dishes with *B. bassiana* carriers was 100% after 15 and 23 days was 74%. The mortality of *H. abietis* adults was affected by the absence/presence of carriers in the bark on the block. The number of dead adults after 4 weeks of treatment in forest clearing were higher in plots with carriers than in the control plot. Mortality was highest for adults trapped in the plot with carriers on trap barks (52%), followed by the plot with carriers and an attractant (19%), and followed by the plots with carriers without an attractant (18%). The results suggest that carriers colonized by the entomopathogenic fungus *B. bassiana* could be suitable for reducing *H. abietis* abundance in forests. The results indicated that *H. abietis* adults may be infected by *B. bassiana* after only a short exposure to carriers. The *B. bassiana*-colonized carrier is ready-to-use, i.e., it could be immediately produced and applied.

**Key words:** large pine weevil; entomopathogenic fungi; carrier; forest protection

## 1. Problematika

Tvrdoň smrekový *Hylobius abietis* L. (Coleoptera: Curculionidae) je významným škodcom ihličnatých sadeníc (Eidmann 1974; Nordlander 1987). Veľké množstvo pňov vzniknutých náhodnou alebo úmyselnou ťažbou vytvárajú priaznivé podmienky pre nárast populácie *H. abietis*. Larvy sa vyvíjajú v čerstvých ihličnatých pňoch a považujú sa za užitočné pri rozklade pňov (Nordlander et al. 1997; Von Sydow & Birgersson 1997; Leather et al. 1999; Moore et al. 2004). Imága sa roja na jeseň toho istého roku alebo na jar nasledujúceho roku a pri nepriaznivých podmienkach na vývoj môže byť vývoj aj viac ročný (Nordenhem 1989). Na zabezpečenie dozrievania vajíčok musia dospelé samice *H. abietis* skonzumovať veľké množstvo potravy, zvyčajne vo forme kôry mladých sadeníc ihličnanov (Munro 1928; Nordenhem 1989; Leather et al. 1999; Örlander et al. 2000; Wainhouse et al. 2004). Na miestach, kde je hojný výskyt *H. abietis*, môžu poškodiť alebo úplne zničiť mladý porast. (Örlander & Nilsson, 1999; Day et al. 2004; Wainhouse & Brough 2007). V dôsledku toho sa zalesňovanie musí opakovať, čo môže podstatne zvýšiť náklady. Je známych veľa možností ochrany sadeníc pred poškodením mechanicky alebo formou chemickej ochrany, prípadne zber imág môže znížiť ich početnosť. Ďalším potenciálnym spôsobom zníženia poškodenia *H. abietis* je biologická kontrola prostredníctvom použitia entomopatogénnych háďatiek alebo húb (EPH) (Wegensteiner & Führer 1988). EPH oslabuje a zabíja svojich hostiteľov a následne sa živia extrakciou živín z ich tela (Ansari & Butt, 2012). Tieto huby sa považujú za environmentálne bezpečné (Zimmermann 2007), môžu sa hromadne vyrábať (Jaronski

2014) a majú značný potenciál kontrolovať rôznych lesných škodcov (Ansari & Butt 2012; Augustyniuk-Kram & Kram 2012). Je dostupných viac ako 50 produktov, ktoré obsahujú EPH, zvyčajne *Beauveria* spp., ktoré sú dostupné vo forme zmáčateľných práškov, koncentrovaných suspenzií alebo emulgovaných suspenzií (Mascarin & Jaronski 2016). Infekcie spôsobené EPF *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill., *B. brongniartii* (Sacc.) Petch a *B. caledonica* (Bissett a Widden) sú trvalo prítomné v populáciách *H. abietis*, ale ich prevalencia je zvyčajne <6 % (Williams et al. 2013; Barta et al. 2019). Všetky vývojové štádiá *H. abietis* sú citlivé na EPF, hoci druhy a kmene húb sa líšia svojou virulenciou (Ansari & Butt 2012). Objav vysoko virulentných kmeňov *B. bassiana* má tiež vysoký potenciál pre biologickú kontrolu *H. abietis*. Skonzumovaná plocha kôry bola u *H. abietis* ošetrovaných *B. bassiana* nižšia ako u tých neošetrovaných a skonzumovaná plocha kôry sa znížila, keď sa zvýšila koncentrácia konidií *B. bassiana* aplikovaná na *H. abietis* (Barta et al. 2019). Pri celoplošnom postreku EPH na veľké plochy existujú dva problémy: Po prvé, larvy a dospelí *H. abietis* sú ukryté a po druhé, postrekovanie veľkých plôch by mohlo poškodiť necieľový hmyz, pretože väčšina EPH má široké spektrum hostiteľov (Zimmermann 2007; Devi et al. 2008). Tieto problémy by sa dali vyriešiť prilákaním *H. abietis* do oblasti, kde sa EPH vyskytujú. Nosič, ktorý je kolonizovaný *B. bassiana* má guľový tvar a má priemer približne 25 mm. EPH na tomto nosiči rastú a produkujú spóry počas celej vegetačnej sezóny. Nosič *B. bassiana* bol vyvinutý v laboratóriách Lesnej ochrannárskej služby v Banskej Štiavnici (Národné lesnícke centrum, Lesnícky výskumný ústav Zvolen) bol patentovaný (PCT/SK2020/050007, Prioritné údaje: PP 79-2019).

Hlavným cieľom aktivity je testovanie biologickej účinnosti špeciálneho nosiča entomopatogénnej huby *Beauveria bassiana* na infekciu imág tvrdroňa smrekového (*Hylobius abietis*) na vybranej ploche (plochách), ktorý bol vyvinutý na LOS Banská Štiavnica.

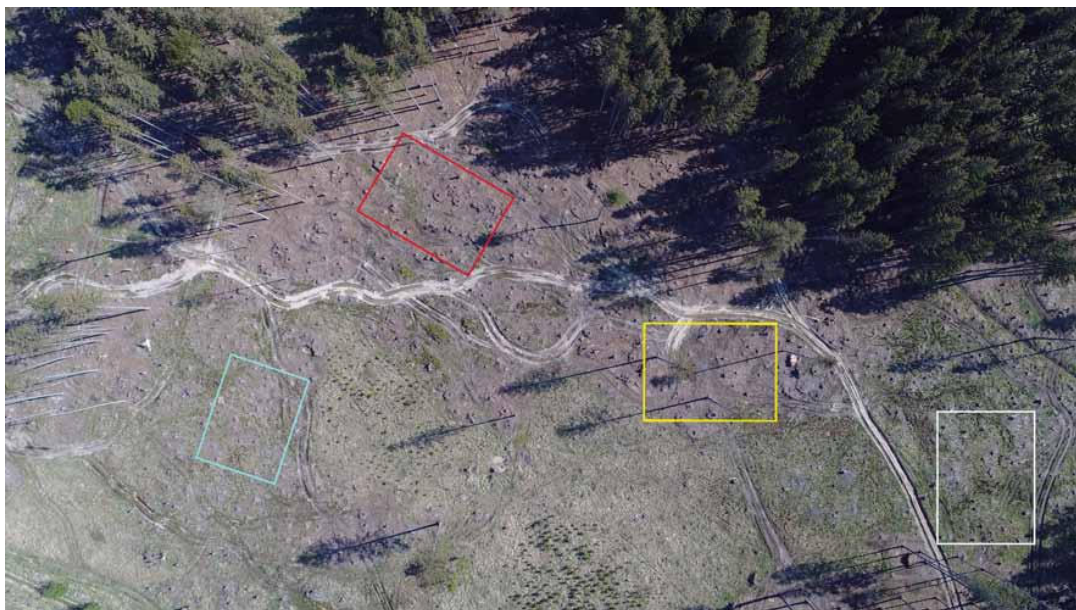
Pracovníci spoločnosti VLM SR, š. p., sa spolupodieľali na realizácii terénnych experimentov. Ich účasť na terénnych prácach pre výskum bola koordinovaná na základe pokynov NLC, pričom sa jednalo najmä o asistenciu pri výbere vhodných plôch, pri zakladaní experimentov v lesných porastoch, výrobe lapacích kôr podľa pokynov LOS, výrobe kolíkov na označenie experimentov v teréne, atď.

## 2. Materiál a metódy

### 2.1. Experiment v roku 2020

Experiment bol založený v smrekových porastoch v rámci Lesnej správy Sklené v lokalite Rovná hora. Pred založením experimentu bol vykonaný „skrining“ prítomnosti imág tvrdroňa smrekového do zemných pascí na piatich lokalitách (5 pascí na každej lokalite). Na experiment sme následne vybrali plochu s najvyššou početnosťou cieľového škodcu.

Na vybranej ploche boli založené 4 rovnako veľké bloky (obr. 1). Veľkosť bloku bola približne 15 × 25 m a vzdialenosť medzi nimi 30 až 50 m (podľa podmienok prostredia). Na jednotlivých blokoch boli vykonané nasledovné ošetrenia:



**Obrázok 1.** Rozmiestnenie blokov po ploche (1. blok biela, 2. blok žltá, 3. blok červená, 4. blok modrá)

**Figure 1.** Distribution of blocks on the surface (1st block white one, 2nd block yellow one, 3rd block red one, 4th block blue one).

**1. blok (K): Lapacie kôry bez nosiča – kontrola.** V bloku sa inštalovalo 24 ks lapacích kôr (4 rady, 6 kôr v každom rade). V kôrach sa nenachádzal nosič. Vzdialenosť medzi kôrami bola približne 5 – 6 m v závislosti od podmienok terénu. Vzdialenosť medzi radmi bola 5 až 10 m. Následne sa medzi jednotlivé kôry inštalovalo 20 ks zemných pascí (5 pascí v jednom rade) na odchyt *H. abietis*.

**2. blok (G): Samostatný nosič.** V bloku sa inštalovalo 24 ks nosičov entomopatogénnej huby, ktoré sporujú do prostredia spóry. Rozostupy ostali rovnaké, ako je opísané vyššie.

**3. blok (A): Nosič + atraktant.** V bloku sa inštalovalo 24 ks nosičov entomopatogénnej huby, ktoré sporujú do prostredia spóry, ku ktorým bol pripnutý atraktant s obsahom alfa-pinenu s etylalkoholom v pomere 1:1. Rozostupy ostali rovnaké, ako je rovnaké opísané vyššie.

**4. blok (L): Lapacie kôry s nosičom.** Kôry boli inštalované v tom istom dizajne opísanom pri prvom bloku, avšak vo všetkých lapacích kôrach sa nachádzal nosič (obr. 2a).

Na ochranu nosičov pred konzumáciou myšami a čiastočnú ochranu pred slnkom sme použili florbalové loptičky, ktoré sme narezali, aby do nich bolo možné vložiť nosič alebo nosič s atraktantom (obr. 2b). Bloky a jednotlivé rady boli v teréne vyznačené drevenými kolíkmi nastriekanými reflexnou farbou. Zemné pasce (lapače), ktorých bolo spolu 80 ks, sú upravené malé vedierka s objemom 1,2 litra s 10 otvormi (priemer 10 mm) v hornej časti lapača (obr. 2c). Pasce mali vrchnáky a boli zakopané do zeme tak, aby otvory, cez ktoré vchádzali imága, boli na povrchu pôdy. Ako atraktanty imág t *H. abietis* sa do každej pasce použili borovicové vetvičky (dĺžka 50 mm a priemer  $12 \pm 2$  mm), ktoré boli pripravené z jediného stromu borovice lesnej. Vetvička bola umiestnená do pasce spolu s 20 ml fľaškou obsahujúcou 70%-ný etylalkohol. Vrchnák fľaše mal šesť otvorov s priemerom 2 mm a jeden otvor s priemerom 4 mm. Steny zemných pascí boli ošetrené teflónovým sprejom, ktorý po uschnutí na stenách spôsobuje, že imága sa nedostanú po stenách z pasce von. Zemné pasce a fľašky s etanolom boli vyrobené pracovníkmi NLC.



**Obrázok 2.** a. nosič v lapacej kôre, b. nosič s atraktantom, c. zemná pasca s odchytenými *H. abietis*, d. odchytené imága umiestnené v laboratóriu

**Figure 2.** a. carrier in the trapping bark, b. carrier with attractant, c. ground trap with captured *H. abietis*, d. captured imago placed in a laboratory.

Odber imág bol vykonávaný minimálne po 6-tich dňoch od umiestnenia nosičov do terénu z dôvodu, aby imága prišli do kontaktu s nosičom. Zo všetkých zemných pascí sa odoberali odchytené *H. abietis* počas niekoľkých dní. Odoberali sa pinzetou, ktorá sa po každom odbere dezinfikovala etanolom a následne boli vložené do samostatných Petriho misiek, ktoré boli prevezené do laboratórií LOS (NLC) (obr. 2d). Odoberané boli aj imága, ktoré sa odchytili priamo z lapacích kôr, v ktorých boli umiestnené nosiče (LS).

## 2.2. Experiment v roku 2021

Pracovníci spoločnosti VLM SR, š. p., sa spolupodieľali na realizácii terénnych experimentov. Ich účasť na terénnych prácach pre výskum bola koordinovaná na základe pokynov NLC, pričom sa jednalo najmä o asistenciu pri výbere vhodných plôch, pri zakladaní experimentov v lesných porastoch, výrobe lapacích kôr podľa pokynov LOS, odchyte *H. abietis*, výrobe kolíkov na označenie experimentov v teréne, atď.

Za účelom rozšírenia nášho terénneho výskumu o borovicové porasty na OZ Malacky, bol vyhotovený zoznam porastov, v ktorých prebiehala ťažba v posledných rokoch. Následne bol dňa 31.03.2021 vykonaný terénny skrining vybraných plôch za účelom zistenia prítomnosti poškodenia borovicových sadeníc od zrelostného žeru *H. abietis*. Bolo skontrolovaných približne 10 porastov. Nakoľko sme nenašli počas celého dňa žiadne poškodenie na sadeniciach, ďalej sme upustili od myšlienky realizovať experimenty v tejto oblasti, nakoľko sa tu cieľový škodca nachádza len v minimálnej početnosti.

Nové terénne experimenty boli teda založené opäť v smrekových porastoch v rámci Lesnej správy Sklené. Pred založením experimentu bol vykonaný „skrining“ prítomnosti imág *H. abietis* do lapacích kôr na piatich lokalitách (5 pascí na každej lokalite). Na ďalšie experimenty sme následne vybrali plochy s najvyššou početnosťou cieľového škodcu.

Účinnosť nosiča sme dokázali v predošlých pokusoch. V novom experimente sme sa zamerali na vývoj a terénne testovanie špeciálnych chráničiek vytlačených na 3D tlačiarňi podľa vlastného návrhu (obr. 3). Chránička má dve úlohy. Jednak ochrániť samotný nosič, aby ho nekonzumovali drobné hľadavce a jednak zabrániť kontaktu nosiča s užitočnými druhmi hmyzu, ako napr. bystrušky. Chráničky mali taký priemer otvorov, aby doň prešli imága *H. abietis*, ale nie veľké bystrušky, ktoré sú chránené.



Obrázok 3. 3D tlačiareň (vľavo) a chránička v teréne (vpravo)  
Figure 3. 3D printer (left) and field protector (right).

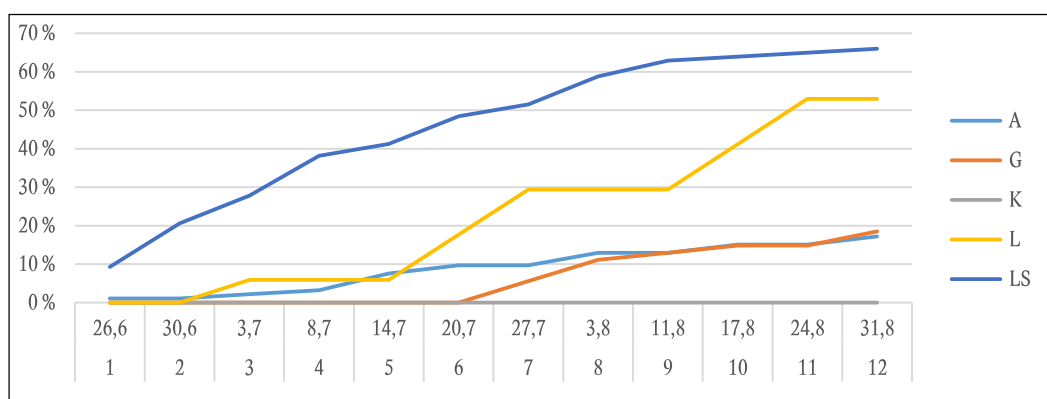
Ďalší terénny experiment v rámci LS Sklené mal za cieľ overiť účinnosť použitia nosičov priamo v lapacích kôrach, nakoľko táto kombinácia sa v predošlom roku javila ako najúčinnnejšia. Pokus bol založený na 3 plochách. Na každej ploche bolo nastavených 10 kôr s nosičmi a 10 kôr bez gúl (kontrola). Imága boli zberané priamo z lapacích kôr, následne boli prevezené do laboratória a ich stav bol kontrolovaný v pravidelných intervaloch.

Počas riešenia projektu sme získali ďalšie kmene entomopatogénnej huby *Beauveria bassiana* (pracovné názvy BB alfa a BB beta). Cieľom nášho laboratórneho pokusu bolo porovnať účinnosť a rýchlosť pôsobenia ich spór na imága *H. abietis* v porovnaní s našim používaným kmeňom (BB AMEP20) a výsledky porovnať s kontrolou. Na experiment sme použili 220 imág *H. abietis*, ktoré boli získané z LS Sklené. Imága boli rozdelené do 4 blokov (3 rôzne kmene s hubou *B. bassiana* a kontrola), v každom bloku do 11 Petriho misiek (v 1 Petriho miske bolo 5 imág). V každej miske bol kus smrekovej kôry ako potrava a kúsok navlhčenej buničiny ako zdroj vody a vlhkosti. Kontrola postupnej mortality imág bola vykonávaná každé 3–4 dni. Hodnotilo sa, či sú imága živé, resp. mŕtve a začínajú prerastať hubou.

### 3. Výsledky a diskusia

#### 3.1. Experiment v roku 2020

V laboratóriách sa v pravidelných intervaloch (niekoľko dní) sledovalo postupné prerastanie odchytených imág *H. abietis* podľa jednotlivého spôsobu ošetrovania (obr. 4). Z výsledkov jednoznačne vyplýva vplyv nosiča na mortalitu imág *H. abietis*, keď každý spôsob použitia nosiča bol výrazne lepší ako kontrola bez nosiča. Z výsledkov môžeme konštatovať, že imága odobrané z kontrolného bloku nevykázali v podstate žiadnu mortalitu. Z výsledkov vyplýva aj to, že najvyššiu priemernú mortalitu dosiahli imága *H. abietis* odobrané priamo z lapacích kôr (66 %), nasledované imágami odchytených do zemných pascí v bloku s lapacími kôrami (cez 50 %), v ktorých boli nosiče. Varianty blokov so samostatnými nosičmi, resp. nosičmi a atraktantmi dosiahli priemernú mortalitu a prerastenie odchytených imág do 20%.



Obrázok 4. Kumulatívna mortalita imág *H. abietis* počas trvania experimentu

Figure 4. Cumulative mortality of *H. abietis* imagoes during the experiment.

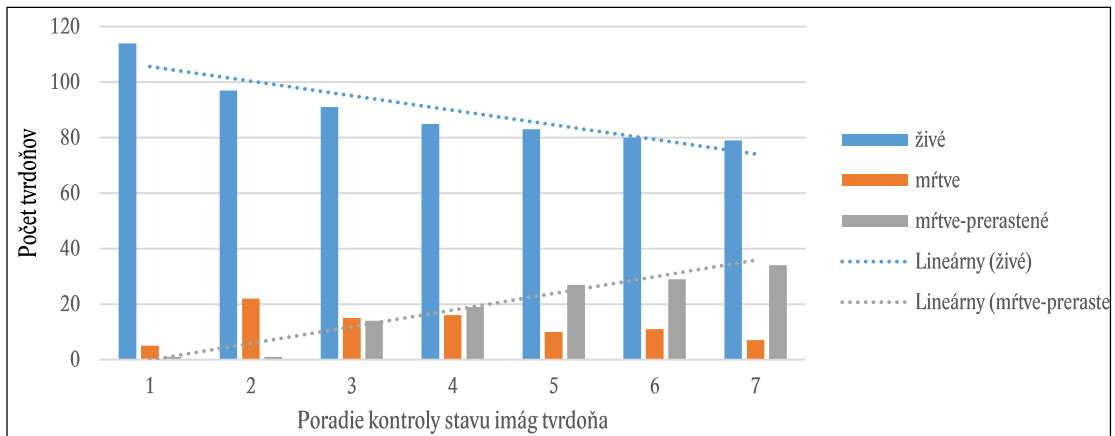
Vzhľadom na pozitívne výsledky 24-hodinovej prítomnosti nosičom pri imágach *H. abietis* v laboratórnom experimente (Lalík et al. 2021) sme očakávali, že nosiče tiež zvýšia úmrtnosť *H. abietis* v terénnom experimente. Po tom, čo boli nosiči umiestnené v teréne, sme počkali 6 dní na umiestnenie pascí, aby sa mohla rozvinúť infekcia *B. bassiana* (Barta et al. 2019). Najvyššiu mortalitu sme zaznamenali v skupine imág odobratých priamo z lapacej kôry 66 %, čo je pochopiteľné, pretože títo dospelí jedinci nepochybne prišli do kontaktu s nosičom. Na rozdiel od toho jedince odchytené z lapacej pasce sa nemuseli dostať do kontaktu s nosičom, čo má za následok zníženú mortalitu. Imága *H. abietis* sú veľmi aktívni a pohybliví. Do polovice septembra lieta 50 – 60 % novovyrojených dospelých jedincov (Tan et al. 2010). Samice môžu lietať alebo prejsť veľké vzdialenosti, aby našli vhodné miesta na kladenia vajíčok (Mráček & Šrutka 1984). Dospelé jedince *H. abietis* dokážu preletieť až 2000 m na jeden krát a počas celého života môžu preletieť viac ako 80 000 m (Solbreck & Gyldberg & 1979). V holiňách sa samce pohybujú v reakcii na iných samcov (Tilles et al. 1988) alebo v reakcii na samičie feromóny (Selander 1978). Napriek možnosti, že imága sa mohli presunúť na blok a potom do pasce bez toho, aby sa kontaktovali s nosičom, úmrtnosť imág na blokoch s nosičmi dosiahla 20 – 50 %. Na Slovensku sa prirodzená úmrtnosť v populáciách *H. abietis* pohybuje od 0 do 6 % v závislosti od dátumu odchyty. Po začiatku júla nebola pozorovaná žiadna nákaza (Barta et al., 2019). Toto sme potvrdili aj my, keď na našej kontrolnej ploche neboli odchytené imága, ktoré by následne v laboratórnych podmienkach zahynuli v dôsledku huby *B. bassiana*.

Domnievame sa, že na výsledky mohol mať vplyv aj fakt, že sa jedná o glejové podložie a počas daždivého roka 2020 bolo extrémne podmočené (dokonca boli zemné pasce vytlačené vodou) a koľaje po ťažbových mechanizmoch tvorili bariéry pre imága *H. abietis* (nakolko sa po ploche pohybujú chodením a lietajú len obmedzene).

### 3.2. Experiment v roku 2021

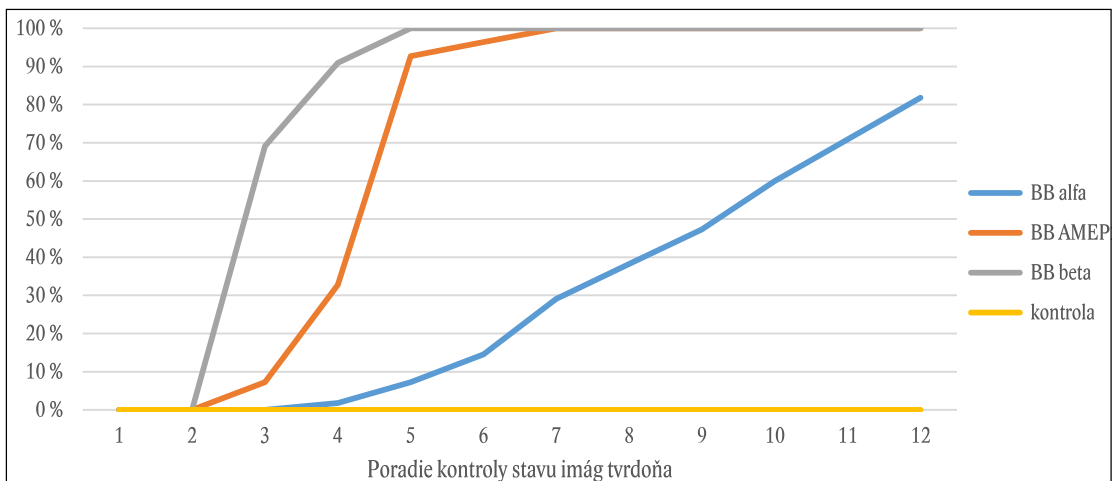
Výsledky ukázali, že chráničky dokážu zabezpečiť, aby sa bystrušky nedostali do tesného kontaktu s nosičom. Celkovo sme odchytili 87 bystrušiek, ktoré sme následne preniesli do laboratória a sledovali prerastanie. Z odchyteného množstva prerástlo 6 bystrušiek. Ďalšie druhy, ktoré sme odchytili, boli pavúky 47 ks (prerástli 4 ks), mravce 54 ks (prerástli 3 ks), lykokazy 63 ks (prerástlo 18 ks).

Sumárne výsledky zo všetkých plôch z experimentu, kde bol použitý nosič v lapacích kôrach ukázali, že živých jedincov každou kontrolou ubúdalo a naopak mortalita imág *H. abietis* a ich úspešne prerastaniu hubou postupe stúpala, čím sme opäť potvrdili účinnosť tohto nosiča v teréne (obr. 5). Imága zberané z kontroly nie sú v grafe uvedené, nakoľko sa tam nevyskytla žiadna mortalita, čo potvrdilo, že mortalita uvedená v grafe bola zapríčinená úspešnou infekciou z nášho nosiča.



**Obrázok 5.** prežívanie a mortalita imág *H. abietis* zberaných z lapacích kôr s nosičom  
**Figure 5.** Survival and mortality of *H. abietis* imago collected from carrier traps.

Z výsledkov porovnávania rôznych kmeňov huby *B. bassiana* vyplýva, že majú výrazne rozdielny vplyv na mortalitu *H. abietis*. Najlepšie výsledky dosiahol kmeň BB beta, kde v 15. deň pokusu bola dosiahnutá 100 % mortalita. Ako druhý najlepší vyšiel náš kmeň BB AMEP20, kde bola 100 % mortalita dosiahnutá na 23. deň. Kmeň BB alfa dokázal usmrtiť iba 82 % *H. abietis* na konci experimentu (obr. 6). Kontrolné jedince počas celého experimentu neuhynuli.



**Obrázok 6.** Porovnanie priebehu mortality imág *H. abietis* podľa použitého kmeňa entomopatogénnej huby *B. bassiana*  
**Figure 6.** Comparison of the course of mortality of *H. abietis* imago according to the used strain of entomopathogenic fungus *B. bassiana*.

Naifikovanie rôznymi kmeňmi hubou *B. bassiana* môže mať iný vplyv na mortalitu imág (Barta et al. 2019). Toto sa potvrdilo v laboratórnom experimente. Testovali sa tri rôzne kmeňe huby *B. bassiana*. Dva kmeňe dosiahli 100 % mortalitu imág jeden po 15 dňoch a druhý po 23 dňoch. Posledný testovaný kmeň dosiahol 82 % mortalitu imág. Podobné výsledky prezentovali Ansari & Butt (2012), ktorí uviedli, že všetky imága *H. abietis* priamo ošetrované suspenziou konídií *B. bassiana* ( $1 \times 10^8$  ml) boli usmrtené do 20 dní. V ďalšej štúdii spôsobila rovnaká koncentrácia konídií *B. bassiana* celkovú úmrtnosť imág *H. abietis* po 30 dňoch (Barta et al. 2019).

#### 4. Súhrn

Výsledky naznačujú, že nosiče kolonizované entomopatogénnou hubou *B. bassiana* by mohli byť vhodné na zníženie početnosti *H. abietis* v lesoch. Výsledky ukázali, že imága *H. abietis* môžu byť infikované *B. bassiana* už po krátkom vystavení nosičom. Opísaný nosič bol vo vývoji 5 rokov a bol testovaný v laboratórnych a prírodných podmienkach. Použitie nosičov znižuje lokálnu početnosť *H. abietis* a má minimálne účinky na ostatné bezstavovce. Ak chceme tieto účinky minimalizovať, je vhodné nosič vložiť do chráničky. Okrem toho sa zdá, že s nosičom nie je potrebné použiť atraktant, ak sa správne umiestni (ku pňu alebo k sadenici). Hoci súčasná štúdia zistila, že atraktant pri nosičoch nezvýšil úmrtnosť *H. abietis*, je potrebný ďalší výskum, aby sa zistilo, či atraktant, ktorý sa pridáva priamo k nosiču, zvyšuje úmrtnosť *H. abietis*. Kvôli ekologickým rizikám spojeným s používaním tradičných insekticídov výrobcovia pesticídov čoraz viac uvažujú o vývoji a výrobe biopesticídov. Súčasný výsledky naznačujú, že nosič s *B. bassiana* bude užitočným biopesticídum na kontrolu *H. abietis* v lesoch a možno aj na kontrolu iných hmyzích škodcov v iných poľnohospodárskych kultúrach.

#### Podakovanie

Tento článok vznikol vďaka podpore v rámci projektu „Zvyšovanie úrovne ochrany kritickej infraštruktúry – výskum nových, ekologicky akceptovateľných metód boja so škodcami lesa na území v správe podniku Vojenské lesy a majetky SR, š. p.,“ ktorý je realizovaný s finančnou podporou Ministerstva obrany Slovenskej republiky. Táto publikácia vznikla aj vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt „Centrum excelentnosti lesnícko-drevárskeho komplexu LignoSilva“; (kód ITMS: 313011S735), spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja a pre projekt „Výskum a vývoj bezkontaktných metód pre získavanie geopriestorových údajov za účelom monitoringu lesa pre zefektívnenie manažmentu lesa a zvýšenie ochrany lesov (FOMON)“ č. p. 313011V465. Práca vznikla vďaka finančnej podpore v rámci projektov APVV-18-0086, APVV-19-0116 a APVV-19-0119 financovaných agentúrou APVV a projektu „PROMOLES“ – projekt financovaný z rozpočtovej kapitoly MPRV SR (prvok 08V0301). Práca ďalej vznikla vďaka finančnej podpore z Európskeho fondu regionálneho rozvoja (ERDF) pre projekt č. 313011X531 „Rozvoj biologicky a biotechnicky orientovaných systémov ochrany lesov pred domácimi a nepôvodnými (inváznymi) organizmami“.

#### Zoznam použitej literatúry

- 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. *J. Invertebr. Pathol.*, 111: 33–40.
- Augustyniuk-Kram, A., Kram, K. J., 2012. Entomopathogenic fungi as an important natural regulator of insect outbreaks in forests (Review). In: Blanco, J. A. (ed.): *Forest Ecosystems—More than Just Trees*. InTech Press, Rijeka, Croatia, p. 265–294.
- Barta, M., Lalík, M., Rell, S., Kunca, A., Horáková, M. K., Mudrončeková, S., Galko, J., 2019: Hypocrealean fungi associated with *Hylobius abietis* in Slovakia, their virulence against weevil adults and effect on feeding damage in laboratory. *Forests*, 10: 634.

- Day, K. R., Nordlander, G., Halldorsson, G., 2004: General biology and life cycles of bark weevils. In: Lieutier, F. (ed.): Bark and Wood Boring Insects in Living Trees in Europe, a Synthesis. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, p. 331–349.
- Devi, K. U., Padmavathi, J., Rao, J. U. M., Khan, A. A. P., Mohan, M. C., 2008: A study of host specificity in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Hypocreales, Clavicipitaceae). *Biocontrol Sci. Technol.*, 18: 975–989.
- Eidmann, H. H., 1974: *Hylobius schonh.* In: Schwenke, W. (ed.): Die Forstschadlinge Europas. 2. Kafer. Paul Parey Hamburg und Berlin, p. 275–293.
- Jaronski, S. T., 2014: Mass production of entomopathogenic fungi: State of the art. In: Morales-Ramos, J. (ed.): Mass Production of Beneficial Organisms. Academic Press, Amsterdam, The Netherlands, p. 357–413.
- Lalík, M., Galko, J., Nikolov, C., Rell, S., Kunca, A., Zúbrik, M. et al., 2021: Potential of *Beauveria bassiana* application via a carrier to control the large pine weevil. *Crop Protection*, 143:1 05563.
- Leather, S. R., Day, K. R., Salisbury, A. N., 1999: The biology and ecology of the large pine weevil, *Hylobius abietis* (Coleoptera: Curculionidae): a problem of dispersal. *Bull. Entomol. Res.*, 89: 3–16.
- Mascarin, G. M., Jaronski, S. T., 2016: The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 32: 177.
- 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. Appl. Entomol.*, 128: 167–176.
- Mráček, Z., Šrůtka, P., 1984: Stav znalostí o možnostech obrany proti klikorohu borovému (*Hylobius abietis* L.) v zemích Evropy. *Zprávy lesnického výzkumu*, 29: 21–25.
- Munro, J. W., 1928: The biology and control of *Hylobius abietis* L. *Forestry*, 2: 31–39.
- Nordenhem, H., 1989: Age, sexual development, and seasonal occurrence of the pine weevil *Hylobius abietis* (L.). *J. Appl. Entomol.*, 108: 260–270.
- Nordlander, G., 1987: A method for trapping *Hylobius abietis* (L.) with a standardized bait and its potential for forecasting seedling. *Scand. J. For. Res.*, 2: 199–213.
- Nordlander, G., Nordenhem, H., Bylund, H., 1997: Oviposition patterns of the pine weevil *Hylobius abietis*. *Entomol. Exp. Appl.*, 85: 1–9.
- Örlander, G., Nilsson, U., 1999: Effect of reforestation methods on pine weevil (*Hylobius abietis*) damage and seedling survival. *Scand. J. For. Res.*, 14: 341–354.
- Örlander, G., Nordlander, G., Wallertz, K., Nordenhem, H., 2000: Feeding in the crowns of Scots pine trees by the pine weevil *Hylobius abietis*. *Scand. J. For. Res.*, 15: 194–201.
- Selander, J., 1978: Evidence of pheromone-mediated behaviour in the large pine weevil, *Hylobius abietis* (Coleoptera, Curculionidae). *Ann. Entomol. Fenn.*, 44: 105–112.
- Solbreck, C., Gyldeberg, B., 1979: Temporal flight pattern of the large pine weevil, *Hylobius abietis* L. (Coleoptera, Curculionidae), with special reference to the influence of weather. *Z. Angew. Entomol.*, 88: 532–536.
- Tan, J. Y., Wainhouse, D., Day, K. R., Morgan, G., 2010: Flight ability and reproductive development in newly-emerged pine weevil *Hylobius abietis* and the potential effects of climate change. *Agric. For. Entomol.*, 12: 427–434.
- Tilles, D. A., Eidmann, H. H., Solbreck, B., 1988: Mating stimulant of the pine weevil *Hylobius abietis* (L.). *J. Chem. Ecol.*, 14: 1495–1503.
- von Sydow, F., Birgersson, G., 1997: Conifer stump condition and pine weevil (*Hylobius abietis*) reproduction. *Can. J. For. Res.*, 27: 1254–1262.
- Wainhouse, D., Boswell, R., Ashburner, R., 2004: Maturation feeding and reproductive development in adult pine weevil, *Hylobius abietis* (Coleoptera: Curculionidae). *Bull. Entomol. Res.*, 94: 81–87.

- Wainhouse, D., Brough, S., 2007: Resistance of young conifers to feeding damage by pine weevil: information Note. Forestry Commission. <http://www.forestryresearch.gov.uk/research/archive-resistance-of-young-conifers-to-feeding-damage-by-pine-weevil-2/>. [Accessed 25 April 2022].
- Wegensteiner, R., Führer, E., 1988: Zur Wirksamkeit von *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Gegen *Hylobius abietis* L. (Col.: Curculionidae). Entomophaga, 33: 339–348.
- Williams, C. D., Dillon, A. B., Harvey, C. D., Hennessy, R., Mc Namara, L., Griffin, C. T., 2013: Control of a major pest of forestry, *Hylobius abietis*, with entomopathogenic nematodes and fungi using eradicator and prophylactic strategies. For. Ecol. Manag., 305: 212–222.
- Zimmermann, G., 2007: Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. Biocontrol Sci. Technol., 17: 553–596.
- 

**Adresa:**

Ing. Michal Lalík, Ph.D., Ing. Juraj Galko, Ph.D., Ing. Slavomír Rell, Ph.D., Ing. Andrej Kunca, Ph.D., Ing. Jozef Vakula, Ph.D., Ing. Andrej Gubka, Ph.D., Ing. Christo Nikolov, Ph.D., Ing. Roman Leontovych, Ph.D., Ing. Milan Zúbrik, Ph.D.

Národné lesnícke centrum – Lesnícky výskumný ústav Zvolen, Stredisko lesníckej ochrannárskej služby, Lesnícka 11, 969 01 Banská Štiavnica, Slovenská republika

e-mail: [michal.lalik@nlcsk.org](mailto:michal.lalik@nlcsk.org)