

ŠTÚDIA VYUŽITIA ENTOMOPATOGÉNNEJ HUBY *BEAVERIA BASSIANA* V INTEGROVANEJ OCHRANE LESA PROTI LYKOŽRÚTOVI SMREKOVÉMU *IPS TYPOGRAPHUS*

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

Rell, S., Vakula, J., Galko, J., Lalík, M., Zúbrik, M., Gubka, A., Kunca, A., Leontovyč, R., Nikolov, Ch.: Study of the use of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* in integrated forest protection against the European spruce bark beetle *Ips typographus*. APOL, 2021, vol. 3, no. 1, p. 28–36.

Abstract: The European spruce bark beetle (*Ips typographus* L.) poses a huge risk, especially for mountain areas with a predominance of spruce, where chemical treatment is difficult to apply or prohibited. Therefore, the use of biological methods, such as the use of entomopathogenic fungi (EPF) in combination with pheromone traps, can be considered. In this study, the results of such attempt is presented. The efficacy of developed carrier of EPF was monitored, as well as the efficacy of fungus *Beauveria bassiana*. These tests were performed in a field-laboratory conditions. Results show high carrier efficacy for a relatively long time. The observations also shown, that the infected imagines are able to establish a new generation, but its quality (e.g. length of maternal galleries) is affected by the rate at which the fungus kills an adult.

Key words: pheromone trap; carrier of entomopathogenic fungi; biological methods

1. Problematika

Najmä v horských lesoch na území Slovenska často dominuje smrek obyčajný (*Picea abies* L., Karst.), v podobe umelo vytvorených monokultúr, pre ktoré lykožrút smrekový (*Ips typographus* L.) (Coleoptera: Curculionidae) predstavuje obrovské riziko, zväčša pre porasty často postihované vetrovými kalamitami. Vo všeobecnosti je lykožrút druhotným škodcom, ktorý potrebuje poškodené stromy a ku premnoženiam dochádza v prípade neobmedzených možností pre množenie, napr. po víchiaciach alebo snehovým polomoch (Kreutz et al. 2004a). Ak je kalamitná hmota ponechaná v poraste, tvorí ideálne podmienky pre jeho premnoženie, následne pri nedostatku odumretej, prípadne oslabenej smrekovej hmoty, napáda aj zdravé stromy a pri početnom nápore dokáže narušiť ich prirodzený obranný mechanizmus (Kreutz et al. 2004a). Stromy tak nie sú schopné brániť sa náporu lykožrúta, čím následne vznikajú lykožrútové kalamity.

K bežným metódam regulácie početnosti lykožrúta používaným v praxi patria fytošnitárne opatrenia (Wermelinger 2004). Kým použitie lapačov slúži hlavne ako metóda monitoringu populačnej hustoty (Galko et al. 2014), fytošnitárne opatrenia sú účinné iba pokým populačná hustota lykožrúta nedosiahne kritické hodnoty (Økland et al. 2016). Možnosťou je aj použitie chemicky ošetrených lapákov, čo vyžaduje správne načasovanie (Wermelinger 2004). Pri súčasnom nátlaku na znižovanie spotreby pesticídov, ako aj ich problematická aplikácia a otázna účinnosť na stojatých stromoch, pripadá do úvahy využitie biologických metód ochrany, pri ktorých sa do prostredia vnáša patogén. V minulosti boli realizované pokusy s využitím entomopatogénnych húb (EPH), aplikáciou práškoveho média umiestneného do feromónového lapača (Vaupel & Zimmerman 1996; Kreutz et al. 2000; Kreutz 2002; Kunca 2009; Vakula et al. 2010, 2012; Grodzki & Kosibowicz 2015), avšak prenos infekcie na populáciu škodcu sa nepreukázal s dostatočnou účinnosťou. Problémom práškoveho média so spórami umiestnenými do feromónového lapača bola rýchla strata virulencie spór. Bažazy (2012) udáva nízku účinnosť v redukcii populácií lykožrúta v prírodných podmienkach, avšak laboratórne testy ukázali vysokú mortalitu imág aj lariev v uzavretých podmienkach. Riešením problému krátkej účinnos-

ti práškoveho média spór húb, by mohlo byť využitie nosiča, v ktorom by huby rástli, čo by zabezpečilo ich prežitie aj v extrémnych podmienkach feromónových lapačov. Táto metóda je jednoducho aplikovateľná a selektívna, nakoľko feromónové odparníky primárne lákajú cieľové druhy škodcov (Vakula et al. 2012).

2. Materiál a metódy

Terénno-laboratórny experiment účinnosti nosiča entomopatogénnych húb, bol vykonaný v priebehu rokov 2020 a 2021, vo Vojenských lesoch a majetkoch (VLM), na polesí Sklené. Cieľom bolo zistiť účinnosť nosiča udržať hubu *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. virulentnú v podmienkach feromónového lapača, kde je nosič často vystavený slnečnému žiareniu, suchu a teplu. Následne sa overovala schopnosť huby infikovať a usmrtiť imága I. smrekového.

Výber plôch vhodných pre uskutočnenie experimentov prebehol v polovici apríla 2020. Začiatkom júna boli v blízkosti porastovej steny smrekového porastu napadnutého lykožrútom smrekovým nainštalované feromónové lapače. Jednalo sa o lapače MultiWit, navnadené feromónovým odparníkom Pheroprax A. Odchytné vaničky lapačov s nosičom boli upravené a imága lykožrúta boli schopné opustiť ich, pričom sa nevyhli kontaktu s nosičom, kedy dochádzalo k infikovaniu. Imága boli odchyťované do 1 dcl plastových fľašiek, upevnených k odchytovej vaničke po dobu 4 hodín, v čase dňa s najvyššou letovou aktivitou imág (obr. 1). Imága z fľaštičiek boli ešte v priebehu toho dňa v laboratóriu umiestnené do Petriho misiek s kúskom čerstvej smrekovej kôry a navlhčenou buničitou vatou (obr. 2). Imága boli vizuálne kontrolované každý deň v priebehu 10 dní. Pozorovala sa schopnosť huby usmrtiť a prerásť imága (obr. 3) podľa troch hodnotiacich stupňov: imágo živé (0), mŕtve neprerastené (1) a mŕtve prerastené hubou (2) (stupeň prerastanie imágo).



Obrázok 1. Upravená zberná vanička s nosičom huby *B. bassiana*
Figure 1. Modified collection tray with carrier of *B. bassiana* fungus.



Obrázok 2. Odchytené a chované imága lykožrúta smrekového v Petriho miskách
Figure 2. Captured and bred imagines of *I. typographus* in Petri dishes.



Obrázok 3. Imágo lykožrúta smrekového prerastené mycéliom entomopatogénnej huby *Beauveria bassiana*
Figure 3. Adult of *I. typographus* overgrown with mycelium of entomopathogenic fungi *B. bassiana*.

V polovici apríla 2021 boli vybrané 2 plochy vhodné pre uskutočnenie experimentu a v máji boli v blízkosti porastovej steny smrekového porastu s čerstvo spracovanou vetrovou kalamitou nainštalované feromónové lapače. Na každej z plôch bolo 5 ks lapačov, 4 ks s nosičom entomopatogénnej huby a 1 ks kontrolný. Jednalo sa o lapače MultiWit BK, navnadené feromónovým odparníkom IT ECOLURE Tubus. Nosiče entomopatogénnej huby sme, ako predchádzajúci rok, vložili do upravených odchytovej vaničky, ktoré umožnili imágam lykožrúta opustiť ich po infikovaní. Lykožrúty boli odchyťované do 11 plastových fľašiek upevnených k odchytovej vaničke po dobu asi 24 hodín (obr. 4). Uskutočnené boli 3 odchyty počas kulminácie rojenia imág. Časť imág bolo umiestnených v laboratóriu do Petriho misiek s kúskom čerstvej smrekovej kôry (potrava) a navlhčenou buničitou vatou. Podľa rovnakých hodnotiacich stupňov ako v predchádzajúcom roku sa hodnotila schopnosť huby usmrtiť a prerásť imága v priebehu 10 dní.



Obrázok 4. Upravená odchytovej nádoba lapača s nosičmi entomopatogénnej huby a odchytovejmi fľašami
Figure 4. Modified collection tray with carriers of entomopathogenic fungus, and trapping bottles.

Časť odchytených imág bolo použitých na založenie chovu v externom inšektáriu, kde sa sledovala schopnosť infikovaných imág založiť novú generáciu v smrekových klátoch a vplyv huby na túto generáciu.

Ďalšou etapou experimentu bolo založenie klátov priamo v teréne, kde boli imága lykožrúta vedené pomocou plastovej hadice z lapača priamo na smrekové kláty. Kláty boli obalené do sieťoviny, čím sa zabránilo naleteniu klátov bez toho, aby imága prešli cez lapač s nosičom huby (obr. 5). Po 24 hodinách boli naletené kláty umiestnené do porastu a ponechané na „samo-vývoj“ (obr. 6). Polovica klátov (5 ks) bola v polovici augusta z porastu odobratá a v laboratórnych podmienkach vykonávaná ich analýza, polovica klátov bola umiestnená do fotoeklektorov, kde sa F1 generácia nechala vyvíjať.



Obrázok 5 a 6. Lapač s hadicou zvedenou ku smrekovému klátu a kláty umiestnené v poraste
Figure 5 and 6. Trap with a hose leading to the spruce log, and logs placed in the stand.

Práca je zameraná na vyhodnotenie efektu nosiča EPH s hubou *Beauveria bassiana* v lapačoch, na mortalitu imág I. smrekového. Použitá bola metóda zovšeobecnených lineárnych modelov s binomiálnou distribúciou a logit spojovacíou funkciou. Parametre modelu boli odhadované metódou maximalizácie vierohodnosti modelu. Koeficienty boli exponenciovane aby sme dostali tzv. odds-ratios, teda pomer šancí výskytu sledovaného javu.

2.1. Efekt nosiča na mortalitu imág

Prvá analýza bola zameraná na efekt nosiča *B. bassiana* oproti kontrole pri mortalite imág I. smrekového. Imága bez znakov nákazy a jedince usmrtené EPH vstupovali do modelu ako binárna závislá premenná. Mortalita sa označila nasledovne: 0 živé imága (vrátane mŕtvych imág bez mycélia); 1 mŕtvy chrobák prerastený mycéliom. Kontrolné lapače a lapače s nosičom ako nezávislá premenná.

2.2. Účinnosť nosiča zachovať hubu *Beauveria bassiana* virulentnú

V ďalšej časti práce bol analyzovaný efekt účinnosti nosiča udržať hubu *B. bassiana* virulentnú. V časti lapačov (4/10) sa menil nosič EPH po 6 týždňoch za čerstvý. Lapače s vymenenými nosičmi boli porovnávané s lapačmi, kde ostal pôvodný nosič (6/10) po celú dobu experimentu. Vyhodnocovaný bol efekt výmeny nosiča na mortalitu odchytených imág spôsobenú EPH.

3. Výsledky a diskusia

3.1. Efekt nosiča na mortalitu imág

Nosič EPH umiestnený v lapači mal výrazne vyšší pomer šancí (tab. 1) na infikovanie imág I. smrekového entomopatogénnou hubou *B. bassiana*. Niektoré imága z kontrolných lapačov boli tiež infikované.

Tabuľka 1. Odhadované parametre modelu, ktorým sa hodnotil efekt nosiča na mortalitu imág I. smrekového

Table 1. Estimated model parameters that assessed the effect of the carrier on *I. typographus* mortality.

Lapač	odds-ratios	std.error	z value	2,50 %	97,50 %	Pr(> z)
Kontrola	0,072	0,327	-8,015	0,036	0,131	<0,0001
Nosič	69,274	0,339	12,487	37,422	143,496	<0,0001

Účinnosť nosiča zachovať hubu *Beauveria bassiana* virulentnú

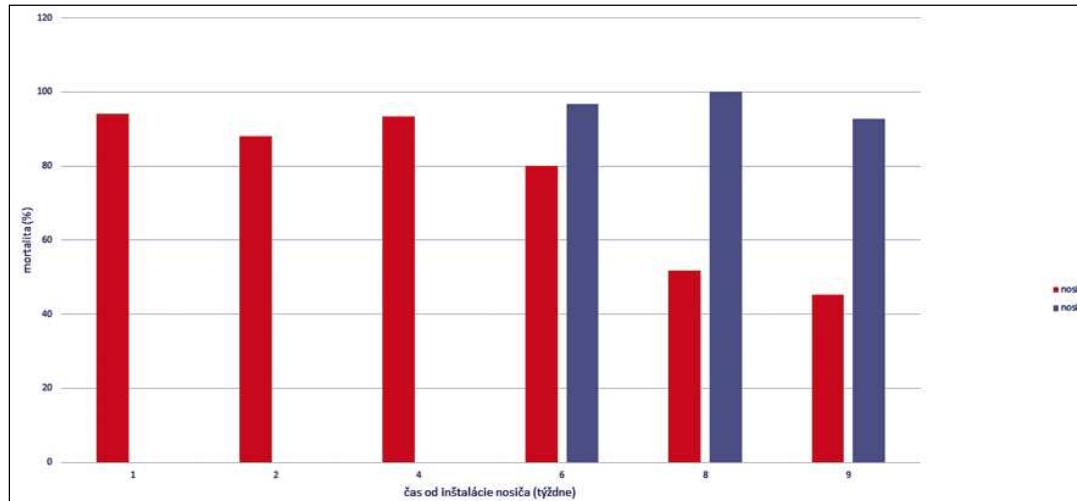
Efekt výmeny nosiča na infikovanie imág bol vyšší pri nových nosičoch (tab. 2). Pomer šancí nákazy bol 2,56 k jednej pri použití nového nosiča. Tento rozdiel bol štatisticky signifikantný.

Tabuľka 2. Odhadované parametre modelu, ktorým sa hodnotil efekt výmeny nosiča oproti lapačom, v ktorých bol ponechaný „starý“ nosič

Table 1. Estimated model parameters that evaluated the effect of carrier replacement versus traps with „old“ carrier.

Nosič	odds-ratios	std.error	z value	2,50%	97,50%	Pr(> z)
Nový	2,526	0,023	40,529	2,415	2,642	<0,0001
Starý	0,878	0,027	-4,798	0,833	0,926	<0,0001

Nosič udržal hubu vysoko virulentnú relatívne dlhé obdobie. Virulencia postupne klesala a v 6. týždni bol pre porovnanie účinnosti nosič v niektorých lapačoch vymenený za čerstvý (obr. 7).



Obrázok 7. Mortalita imág I. smrekového spôsobená hubou *B. bassiana*. z nosiča a porovnanie mortality po výmene nosiča (nosic2)

Figure 7. Mortality of *I. typographus* imagines caused by the fungus *B. bassiana*. from carrier and comparison of mortality after carrier change (nosic2).

K usmrteniu imága hubou došlo priemerne za 5 dní, pričom k prvotným úhynom dochádzalo už dva až tri dni od infikovania a značné percento imág uhynulo v priebehu 8 dní od infikovania. Medzi jednotlivými odchytmi boli rozdiely v priemere času, za aký huba dokázala imága usmrtiť nevýznamné. Počas experimentu došlo aj k úhynu 20 % imág odchytých z kontrolného lapača (bez nosiča huby).

Pri chovoch založených infikovanými imágami sme pozorovali prerastanie rodičovských imág (obr. 8). Značné percento z nich uhynulo ešte pred tým, ako sa dokázali zavrtáť do klátov. Infekcia sa objavila aj pri kontrolnom kláte, kde sa zrejme rozšírila vzduchom.



Obrázok 8. Imága I. smrekového prerastené entomopatogénnou hubou *B. bassiana*

Figure 8. Imagines of *I. typographus* with entomopathogenic fungus *B. bassiana* infection.

Pri analýze klátov ponechaných v teréne do polovice septembra sme v kontrolnom kláte nepozorovali infekciu hubou *B. bassiana* a v požerkoch boli kukly, prípadne čerstvo vyliahnuté chrobáky. Pri klátoch s infikovanými imágami sme takmer v každom požerku našli prerastené rodičovské imága (obr. 9), približne 50 % imág z celkového počtu. Pozorovali sme tiež, že niektoré materské chodby boli krátke s nízkym počtom lariev alebo nedošlo ku nakladeniu vajíčok. Domnievame sa, že vplyv na schopnosť založiť potomstvo mala rýchlosť akou huba usmrtila imága.

Napriek tomu, že väčšina rodičovských imág bola prerastená, na potomstve sme neobjavili infekciu hubou *B. bassiana*, čo môže byť spôsobené tým, že vajíčka sú uložené v lôžku, kryté a larvy postupne za sebou chodby upchávajú drvinou a trusom. Avšak, mladé imága pred vyletením vykonávajú zre-

lostný žer pod kôrou kde sa vyliahli. Predpokladáme, že takto môže dôjsť ku ich infekcii pri kontakte s prerastenými rodičovskými imágami. Z dôvodu ďalších pozorovaní bola druhá polovica klátov ponechaná v poraste do začiatku septembra, a následne presunutá do fotoeklektorov v laboratóriu, kde lykožrúty dokončia svoj vývin.



Obrázok 9. Požerky lykožrúta s prerastenými rodičovskými imágami hubou *B. bassiana*
Figure 9. Galleries of *I. typographus* with parental imagines overgrown by *B. bassiana*.

Výsledky experimentu aplikácie EPH *B. bassiana* do feromónových lapačov pomocou vyvíjaného nosiča ukázali vysokú účinnosť relatívne dlhé obdobie. Na rýchlosť, akou huba dokáže imágo usmrtiť má vplyv viacerých faktorov. Medzi hlavné patrí koncentrácia spór, ktoré sa na imágo zachytia. Aj nízke koncentrácie sú schopné imágo usmrtiť (Ansari & Butt 2012), avšak tento proces trvá dlhšie. Ku ďalším patrí životaschopnosť spór, kde poveternostné podmienky (napr. teplota, vlhkosť, UV žiarenie) (Moore et al. 1993; Morley-Davies et al. 1996) priamo ovplyvňujú klíčenie a prežívanie spór. V predchádzajúcich experimentoch obdobného charakteru bolo médium so spórmi EPH aplikované do lapača vo forme prášku a dochádzalo ku rýchlej strate virulencie spór (Kunca 2009; Vakula et al. 2010, 2012; Grodzki & Kosibowicz 2015), pravdepodobne v dôsledku vysokých teplôt, prípadne navlhnutím práškového média a tým stratou prilnavosti na imágo. Pri aplikácii huby pomocou nosiča, si spóry udržali vysokú virulenciu v podmienkach feromónových lapačov, čo pripisujeme tomu, že nosič je v čase aplikácie do lapača prerastený mycéliom huby, ktoré pri krátkodobých nepriaznivých podmienkach (denné teplotné maximá) dokáže prežiť vo vnútri nosiča a následne znovu vyrásť na povrch a produkovať spóry. Virulencia huby bola pozorovaná na mortalite odchytených imág *I. smrekového*. Pre porovnanie účinnosti nosiča z časového hľadiska, bol tento v niektorých lapačoch vymenený. Po tejto výmene sa potvrdila signifikantne vyššia virulencia huby z čerstvého nosiča, čo pripisujeme postupnému vysychaniu média, prípadne postupnému vyčerpaniu živín v médiu. Počas experimentu došlo aj k úhynu 20 % imág odchytených z kontrolného lapača (bez nosiča huby), pričom na časti bola pozorovaná infekcia hubou *B. bassiana*. Zdroj infekcie mohol byť z prírodného prostredia kde sa *B. bassiana* prirodzene vyskytuje (Kram & Kram 2012; Meyling & Eilenberg 2006; Landa et al. 2001; Reay et al. 2010) alebo prenosom spór patogénu vzduchom z lapačov s nosičom. Tieto boli od seba umiestnené približne 20 metrov. Genetická analýza kmeňov *B. bassiana* nebola vykonaná. Z toho dôvodu by zrejme v budúcich experimentoch bolo vhodné umiestniť kontrolné lapače vo väčšej vzdialenosti od lapačov s nosičom EPH a tiež vykonať genetickú analýzu huby infikovaných imág v kontrolných lapačoch.

Experiment teda potvrdil schopnosť nosiča udržať hubu *B. bassiana* virulentnú aj v podmienkach lapača, tiež vysokú účinnosť huby v laboratórnych podmienkach. Podobné výsledky v laboratórnych podmienkach vykazujú aj práce viacerých autorov (Wegensteiner 1996; Kreutz et al. 2004b). Cieľom je aj úspešná aplikácia patogéna do populácie škodcu. Podľa doterajších pozorovaní sú aj infikované imágo schopné založiť novú generáciu. Čerstvo vyliahnuté imágo následnej generácie ešte pred vyletením vykonávajú tzv. zrelostný žer. Predpokladáme, že takto môže dôjsť ku vertikálnemu prenosu infekcie pri kontakte so spórmi z už prerastených rodičovských imág. Túto hypotézu je však potrebné overiť.

Výhodou využitia entomopatogénnych húb v boji proti lykožrútovi smrekovému je ekologickosť, pretože sú prirodzenou súčasťou prírodného prostredia (Kram & Kram 2012; Meyling & Eilenberg 2006; Landa et al. 2001; Reay et al. 2010) a boli pozorované na podkôrných druhoch hmyzu, najčastejšie na *Ips typographus* (Kirschner 2001; Wegensteiner 2004; Wegensteiner et al. 2007 a, b; 2015 a, b), *Ips sexdentatus* (Draganova et al. 2010; Takov et al. 2012). Nepredstavujú nebezpečenstvo pre vtáky, ryby a cicavce (Zimmermann 1993, 2007) a nepredstavujú riziko pre ľudí alebo životné prostredie (Strasser et al. 2000; Dabro & Thomas 2009). V kombinácii s feromónovým lapačom je táto metóda selektívna, nakoľko feromónové odparníky primárne lákajú cieľové druhy škodcov (Vakula et al. 2012). Výhodou je tiež ich schopnosť produkovať nové konídiá na uhynutých jedincoch. Konídiá sú tiež schopné udržať si za priaznivých podmienok (v pôde, hrabanke) klíčivosť aj niekoľko mesiacov (Ansari & Butt 2012).

Podakovanie

Práca vznikla vďaka finančnej podpore 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, projektu „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 a projektov APVV-19-0116 a APVV-19-0119.

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. *Journal of Invertebrate Pathology*, 111(1): 33–40.
- Bałaży, S., 2012: Antagonistyczne oddziaływania pomiędzy bezkręgowcami a ich patogenami grzybowymi w żerowiskach kambio-i ksylofagów. *Ochrona lasu – wybrane problemy historyczne i współczesne*. Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, p. 51–63.
- Dabro, J. M., Thomas, M. B., 2009: Spore persistence and likelihood of aeroallergenicity of entomopathogenic fungi used for mosquito control. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 80(6): 992–997.
- Draganova, S., Takov, D., Doychev, D., 2010: Naturally-occurring entomopathogenic fungi on three bark beetle species (Coleoptera: Curculionidae) in Bulgaria. *Pesticides and phytomedicine (Pesticidi i fitomedicina)* (Belgrade) 25: 59–63.
- Galko, J., Nikolov, Ch., Rell, S., Kunca, A., Vakula, J., Gubka, A., Zúbrik, M., 2014: Vývoj nových typov feromónových lapačov. In: Kunca, A. (ed): *Proceedings of the 23rd conference „Aktuálne problémy v ochrane lesa 2014“*, Nový Smokovec, 23. 4. – 24. 4. 2014, p. 182–187.
- Grodzki, W., Kosibowicz, M., 2015: An attempt to use the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. in forest protection against the bark beetle *Ips typographus* (L.) in the field.
- Kirschner, R., 2001: Diversity of filamentous fungi in bark beetle galleries in central Europe. *Trichomyces and other fungal groups*, p.175–196.
- Kram, A. A., Kram, K. J., 2012: Entomopathogenic Fungi as an Important Natural Regulator of Insect Outbreaks in Forests (Review). In: J. A. Blanco (ed.): *Forest Ecosystems – More than Just Trees*, 482 p.
- Kreutz, J., 2002: Möglichkeiten einer biologischen Bekämpfung des Buchdruckers, *Ips typographus* L. (Col., Scolytidae), mit insektenpathogenen Pilzen in Kombination mit Pheromonfallen. *Dissertation, Universität des Saarlandes, Saarbrücken*, p. 189.

- Kreutz, J., Zimmermann, G., Marohn, H., Vaupel, O., Mosbacher, G., 2000: Preliminary investigations on the use of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and other control methods against the bark beetle, *Ips typographus* L. (Col., Scolytidae) in the field. IOBC/WPRS-Bulletin, 23: 167–173.
- Kreutz, J., Zimmermann, G., Vaupel, O., 2004a: Horizontal transmission of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* among the spruce bark beetle, *Ips typographus* (Col., Scolytidae) in the laboratory and under field conditions. Biocontrol Science and Technology, 14(8): 837–848.
- Kreutz J., Vaupel O., Zimmermann, G., 2004b: Efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the spruce bark beetle, *Ips typographus* L., in the laboratory under various conditions. Journal of Applied Entomology, 128(6): 384–389. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2004.00813>.
- Kunca, A., Vakula, J., Leontovych, R., Gubka, A., 2009: Využitie entomopatogénnej huby *Beauveria bassiana* v ochrane smreka. Aktuálne problémy v ochrane lesa. Zvolen, Národné lesnícke centrum Zvolen, p. 91–97.
- Landa, Z., Horňák, P., Bursová, E., 2001: Entomopatogénne houby asociované s lýkožroutem smrkovým *Ips typographus* L. (Coleoptera, Scolytidae) v oblasti NP a CHKO Šumava. Aktuality šumavského výzkumu, p. 124–128.
- Meyling, N. V., Eilenberg, J., 2006: Occurrence and distribution of soil borne entomopathogenic fungi within a single organic agroecosystem. Agri., Ecos. & Environ., 113: 336–341.
- 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. Ann. Appl. Biol., 122: 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. Mycol. Res., 100: 31–38.
- Økland, B., Nikolov, C., Krokene, P., Vakula, J., 2016: Transition from windfall-to patch-driven outbreak dynamics of the spruce bark beetle *Ips typographus*. Forest Ecology and Management, 363: 63–73.
- Reay, S. D., Brownbridge, M., Gicquel, B., Cummings, N. J., Nelson, T. L., 2010: Isolation and characterization of endophytic *Beauveria* spp. (Ascomycota: Hypocreales) from *Pinus radiata* in New Zealand forests. Biological Control, 54(1): 52–60.
- Strasser, H., Vey, A., Butt, T. M., 2000: Are there any risks in using entomopathogenic fungi for pest control, with particular reference to the bioactive metabolites of *Metarhizium*, *Tolypocladium* and *Beauveria* species? Biocontrol Science and Technology, 10(6): 717–735.
- Takov, D., Doychev, D., Linde, A., Draganova, S. A., Pilarska, D. K., 2012: Pathogens of bark beetles (Curculionidae: Scolytinae) and other beetles in Bulgaria. Biologia, 67(5): 966–972.
- Vakula, J., Varkonda, Š., Galko, J., Gubka, A., Kunca, A., Zúbrik, M., 2010: Rozvoj súčasných technických možností pri štúdiu niektorých spôsobov aplikácie entomopatogénnej huby *Beauveria bassiana* v rámci biologických metód ochrany lesa. Aktuálne problémy v ochrane lesa. Zvolen, Národné lesnícke centrum, p. 64–68.
- Vakula, J., Gubka, A., Galko, J., Varkonda, Š., 2012: Aplikácia entomopatogénov do populácie škodcov s využitím feromónových lapačov. Aktuálne problémy v ochrane lesa. Zvolen, Národné lesnícke centrum, p. 92–96.
- Vaupel, O., Zimmermann, G., 1996: Orientierende Versuche zur Kombination von Pheromonfallen mit dem insektenpathogenen Pilz *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. gegen die Borkenkäferart *Ips typographus* L. (Col., Scolytidae). Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz, 69(8): 175–179.
- Wegensteiner, R., 1996: Laboratory evaluation of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the bark beetle, *Ips typographus* (L.) (Coleoptera, Scolytidae). Bulletin OILB/SROP, 19(9): 186–189.
- Wegensteiner, R., Weiser, J., 2004: Annual variation of pathogen occurrence and pathogen prevalence in *Ips typographus* (Coleoptera, Scolytidae) from the BOKU University Forest Demonstration Centre. Journal of Pest Science, 77(4): 221–228.

- Wegensteiner, R., Pernek, M., Weiser, J., 2007a: Occurrence of *Gregarina typographi* (Sporozoa: Gregarinidae) and *Metschnikowia* cf. *typographi* (Ascomycota: Metschnikowiaceae) in *Ips sexdentatus* (Coleoptera: Scolytidae) from Austria. IOBC WPRS BULLETIN, 30(1): 217.
- Wegensteiner, R., Epper, C., Wermelinger, B., 2007b: Untersuchungen über das Auftreten und die Dynamik von Pathogenen bei *Ips typographus* (Coleoptera, Scolytidae) in Befallsherden. Mitt. Schweiz. Entomol. Ges., 80: 79–90.
- Wegensteiner, R., Wermelinger, B., Herrmann, M., 2015a: Natural enemies of bark beetles: predators, parasitoids, pathogens, and nematodes. Bark Beetles, p. 247–304.
- Wegensteiner, R., Tkaczuk, C., Bałazy, S., Griesser, S., Rouffaud, M. A., Stradner, A., Steinwender, B. M., Hager, H., Papierok, B., 2015b: Occurrence of pathogens in populations of *Ips typographus*, *Ips sexdentatus* (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae) and *Hylobius* spp. (Coleoptera, Curculionidae, Curculioninae) from Austria, Poland and France. Acta Protozoologica, 2015(3): 219–232.
- Wermelinger, B., 2004: Ecology and management of the spruce bark beetle *Ips typographus*—a review of recent research. Forest ecology and management, 202(1–3): 67–82.
- Zimmermann, G., 1993: The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. Pest Management Science, 37(4): 375–379.
- Zimmermann, G., 2007: Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. Biocontrol Science and Technology, 17(6): 553–596.
-

Adresa:

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

Národné lesnícke centrum – Lesnícky výskumný ústav Zvolen, Stredisko lesníckej ochrannárskej služby, Lesnícka 11, 969 01 Banská Štiavnica, Slovenská republika
e-mail: slavomir.rell@nlcsk.org