

ROZVOJ SÚČASNÝCH TECHNICKÝCH MOŽNOSTÍ PRI ŠTÚDIU NIEKTORÝCH SPÔSOBOV APLIKÁCIE ENTOMOPATOGÉNNEJ HUBY *BEAUVERIA BASSIANA* V RÁMCI BIOLOGICKÝCH METÓD OCHRANY LESA

Jozef Vakula • Štefan Varkonda • Juraj Galko
• Andrej Gubka • Andrej Kunca • Milan Zúbrik

Úvod a problematika

Jedným z možných opatrení v boji s podkôrným hmyzom je využitie biologických metód, ktoré sú dôležitou súčasťou integrovanej ochrany lesa. Biologická ochrana je ekologickým spôsobom boja, ktorý má rastúci význam a do budúcnosti sa predpokladá zvyšovanie jeho podielu. Tento spôsob ochrany nachádza svoje uplatnenie v územiach, kde je chemický prístup nežiaduci, ako sú napr. pásma ochrany vodných zdrojov alebo územia s vyšším stupňom ochrany prírody. Jednou z biologických metód, ktoré sa v dnešnej dobe okrem poľnohospodárstva využívajú aj v lešnictve sú entomopatogénne huby, ktoré sú významným mortalitným faktorom, podieľajúcim sa na udržiavaní rovnováhy v populáciách hmyzu. Jedná sa najmä o entomopatogénnu hubu *Beauveria bassiana*. Táto huba je účinnou zložkou prípravku Boverol (Fytovita, s. r. o., ČR), ktorý bol použitý v našich pokusoch. Tento prípravok bol po úspešných laboratórnych pokusoch realizovaných v západnej Európe použitý proti lykožrútovi smrekovému v terénnych podmienkach (KREUTZ, VAUPEL, ZIMMERMANN 2004, KREUTZ, ZIMMERMANN, VAUPEL 2004).

Beauveria bassiana je neselektívna entomopatogénna huba, to znamená, že môže atakovať široké spektrum hmyzu, aj užitočného. Z tohto dôvodu by sa mala aplikovať tak, aby sa nedostala do kontaktu s necieľovými druhmi hmyzu. Jedným z takýchto spôsobov je využitie infikovaných feromónových lapačov, ktoré sú vysoko selektívne, to znamená, že lákajú výhradne jeden druh (podľa použitého feromónu). Jedná sa o spojenie biotechnických a biologických metód, teda kombináciu feromónom vnadených lapačov s prípravkom Boverol. K infekcii lykožrútov dochádza ich priamim kontaktom so spórami huby v upravených zberných nádobách lapačov, z ktorých sa chrobáky dostávajú samovoľne späť do prostredia a tu následne infikujú ďalšie jedince v populácii. Výskumným zámerom pokusu bolo overiť účinnosť lapačov Multiwit BK pri ich kombinácii s Boverolom a zistiť biologickú účinnosť prípravku Boverol na imága lykožrúta smrekového.

Materiál a metodika

Testy prebiehali v roku 2009 na území Vojenských lesov a majetkov SR, š. p., polesie Sklené (Kremnické vrchy). Výskumná plocha (čerstvá holina po ťažbe) sa nachádzala v nadmorskej výške 710 – 730 m n. m., expozícia svahu bola severozápadná a expozícia porastovej steny južná až juhovýchodná (GPS: N 48°45,399', E 18°51,727'). Tu boli 21. 4. postavené trojice feromónových lapačov typu Ecotrap (Fytofarm, s. r. o.) a Multiwit BK (Witasek Pflanzenschutz GmbH, Rakúsko) navnadené odparníkom IT Ecolure Extra (Fytofarm, s. r. o.). Lapače boli postavené do trojitých zostáv (obr. 1, 2). Lapače Ecotrap do tzv. trio zostáv a lapače Multiwit BK do tzv. hviezdíc. Zostavy boli postavené striedavo vo vzdialenosti 20 – 25 metrov od porastovej steny, s rozstupom medzi jednotlivými zostavami 30 metrov. Použitých bolo spolu 18 lapačov Ecotrap (6 zostáv) a 15 lapačov

Multiwit BK (5 zostáv), spolu v 11-tich zostavách. Vyberané a kontrolované boli v 2-týždňových intervaloch. Prvý odber bol vykonaný po prvom týždni od inštalácie, kedy boli zároveň lapače Multiwit BK infikované prípravkom Boverol. Lapače Ecotrap neboli infikované, slúžili iba na odchyt lykožrúta smrekového. Jednotlivé lapače v zostave boli označené písmenami A, B a C (zľava do prava).



Obrázok 1, 2. Zostavy lapačov Ecotrap trio (vľavo) a Multiwit BK hviezdica (vpravo)

Lapače Multiwit BK sú novým typom štrbinových lapačov, ktoré majú upravenú zbernú nádobu tak, aby bola zrážková voda odvádzaná a neprichádzala do kontaktu s odchytenými lykožrútkami. Toto je zabezpečené odtokovým kanálom, s dvoma postrannými otvormi. Tento systém zabraňuje rýchlemu rozkladu odchytených lykožrútkov v zbernej nádobe a zároveň negatívneho vplyvu odpudzujúcich pachov na ďalšie chytané lykožrútky, čoho výsledkom je vyšší odchyt. Výhody tohto nového systému sme využili aj na zabránenie kontaktu vody s Boverolom. Do každej zostavy bol použitý jeden odparník, ktorý bol dopĺňaný 2-krát (12. 6. a 4. 8.), spolu bolo použitých za sezónu 33 odparníkov. Po prvom týždni boli do jedného lapača každej hviezdice Multiwit BK (lapač A) pridané špeciálne upravené vložky obsahujúce prípravok Boverol (obr. 3). Zároveň boli na dne zbernej nádoby takto ošetrených lapačov odstránené dva spodné perforované uzávery, ktoré umožnili infikovaným lykožrútkom návrat do prostredia. V priebehu celého pokusu bola vložka vymenená 5-krát. Ostatné neinfikované lapače v zostavách (lapač B a C) slúžili na odchyt lykožrúta smrekového a zároveň na zistenie počtu lykožrútkov, ktoré opustili infikovaný lapač. Pri odbere vzoriek lykožrútkov na rozbor sa dočasne pripevnila na jeden spodný otvor plastová nádoba (obr. 4). Lykožrútky, ktoré sa do nádoby odchytili boli v laboratóriu chované v Petriho miskách, na navlhčenom filtračnom papieri alebo na čerstvej smrekovej kôre. Následne bola na nich sledovaná po 5-tich dňoch mortalita a prítomnosť huby (infekcia). Spolu bolo vykonaných 6 odberov. Odobratých bolo vždy 10 kusov infikovaných a 10 kusov neinfikovaných lykožrútkov (kontrola). Na sledovanie teploty a vlhkosti vzduchu v zberných nádobách lapačov Multiwit BK boli použité merače Dataloger Minikin TH (EMS Brno).

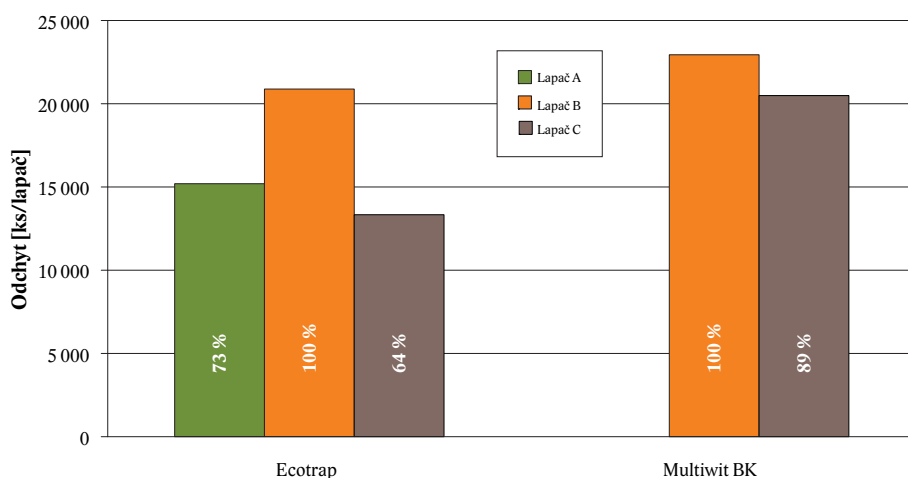


Obrázok 3, 4. Infikovaná vložka v zbernej nádobe lapača (vľavo) a zberná nádoba s fľašou na odber vzoriek určených na laboratórny rozbor (vpravo)

Výsledky

Porovnanie odchyto do lapačov Multiwit BK a Ecotrap

Počet odchytených jedincov lykožrúta smrekového do zostáv lapačov Ecotrap a Multiwit BK je zobrazený na obrázku 5. Pri porovnaní priemerných celosezónnych odchyto na 1 lapač (len do lapačov B a C) dosahoval odchyt do Ecotrapov 78,7 % (17 129 ks/lapač) z odchyto do Multiwitov (21 758 ks/lapač). Lapače A neboli do vyhodnotenia zahrnuté pretože údaje z lapačov Multiwit BK chýbali (boli infikované a otvorené). Lapače v zostavách Ecotrap dosahovali 52 – 99 % odchyto z zostáv Multiwit BK. Tieto rozdiely však neboli štatisticky významné ($p = 0,34$, ANOVA test). Tento výsledok bol spôsobený pravdepodobne väčšou nárazovou plochou zostáv Multiwit BK, prípadne dlhšou trvácnosťou feromónu v týchto lapačoch (nižšia teplota). Najvyšší odchyt do jednotlivých lapačov v zostavách bol do lapača B, v ktorom bol umiestnený odparník (100 %). Lapače A dosahovali v zostavách Ecotrap priemerne 73 % a lapače C 64 % z odchyto do lapača A. V zostavách Multiwit BK to bolo do lapačov C priemerne 89 % z odchyto do lapačov B.



Obrázok 5. Celosezónny odchyt lykožrúta smrekového do jednotlivých lapačov v trojitých zostavách Ecotrap a Multiwit BK

Teplota a vlhkosť vzduchu

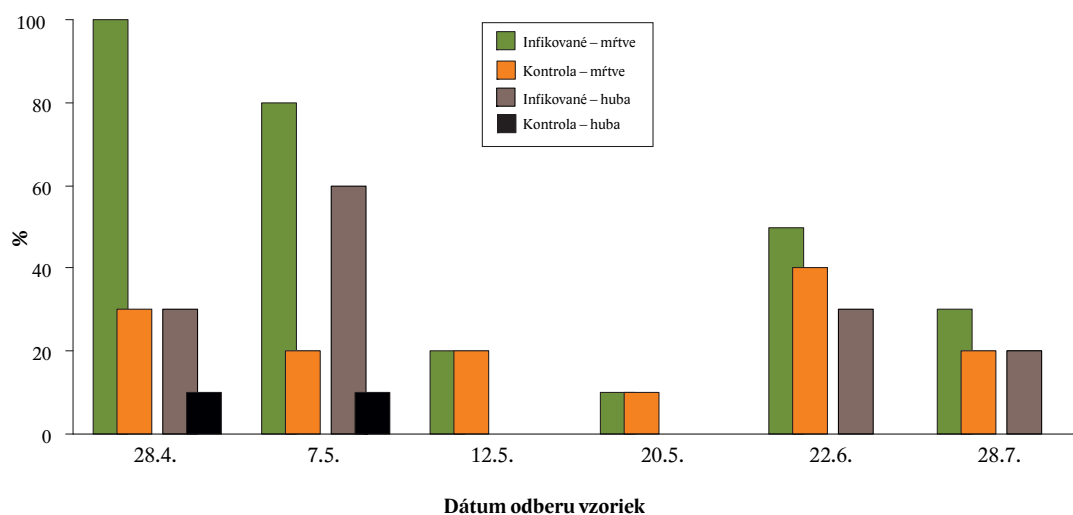
Teplota a vlhkosť vzduchu sú významnými faktormi prostredia, ktoré ovplyvňujú prežívanie a účinnosť spór entomopatogénnej huby v lapači. Jedná sa predovšetkým o maximálne a minimálne hodnoty týchto veličín, teda o ich extrémny. Maximálne denné teploty vzduchu v zbernej nádobe lapača Multiwit BK dosahovali hodnoty +15,9 až +38,2 °C. Najvyššie hodnoty maximálnych teplôt boli zaznamenané v najteplejších mesiacoch júl a august. Minimálne denné teploty dosahovali hodnoty +4,0 až +16,3 °C. Aj napriek tomu, že zberná nádoba lapača bola priehľadná, teploty boli vysoké a rovnako aj extrémny hodnot vlhkosti sa pohybovali v lapači na vysokých hodnotách (18,9 – 100 %).

Testy infekcie lykožrúto odobratých zo zbernej nádoby lapača Multiwit BK

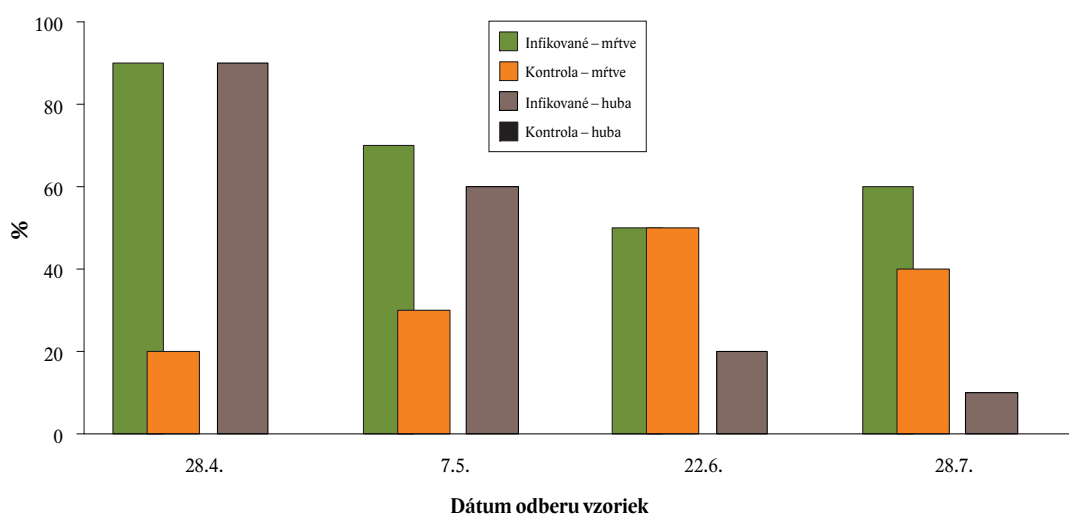
Na zistenie, či boli lykožrúty ktoré sa dostali do kontaktu s prípravkom Boverol infikované hubou *Beauveria bassiana* boli odoberané imága. Tieto vzorky imág boli v laboratóriu chované v Petriho miskách, buď na navlhčenom filtračnom papieri alebo na smrekových kúskoch kôry. V prípade infekcie sa na povrchu lykožrúto objavili biele povlaky huby.

Pomer mŕtvych lykožrútov chovaných na **filtračnom papieri** bol po 5-tich dňoch v infikovanom variante priemerne 48,3 % (10 – 100 %) a v kontrolnom variante priemerne 23,3 % (10 – 40 %) (obr. 6). Aj keď rozsah súboru nebol veľký, bola vykonaná štatistická analýza ANOVA, v ktorej sa nepotvrdila štatistická významnosť v mortalite medzi infikovaným variantom a kontrolným variantom ($p = 0,128$). Pri hodnotení prítomnosti infekcie sa po 5-tich dňoch vyskytli biele povlaky huby na 23,3 % (0 – 60 %) imág v infikovanom variante, a len 3,3 % (0 – 10 %) imág v kontrolnom variante chovaných na filtračnom papieri. Prípady infekcie sa vyskytli aj na kontrolnom variante, čo mohlo byť spôsobené prenosom spór z infikovaných imág v laboratóriu (nedostatočná sterilizácia laboratórneho náradia). Rozdiely medzi infikovaným variantom a kontrolou neboli štatisticky významné ($p = 0,059$).

Pomer mŕtvych lykožrútov chovaných na **čerstvej kôre** bol po 5-tich dňoch v infikovanom variante priemerne 67,5 % (50 – 90 %) a v kontrolnom variante priemerne 35 % (20 – 50 %) (obr. 7). Získané výsledky boli štatisticky významné ($p = 0,023$). Pri hodnotení prítomnosti infekcie sa po 5-tich dňoch vyskytli biele povlaky huby na 45 % (10 – 90 %) imág v infikovanom variante, a na žiadnom imágu v kontrolnom variante. Rozdiely medzi infikovaným variantom a kontrolou boli štatisticky významné ($p = 0,014$).



Obrázok 6. Mortalita a infekcia lykožrútov 5. deň od začiatku chovu v Petriho miskách chovaných na filtračnom papieri



Obrázok 7. Mortalita a infekcia lykožrútov 5. deň od začiatku chovu v Petriho miskách chovaných na čerstvej kôre

Záver

Celosezónne odchyty lykožrúta smrekového boli do lapačov v zostavách Multiwit BK vyššie ako odchyty do lapačov v zostavách Ecotrap, no tieto rozdiely neboli štatisticky významné. Konštrukcia lapačov Multiwit BK po menších úpravách vyhovuje na aplikáciu prípravku Boverol. Systém zabezpečuje odvádzanie zrážkovej vody a zabráňuje tak jej kontaktu s biologickým prípravkom. Tento prípravok je však možné využiť aj v upravených lapačoch Ecotrap. Chov lykožrútov na čerstvých kôrach je vhodnejší, ich mortalita vplyvom neznámych príčin je nižšia, ako pri chove na filtračnom papieri. Rovnako aj podmienky pre úspešné vyklíčenie spór huby sú v kôre vhodnejšie. Mortalitu imág ovplyvňuje do značnej miery celková kondícia lykožrútov a podmienky prostredia, ktoré môžu negatívne vplyvať na samotného hostiteľa ako aj na biologický prípravok.

V ďalších pokusoch bude potrebné minimalizovať vplyv nežiaducich podmienok prostredia (extrémny vlhkosť a teploty) a tým znížiť veľkú variabilitu získaných výsledkov. Pri samotnej aplikácii prípravku je nevyhnutné dodržať podmienky uvedené výrobcom, keďže sa jedná o živý organizmus (spóry huby). Preto nemusí vždy spôsobiť dostatočnú mortalitu lykožrútov, i keď sa tieto s hubou dostanú do priameho kontaktu. Zároveň bude potrebné preveriť po akom časte bude potrebné prípravok v lapači vymeniť, aby zabezpečoval požadovanú účinnosť.

Podakovanie

Tento článok vznikol vďaka podpore v rámci operačného programu Výskum a vývoj pre projekt „Centrum excelentnosti biologických metód ochrany lesa“ (ITMS: 26220120008) spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Literatúra

- KREUTZ J., ZIMMERMANN G., VAUPEL O., 2004: Horizontal Transmission of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* among the Spruce Bark Beetle, *Ips typographus* (Col., Scolytidae) in the Laboratory and under Field Condition. *Biocontrol Science and Technology*, **14**(8): 837–848.
- , VAUPEL O., ZIMMERMANN G., 2004: Efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the spruce bark beetle, *Ips typographus* L., in the laboratory under various conditions. *JEN*, **128**(6): 384–389.

Ing. Jozef VAKULA

Ing. Juraj GALKO, PhD.

Ing. Andrej GUBKA, PhD.

Ing. Andrej KUNCA, PhD.

Ing. Milan ZÚBRIK, PhD.

Národné lesnícke centrum - Lesnícky výskumný ústav Zvolen
Stredisko lesníckej ochrany služby
Lesnícka 11
SK – 969 23 Banská Štiavnica
e-mail: vakula@nlcsk.org

RNDr. Štefan VARKONDA, CSc.,

Fytofarm, spol. s r.o.

Dúbravská cesta 21

SK – 845 08 Bratislava 45

e-mail: fytofarm@fytofarm.sk