

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta lesnická a dřevařská
Katedra ochrany lesa a entomologie



Vliv patogenů na sesterské rojení lýkožrouta smrkového

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Agáta Petráňová

Vedoucí diplomové práce: Mgr. Karolina Lukášová, Ph.D.

Praha 2018

Czech University of Life Sciences Prague
Faculty of Forestry and Wood Sciences
Department of Forest Protection and
Entomology



**Influence of pathogens on the sister brood of the European
spruce bark beetle**

Diploma thesis

Author: Bc. Agáta Petráňová

Diploma thesis supervisor: Mgr. Karolina Lukášová, Ph.D.

Prague 2018

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. Agáta Petráňová

Lesní inženýrství

Název práce

Vliv patogenů na sesterské rojení lýkožrouta smrkového

Název anglicky

Influence of pathogens on the sister brood of the European spruce bark beetle

Cíle práce

- zjistit, jakým způsobem ovlivňují patogeny lýkožrouta smrkového zakládání populací sesterského rojení

Metodika

Budou pozorovány nákazy brouků *Ips typographus* při zakládání sesterského rojení. Pro pokus budou dovezeny nalétnuté špalky s dospělými lýkožrouty z míst s vysokými infekčními nákazami kůrovců. Na odběrovém místě bude zjištěna bazální výše nákaz na minimálně pěti vzorcích po 50-ti broucích.

Část ze špalků (minimálně deset) bude umístěna do klimaboxu při teplotě 25 °C a L/D 16/8, kde v laboratorních podmínkách bude sledován počet vylétnutých brouků. Druhou část (minimálně deset) nalétnutých špalků umístíme do terénu.

Na všechny závrtové otvory umístíme a připevníme speciálně upravené mikroskopavky Eppendorf pro zachycení brouků opouštějících pozerky. Dospělci budou odebráni každý den.

Dospělci z každého druhého špalku, jak z laboratorních podmínek, tak z terénu budou po měsíci trvání pokusu vypitváni, čímž bude určeno pohlaví a zda jsou brouci nakaženi nějakými patogeny.

Druhá část imag bude umístěna na nové špalky pod plastové klouboučky, kde bude dále sledováno další rozmnožování a kladení vajíček, tohoto tzv. sesterského rojení. Brouci ze sesterského rojení budou opět vypitváni pro zjištění přítomných patogenů v jejich tělech a budou odebráni stejným způsobem.

Postupně budou brouci pitváni pomocí chirurgických pinzet a jehel do kapky vody. Vzorky budou sledovány pod světelným mikroskopem pod zvětšením 100x – 400x. Sledování vzorků bude zaměřeno především na trávicí soustavu, Malpighické trubice, gonády a tukové těleso, kde jsou patogeny nejčastěji lokalizovány. Z každé pitvy bude veden detailní záznam o stavu a početnosti infekce a vnitřních orgánů do připraveného formuláře.

Získaná data budou převedena do tabulkového procesoru MS Excel 2010 a poté graficky a statisticky vyhodnocena v programu Statistica 12.0.

Doporučený rozsah práce

40 stran včetně Příloh

Klíčová slova

patogeny, mikrosporidie, hromadinky, tukové těleso, letová aktivita

Doporučené zdroje informací

- Anderbrant, O., Löfquist, J. 1988: Relation between first and second brood production in the bark beetle *Ips typographus* (Scolytidae). *Oikos*, 53: 357-365.
- Forsse, E. 1987: Flight duration in *Ips typographus* L.: insensitivity to nematode infection. *Journal of Applied Entomology*, 104: 326-328.
- Holuša J., Weiser J. & Žižka Z. 2009: Pathogens of the spruce bark beetles *Ips typographus* and *Ips duplicatus*. *Central European Journal of Biology*, 4: 567-573.
- Takov D., Pilarska D. & Wegensteiner R. 2010: List of protozoan and microsporidian pathogens of economically important bark beetle species (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Europe. *Acta Zoologica Bulgarica*, 62: 201-209.
- Wegensteiner, R. 2007: Pathogens in Bark Beetles. In: Lieutier, F., Day, K. R., Battisti, A., Gregoire, J. C., Evans, H. F. (eds.): *Bark and Wood Boring Insects in Living Trees in Europe, a Synthesis*. Dordrecht, Springer: 291-313.
- Wermelinger B. 2004: Ecology and management of the spruce bark beetle *Ips typographus* – a review of recent research. *Forest Ecology and Management*, 202: 67-82.

Předběžný termín obhajoby

2017/18 LS – FLD

Vedoucí práce

Mgr. Karolína Lukášová, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra ochrany lesa a entomologie

Elektronicky schváleno dne 20. 11. 2017

prof. Ing. Jaroslav Holuša, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 5. 2. 2018

prof. Ing. Marek Turčáni, Ph.D.

Děkan

V Praze dne 16. 04. 2018

Čestné prohlášení:

Tímto prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci na téma Vliv patogenů na sesterské rojení lýkožrouta smrkového vypracovala zcela samostatně, a to pouze s použitím literárních pramenů, které náležitě cituji v seznamu použité literatury.

Jsem si vědoma, že odevzdáním diplomové práce souhlasím s jejím zveřejněním dle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách v platném znění, a to bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V Praze dne 18.4.2018

Agáta Petráňová

.....

Poděkování

Předně bych chtěla poděkovat mé vedoucí diplomové práce Mgr. Karolině Lukášové, Ph.D. za odborné vedení práce. Můj dík patří dále Ing. Antonínu Blomerovi a Bc. Pavlu Pudlovi za pomoc s výzkumem a správě Krkonošského národního parku za umožnění výzkumu. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině za podporu a trpělivost, kterou se mnou měli během mých studií.

Abstrakt

Diplomová práce zkoumá vliv patogenů na sesterské rojení lýkožrouta smrkového (*Ips typographus*) na základě terénní práce, laboratorních výzkumů a dříve publikovaných vědeckých prací.

Zkoumané vzorky pocházejí z Krkonošského národního parku. V průběhu června a července bylo nasbíráno přes 200 brouků z 20 špalků odebraných z napadeného stromu. Brouci byli chytáni do speciálně upravených lahvíček Eppendorf a následně přemísťováni na špalky připravené ze zdravého stromu k výzkumu zakládání sesterských generací. Tito brouci, i brouci pochytaní mimo výzkumné špalky, byli následně uskladněni v mrazícím zařízení a poté převezeni do výzkumné laboratoře České zemědělské univerzity v Praze.

V laboratoři byla lýkožroutům pod stereomikroskopem vyjmuta trávicí soustava a následně pod světelným mikroskopem zkoumána na výskyt patogenů.

Z celkového počtu 220 brouků bylo analyzováno 155 samic a 65 samců. Pro výzkum zakládání sesterských generací bylo použito 115 samic a 50 samců, přičemž do sesterského rojení přeletěla přibližně polovina brouků - 56 samic (48,7 %) a 27 samců (54 %).

U brouků bylo celkem analyzováno šest patogenních organismů a parazitoidů. Ve velké míře byly analyzovány střevní hlístovky (39,89 %) a mimostřevní hlístovky (49,75 %). Ve slabé míře, tj. do 6 %, byly zjištěny hlístice rodu *Contortylenchus*, *Gregarina typographi* (ve vývojovém stadiu gametocyst a trofozoitů), *Chytridiopsis typographi*, parazitoid *Tomicobia seitneri* z čeledi *Pteromalidae* a *Entomopoxvirus typographi*.

Můžeme usuzovat, že patogenní organismy na studované lokalitě nemají vliv na zakládání sesterské generace.

Klíčová slova: patogeny, mikrosporidie, hromadinky, tukové těleso, letová aktivita

Abstract

The diploma thesis examines the impact of pathogens on the sister brood of the European spruce bark beetle based on terrain, laboratory and older researches.

Examined samples come from the Giant Mountains National Park. During June and July, more than 200 beetles have been collected from 20 logs taken from infected trees. Beetles were captured into specially modified Eppendorf tubes and then transferred to logs prepared from healthy tree to examine how they establish sister generations. These beetles, as well as beetles collected extra the researching logs, were then stored in the freezing box and transported to the research laboratory of the Czech University of Life Sciences in Prague.

The digestive tract of beetles was excised and then examined under the light microscope for the occurrence of pathogens.

From total 220 beetles, 155 females and 65 males were analysed. For the research of the establishment of sister generations 155 females and 50 males were used, and circa half of these beetles took part in the establishment of sister generations - 56 females (48,7 %) and 27 males (54 %).

Six pathogenic organisms and parasitoids were analysed in beetles. In a large extent, nematodes have been analysed. The *Contortylenchus*, *Gregarina typographi*, *Chytridiopsis typographi*, *Tomicobia seitneri* and *Entomopoxvirus typographi* were found in less than 6 %.

Our conclusion is that pathogenic organisms in the examined locality have no effect on establishment of sister generations.

Keywords: pathogens, microsporidia, gregarines, adipose tissue, flight activity

Obsah

Seznam obrázků	11
Seznam tabulek.....	11
Seznam grafů	12
1. Úvod.....	13
2. Cíl práce.....	15
3. Rozbor problematiky	16
3.1. Charakteristika <i>Ips typographus</i>	16
3.2. Způsob života a rozmnožování <i>Ips typographus</i>	17
3.3. Sesterské rojení	18
3.4. Kalamity <i>Ips typographus</i> a ochranná opatření	18
3.4.1. Abiotické faktory	19
3.4.2. Biotičtí činitelé.....	19
3.4.3. Monitoring a ochrana	20
3.5. Patogeny	21
3.5.1. Viry	21
3.5.2. Mikrosporidie	21
3.5.3. Hromadinky	22
3.5.4. Měňavky	22
3.5.5. Houby	22
3.5.6. Hlístice.....	23
4. Metodika.....	24
4.1. Přípravné práce.....	24
4.2. Sběr dat.....	24
4.3. Zpracování dat	29
5. Výsledky.....	30

5.1. Sesterské rojení	30
5.2. Patogenní organismy	33
6. Diskuze	39
7. Závěr	42
8. Použitá literatura	43

Seznam obrázků

Obrázek 1: Kukly lýkožrouta smrkového v požerku (snímek autorky)	16
Obrázek 2: Špalky umístěné ve stálé teplotě (snímek autorky)	25
Obrázek 3: Špalky umístěné ve venkovním prostoru (snímek autorky).....	26
Obrázek 4: Zkumavka Eppendorf s vylítnutým broukem (snímek autorky)	26
Obrázek 5: Odloupnutá kůra s dospělcem a larvami (snímek autorky)	27
Obrázek 6: Odkorněný špalek (snímek autorky)	28
Obrázek 7: Trávicí soustava pod stereomikroskopem (snímek autorky)	28
Obrázek 8: Hlístovky ve střevě lýkožrouta smrkového, zvětšení 100x (snímek autorky)	36
Obrázek 9: Stadium gametocyst patogenu <i>G. typographi</i> zjištěného ve střevě lýkožrouta smrkového, zvětšení 100x (snímek autorky)	37
Obrázek 10: Stadium trofozoitů patogenu <i>G. typographi</i> zjištěného ve střevě lýkožrouta smrkového, zvětšení 100x (snímek autorky)	37
Obrázek 11: Chytridiopsis <i>typographi</i> v hemolymfě lýkožrouta smrkového, zvětšení 100x (snímek autorky).....	38
Obrázek 12: Virus Entomopoxvirus <i>typographi</i> zaznamenaný u lýkožrouta smrkového, zvětšení 100x (snímek autorky)	38

Seznam tabulek

Tabulka 1: Početní a procentuální vyjádření brouků vstupujících do sesterského rojení. Venkovní ... brouci ze špalků v exteriéru, vnitřní ... brouci ze špalků v interiéru.....	30
Tabulka 2: Vicenásobné srovnání (Kruskal-Wallisův test) délky matečných chodeb u samic kladoucích na špalcích umístěných uvnitř (vnitřní) a za venkovních podmínek (venkovní) a samic zakládajících sesterské rojení (sesterské rojení).....	32
Tabulka 3: Vicenásobné srovnání (Kruskal-Wallisův test) počtu vajíček u samic kladoucích na špalcích umístěných uvnitř (vnitřní) a za venkovních podmínek (venkovní) a samic zakládajících sesterské rojení (sesterské rojení).....	33

Tabulka 4: Procentuální vyjádření výskytu patogenů u určité skupiny brouků.
 Vnitřní ... brouci ze špalků v interiéru, venkovní ... brouci ze špalků v exteriéru,
 sesterské rojení ... patogeny u jedinců zakládající sesterské rojení, kontrola ...
 patogeny u jedinců získaných a zůstávajících ve špalcích..... 34

Seznam grafů

Graf 1: Závislost mezi délkou matečné chodby (cm) a počtu vykladených vajíček jednou samicí během sesterského rojení. Regresní pásy představují 0,95 spolehlivost..... 31

Graf 2: Srovnání délky matečných chodeb (cm) u samic kladoucích na špalcích umístěných uvnitř (inside) a za venkovních podmínek (outside) a samic zakládajících sesterské rojení (sister). Krabice je tvořena průměrem (středová čára), \pm směrodatná chyba, svorka představuje 2* směrodatnou odchylku..... 32

Graf 3: Srovnání počtu nakladených vajíček u samic kladoucích na špalcích umístěných uvnitř (inside) a za venkovních podmínek (outside) a samic zakládajících sesterské rojení (sister). Krabice je tvořena průměrem (středová čára), \pm směrodatná chyba, svorka představuje 2* směrodatnou odchylku..... 33

Graf 4: Průměrná hladina infekce střevními hlístovkami na špalcích umístěných ve venkovních podmínkách (outside) a v interiéru (inside). Krabice je tvořena průměrem (středová čára), mediánem (kruh) \pm směrodatná odchylka, svorka představuje minimum a maximum..... 35

Graf 5: Průměrná hladina infekce mimostřevními hlístovkami na špalcích umístěných ve venkovních podmínkách (outside) a v interiéru (inside). Krabice je tvořena průměrem (středová čára), mediánem (kruh) \pm směrodatná odchylka, svorka představuje minimum a maximum 36

1. Úvod

Lýkožrout smrkový *Ips typographus* (L.) je jedním ze šesti zástupců rodu *Ips* vyskytujících se v České Republice. Je nejvážnějším škůdcem smrkových porostů, což dokazuje fakt, že v povodí Plešného jezera na Šumavě byl zaznamenán v letech 2004-2008 kůrovcový žír u 90 procent dospělých smrkových stromů (Macek et al. 2017). Společně s ním napadá smrkové porosty lýkožrout menší *Ips amitinus* (Eichhoff 1871) a lýkožrout severský *Ips duplicatus* (Sahlberg 1863). Lýkožrout smrkový prvotně napadá stromy oslabené. Nejčastěji se vyskytuje ve smrkových porostech starších 60 let, převážně na osluněných porostních stěnách.

Při příznivých teplotách se mohou během jednoho roku vyvinout dvě až tři generace lýkožrouta smrkového, protože samice po vykladení první jarní snůšky mohou založit první, popřípadě i druhou sesterskou generaci. To mohou buď na stejném stromě, pokud je zde ještě prostor, nebo po přeletu na stromě jiném. Jak velká část samic zakládá sesterské generace a co vše na to má vliv není zcela objasněno. Se samicemi v sesterském rojení přelétávají rovněž samci, což zvyšuje hrozbu a intenzitu napadení ve smrkových porostech ve všech nadmořských výškách (Skuhravý 2002).

Mezi přirozené nepřátele lýkožrouta smrkového patří řada predátorů, přičemž nejvýznamnějším je pestrokrovečník mravenčí *Thanasimus formicarius* (Linnaeus 1758), a parazitoidů, kteří se vyvíjejí uvnitř, nebo mimo tělo hostitele. Mezi popsané patogeny lýkožrouta smrkového patří: virus *Entomopoxvirus typographi*, hromadinky *Gregarina typographi* (Fuchs 1915), *Menzbieria chalcographi* (Weiser 1955) a *Mattesia schwenkeii* (Purrini 1977), améba *Malamoeba scolyti* (Purrini 1980), entomopatogenní houby *Beauveria bassiana* (Bals.), *Beauveria brognartii* (Sac.) a *Verticillium lecanii* (Zimm.), *Metschnikowia typographi* (Weiser et al. 2003), mikrosporidie *Chytridiopsis typographi* (Weiser 1954), *Nosema typographi* (Weiser 1955) a *Unikaryon montanum* (Weiser, Wegensteiner, Žižka 1998), a hlístovky rodu *Contortylenchus* a *Parasitaphelenchus* (Wegensteiner 2004).

Lýkožrout smrkový je součástí lesního ekosystému a má v něm své místo. Lesní hospodáři monitorují jeho výskyt, aby mohli předejít případnému přemnožení, které v minulosti kalamitním způsobem likvidovalo celé lesní komplexy. K přemnožení některých druhů hmyzu, například ploskohřbetky smrkové a lýkožrouta smrkového, a tím k narušení ekologické rovnováhy v lesních ekosystémech Krkonoš docházelo i dříve, prokazatelně v letech 1703, 1888-94, 1945-48. Tyto kalamity však nikdy nedosáhly rozsahu, jaký se projevil ve druhé polovině 20. století v důsledku imisí z tepelných elektráren na polsko-českém pomezí. Lýkožrout se tehdy v Krkonoších šířil od západu na východ. Na Harrachovsku zničil v osmdesátých letech 20. století až 8000 ha lesa, v devadesátých letech napadl lesy na Vrchlabsku, zvláště v Labském dolu. Znovu se přemnožil v roce 2007 v oblasti Černé hory a Obřího dolu, poté co orkán Kyril porazil tisíce hektarů lesa (Štursa 2003). Obavy z nového přemnožení v důsledku sucha v roce 2016 se nenaplnily a v současné době uvádí Správa KRNAPu, že vhodnými postupy v lesním hospodářství se podařilo odumírání lesů v důsledku působení lýkožrouta smrkového zastavit.

Výskyt sesterské generace je významný faktor, který může ovlivnit intenzitu napadení smrkových porostů. Tato diplomová práce analyzuje základní aspekty tohoto jevu: definuje procento brouků zakládající sesterské generace a intenzitu napadení těchto jedinců patogenními organismy.

2. Cíl práce

Má práce má za úkol zjistit, zda, popřípadě jakým způsobem a v jaké míře, ovlivňují patogeny letovou aktivitu a zakládání sesterských populací lýkožrouta smrkového.

3. Rozbor problematiky

3.1. Charakteristika *Ips typographus*

Lýkožrout smrkový *Ips typographus* (L.) je nejvážnější škůdce smrkových porostů v Eurasii (Christiansen, Bakke 1988) patřící do řádu brouků (Coleoptera), čeledi nosatcovití (Curculionidae) a podčeledi kůrovci (Scolytinae). Byl popsán v roce 1758 Linéem (Skuhravý 2002). V České Republice je zařazen mezi kalamitní škůdce.

Lýkožrout smrkový je černý, lesklý brouk, dlouhý 4,8-5,5 mm. Většina jeho těla je pokryta velkým množstvím drobných žlutých chloupků (Skuhravý 2002). V přední části těla má hrbokatý štít, v zadní části je štít jemně tečkovaný. Na zadečku má na každé krovce čtyři zuby, přičemž třetí shora je největší (Pfeffer 1993).

Vajíčko lýkožrouta smrkového je bílé, eliptické o rozměrech 0,6 x 0,9 mm. Larvy jsou také bílé, s hnědou hlavovou schránkou a jsou beznohé. Kukla je mléčně bílá a rýsuje se na ní tykadla, nohy i křídla (Skuhravý 2002) (Obr.1).



Obrázek 1: Kukly lýkožrouta smrkového v požerku (snímek autorky)

Čerstvě vylíhnutí brouci jsou bílí, nejprve žlutnou a posléze tmavnou. Jako první zčernají krovky, poté horní část těla, a nakonec spodní část těla (Skuhravý 2002).

Samice se od samců odlišují rýhami pod ústním ústrojím, větší hustotou chloupků na přední části pronota, výraznějším hrbolkem na horní části hlavy nad mandibulami a třetím zubem na krovkách, který je u samců větší než u samic (Schlyter, Cederholm 1981).

3.2. Způsob života a rozmnožování *Ips typographus*

Lýkožrout smrkový se může na zdravém stromě vyvíjet pouze tehdy, je-li strom napaden takovým množstvím brouků, kteří jsou schopni překonat jeho obranný systém (Raffa, Berryman 1983). Proto si lýkožrout nachází především stromy na konci jejich vývoje, popřípadě stromy poškozené. Tyto stromy mají slabší obrannou schopnost, a proto je pro lýkožrouta jednodušší strom napadnout. K poklesu obranyschopnosti také přispívají vyšší teploty, kdy smrk není schopen vylučovat dostatečné množství pryskyřice a zalévat chodby vytvořené lýkožroutem (Skuhravý 2002).

Lýkožrout smrkový je polygamní druh, což znamená, že jeden samec je schopen oplodnit více samic. Jako první naletí na strom samec, který je lákán chemickými impulsy, které strom vylučuje, a zavrtá se do lýka, v němž vytvoří tzv. snubní komůrku. Poté začne vylučovat agregační feromon, čímž naláká samici, popřípadě více samic. Po oplodnění začne každá samice vytvářet matečnou chodbu, do níž klade po obou stranách vajíčka. Počet vykladených vajíček závisí na nadmořské výšce (Zumr 1985) a současně klesá v závislosti na hustotě požerků na kmenech, v průměru se však uvádí 60 vajíček na jednu samici (Wermelinger 2004).

Z vajíček se líhnou larvy, které se živí pletivem stromu a vytvářejí tak postranní chodby v kůře kolmo na chodbu matečnou. Na konci těchto chodeb si larva vytvoří tzv. kukelní komůrku, ve které dokončí svůj vývoj a strom opouští výletovým otvorem již dospělý brouk. Míru přežití potomstva ovlivňuje hustota obsazení kmene (Thalenhorst 1958).

V našich podmínkách se mohou během jednoho roku vyvinout až tři generace lýkožrouta smrkového. V nižších polohách zakládají mladí brouci druhou generaci, která se buď zcela vyvine ještě daný rok anebo přezimuje ve stadiu larev. V mimořádně teplých a suchých letech se mohou během jednoho roku vyvinout až tři generace, a naopak v horských polohách se většinou vyvíjí pouze jedna (Skuhravý 2002).

Lýkožrout přezimuje pod kůrou stojících nebo padlých stromů a až 10 % jeho populace v hrabance (Zahradník 1996), a to především ve stadiu dospělých brouků. Pouze malá část přezimuje ve stadiu larvy či kukly.

3.3. Sesterské rojení

Po vykladení první jarní snůšky mohou samice založit první, popřípadě i druhou sesterskou generaci. Založením sesterské generace se rozumí, že oplodněné samice nakladou první snůšku, poté opustí původní matečnou chodbu a vytvoří novou matečnou chodbu, do které nakladou snůšku druhou, přičemž tomuto nemusí předcházet opětovné oplodnění samcem. To mohou učinit buď na stejném stromě, pokud je zde ještě prostor, nebo po přeletu na stromě jiném (Kirkendall 1983).

Vylétnutím z matečné chodby a založením sesterské generace na jiném stromě řeší samice mimo jiné kompetici o lýko a živiny. Častým důvodem je také vysoká hustota napadení stromu, přičemž samice na něm již nenacházejí dostatečný prostor pro vykladení své snůšky. Bylo prokázáno, že velikost snůšky má vliv na dobu, kterou samice stráví v chodbě, a tudíž na zakládání sesterských generací (Anderbrant et al. 1985).

Vývoj normální a sesterské generace se částečně časově překrývá a velikost první snůšky nemá vliv na velikost snůšky druhé (Martínek 1961).

3.4. Kalamity *Ips typographus* a ochranná opatření

Průběh kalamit lýkožrouta smrkového ovlivňuje řada abiotických i biotických faktorů, jejichž důsledkem stromy i celé porosty chřadnou a ztrácejí odolnost.

Zakládání sesterských generací má na šíření kůrovcových kalamit velký vliv, a to bez ohledu na nadmořskou výšku porostů (Martínek 1957).

3.4.1. Abiotické faktory

Jedním z nejvýznamnějších faktorů působících na rozvoj lýkožrouta je teplota. Příznivé teploty v jarních měsících přispívají k prodloužení doby letu lýkožrouta a v důsledku příznivých teplot během vegetačního období se může vyvinout více generací, jak normálních, tak sesterských (Skuhravý 2002).

Vlivem nízkých srážek a sucha dochází ke snižování obranyschopnosti stromů. Často tak dochází k napadení porostů lýkožroutem po náhlém stresu ze sucha (Maslov 2001).

Silný vítr, námraza a sníh způsobuje vývraty, zlomy a lámání stromů, což způsobuje jejich úmrtí či poškození, čímž se stávají snadným cílem kůrovců (Skuhravý 2002).

3.4.2. Biotičtí činitelé

Mezi biotické činitele oslabující lesní porosty patří houby, plísně, hmyz a mnoho dalších organismů vázaných na lesní ekosystémy. Podhoubí houby václavky smrkové (*Armillaria ostoyae*) se rozrůstá pod kůrou stromů, čímž výrazně přispívá k jeho oslabení a vytvoření příhodného prostředí pro usídlení lýkožrouta (Skuhravý 2002). Nepříznivě ovlivňuje zdravotní stav stromů také poloparazitická rostlina z čeledi ochmetovitých - jmelí (*Viscum album* L.) (Skuhravý 2002).

Mezi živočichy poškozující stromy a ovlivňující tak jejich obranyschopnost řadíme například bobra evropského, černou i spárkatou zvěř, listožravý hmyz a další (Švestka et al. 1996). Velkou měrou přispívá k rozvoji kůrovcových kalamit i člověk, ať už nevhodnými zásahy nebo nedbalostí. Například promeškáním lhůt ke včasnému odvozu vytěženého dříví z lesní skládky.

3.4.3. Monitoring a ochrana

Účinná obranná opatření se zakládají na třech principech. Především jde o včasné odstraňování a zpracování dříví atraktivního pro lýkožrouta (ve vegetační sezóně by se mělo vytěžené dříví vyvážet z lesa okamžitě). Poté je důležité včasné odstranění veškerého již napadeného dříví, tj. dřívě, než dojde k dokončení vývoje lýkožroutů. V neposlední řadě jde o soustředění a hubení lýkožrouta v ohniscích žíru (Zahradník 2006).

Monitoring se provádí ve všech porostech starších 60 let, kde je alespoň 20% zastoupen smrk. V základním stavu se monitoring provádí pochůzkovou metodou, při zvýšených stavech se instalují stromové lapáky a feromonové lapače. Tato kontrolní zařízení se instalují na ohrožená místa, a to v počtu minimálně jedno zařízení na 5 ha. U stromových lapáků se považuje za zvýšený stav výskyt více než 0,5 závrtu na dm^2 , u feromonových lapačů se za zvýšený stav považuje odchyt více než 1000 jedinců na jeden lapač (Zahradník 2006).

Feromonové lapače se začaly využívat v druhé polovině 20. století poté, co byly objeveny a synteticky vyrobeny agregační feromony lýkožrouta smrkového (Vité et al. 1972, Bakke 1976). Feromon láká samce i samice. Ke kontrole by mělo docházet v intervalu 7-10 dní, v případě rojení a zvýšeného odchytu je doporučeno interval zkrátit. Současně s kontrolou feromonových lapačů by mělo docházet i ke kontrole okolních stromů, kvůli případnému výskytu lýkožrouta (Zahradník 2006).

Stromové lapáky jsou zdravé, odvětvené smrky o výčetní tloušťce alespoň 20 centimetrů. Tyto smrky se přikrývají větvemi po celé své délce, aby nedocházelo k předčasnému vysychání. Dvě třetiny stromu se umísťují na slunce, jedna třetina stromu do polostínu, na okraji porostu. Připravují se nejpozději v březnu a ke kontrole by mělo docházet v intervalu 7-10 dní (Skuhřavý 2002).

Biologické metody ochrany prozatím nejsou k dispozici, může však docházet k podpoře vlivu predátorů a parazitoidů.

3.5. Patogeny

První zmínky o patogenech kůrovců pocházejí z počátku 20. století, kdy Fuchs (1915) studoval a popsal první známý patogen lýkožrouta smrkového, tj. *Gregarina typographi*, intenzivně jsou však patogeny studovány od poloviny 90. let a zatím bylo u lýkožrouta smrkového objeveno deset patogenů (Wegensteiner 2004). Přehled všech nemocí byl zpracován Takovem et al. (2010).

Nákaza patogeny se projevuje pouze vnitřními příznaky. K jejímu zjištění je proto potřeba vypitvat vnitřní orgány. Brouci mohou být infikováni horizontálně – pozřením nakaženého trusu, zbytků těla nakažených jedinců a kanibalismem, či vertikálně – přenosem ze samice na vajíčka (Wegensteiner 2004).

3.5.1. Viry

Jediným známým virovým onemocněním u kůrovců je virus *Entomopoxvirus typographi*. Ten napadá a ničí buňky střevního epitelu brouků a vytváří destičkovité bílkovinné inkluze, které obsahují virová tělíska. Způsobuje protržení střeva a následný úhyn jedince. Virová tělíska odcházejí z těla brouků společně s trusem a poté se jimi infikují další jedinci při úživném žíru (Wegensteiner, Weiser 1994).

3.5.2. Mikrosporidie

Dalšími patogeny jsou mikrosporidie, které se řadí mezi nejčastěji se vyskytující patogeny lesních i zemědělských hmyzích škůdců. Šíří se většinou perorálně (Holuša, Weiser 2005), méně často přenosem přes vajíčko (Weiser et al. 2000; Phelps, Goodwin 2008). Většina mikrosporidií napadá střední střevo, odkud přechází do pohlavních žláz a následně jsou předávány dceřině generaci. Onemocnění se projevuje pouze u dospělých jedinců. Mezi nejvýznamnější patří *Chytridiopsis typographi*, která napadá a ničí střevo dospělých brouků, kde vytváří silnostěnné cysty s kulovitými sporami a působí vředovité perforace střeva a hynutí brouků. *Ch. typographi* se vyznačuje dvěma typy spor, a to tenkostěnnými, které šíří infekci uvnitř hostitele, a silnostěnnými, které jsou uvolňovány společně s trusem (Wegensteiner 2004).

Střevní svalovinu a Malphigické trubice napadají mikrosporidie *Nosema typographi* a *Unikaryon montanum*. Pronikají do vaječnicků a s nakaženými vajíčky se dostávají do larev. Nákaza se vyvíjí až v dospělých jedincích (Skuhravý 2002).

3.5.3. Hromadinky

Nejčastějším patogenem u lýkožrouta smrkového je výše zmíněná hromadinka *Gregarina typographi*. Ta se vyvíjí ve střední i zadní části střeva, ale významně ho nepoškozuje, pouze vytváří jakousi vstupní bránu do těla brouků pro další patogeny (Lipa 1967). Kůrovci se infikují pozřením nakaženého trusu nebo zbytků těl uhynulých jedinců.

Tukové těleso lýkožrouta rozkládají schizogregariny *Menziberia chalcographi* a *Mattesia schwenkei*. Brouci takto nakažení neopustí žír a můžeme je proto najít v chodbičkách v kůře. K přenosu na dalšího jedince dojde až po rozložení hostitele (Weiser et al. 2000).

Gregariny se vyznačují několika odlišnými stadii a mají přímý vývojový cyklus (Clopton, Gold 1996).

3.5.4. Měňavky

Mezi měňavky napadající střevo a Malphigické trubice lýkožrouta smrkového patří *Malamoeba scolyti*, která ucpává trubice svými vejčitými cystami (Wegensteiner et al. 1996; Händel et al. 2001). Při přemnožení může trubice ucpat natolik, že zabrání vyměšování odpadních látek a napadený brouk uhynie (Weiser 2002).

3.5.5. Houby

Mezi hlavní houbové patogeny řadíme druh *Beauveria bassiana* a *Beauveria brongniartii*. Příležitostným patogenem v hemolymfě a střevním epitelu lýkožroutů je kvasinka *Metschnikowia typographi* (Ascomycota: Metschnikowiaceae) (Weiser et al. 2003; Unal et al. 2009).

3.5.6. Hlístice

Hlístice jsou významným faktorem ovlivňujícím populace lýkožroutů, a to jejich chování, přežívání, plodnost, letovou aktivitu i termín rojení (Massey 1960, Kaya 1984). U lýkožrouta smrkového je popsáno několik parazitických druhů (Rühm 1956), které se do těla brouků dostávají tělními otvory. Ty své hostitele usmrcují a redukují jejich životnost a plodnost (Lieutier 1980; Kaya 1984). Endoparazitické rody hlístic *Contortylenchus* a *Parasitylenchus* se vyskytují volně v hemolymfě (Rühm 1956), a jsou považovány za příčinu tvorby menšího tukového tělesa, ovaríí a horšího vyvíjení oocytů (Lieutier 1982). Hlístice rodu *Cryptaphelenchus* se vyskytují volně v tělní dutině, v Malphigických trubicích, i na povrchu těla lýkožroutů. Zástupci hlístic rodu *Parasitorhabditis* se vyskytují ve střevě (Rühm 1956).

4. Metodika

4.1. Přípravné práce

Pro výzkum byly použity dva smrkové kmeny (*Picea abies* (L.) Karst.), z nichž jeden byl napadený lýkožroutem a druhý byl zdravý. Kmen napadený *I. typographus* byl vybrán v Krkonošském národním parku, v lokalitě zasažené kůrovcem, na souřadnicích 50.7658583N, 15.4105250E ve výšce 723 metrů nad mořem.

Tento kmen byl vybrán z důvodu silného napadení kůrovcem, přičemž napadení se pohybovalo v průměru 4 závrtové otvory na 1 dm². Strom byl vysoký 19 metrů o průměru 27 centimetrů. Kmen byl krácen na špalky o délce 50 centimetrů a průměru přibližně 20 centimetrů. Tyto špalky byly následně převezeny na místo zkoumání, kde deset špalků bylo umístěno v místnosti se stálou teplotou (Obr.2) a deset špalků bylo umístěno v otevřeném prostranství pod terasou obytné budovy, ovšem kryté před nepřízní počasí a přímým sluncem (Obr.3).

Druhý, nenapadený kmen, byl taktéž vybrán v Krkonošském národním parku. Kmen zdravého smrku byl krácen na špalky o délce 50 centimetrů a průměru 15-20 centimetrů. Špalky byly převezeny na testovací místo, kde jich bylo deset umístěno v otevřeném prostranství pod terasou obytné budovy.

4.2. Sběr dat

Na špalcích byly okulárně, podrobným zkoumáním, vyhledány závrtové otvory a na ně byly umístěny upravené zkumavky Eppendorf. V horní části byly zkumavky nahřáty a posléze ohnuty přibližně do pravého úhlu (Obr.4). Každý den byly zkumavky okulárně kontrolovány. Jedinci *I. typographus*, kteří se již namnožili a vylétli, byli sbíráni a umisťováni do zkumavek po více jedincích (2-3 dospělci), aby mohlo proběhnout opětovné páření.

Zkumavky s takto spárovanými jedinci byly připevněny na čerstvé, nenapadené špalky. Následné pozorování a zkoumání mělo prokázat, zda se vylétnutí brouci opětně zavrtají. Jedinci, kteří se nezavrtali, byli ve výzkumu

přiřazení ke špalkům, ze kterých původně vylétli, a byli uskladněni v mrazícím zařízení. Ti jedinci, kteří se opětovně zavrtali, byli kontrolováni a poté, co nakladli druhou snůšku a vylétli, byli taktéž uskladněni v mrazícím zařízení.



Obrázek 2: Špalky umístěné ve stálé teplotě (snímek autorky)

Na začátku července byly všechny špalky odkorněny, byli posbíráni zbývající jedinci lýkožrouta smrkového, změřeny délky chodeb a počet nakladených vajíček v každé matečné chodbě (Obr.5 a 6).



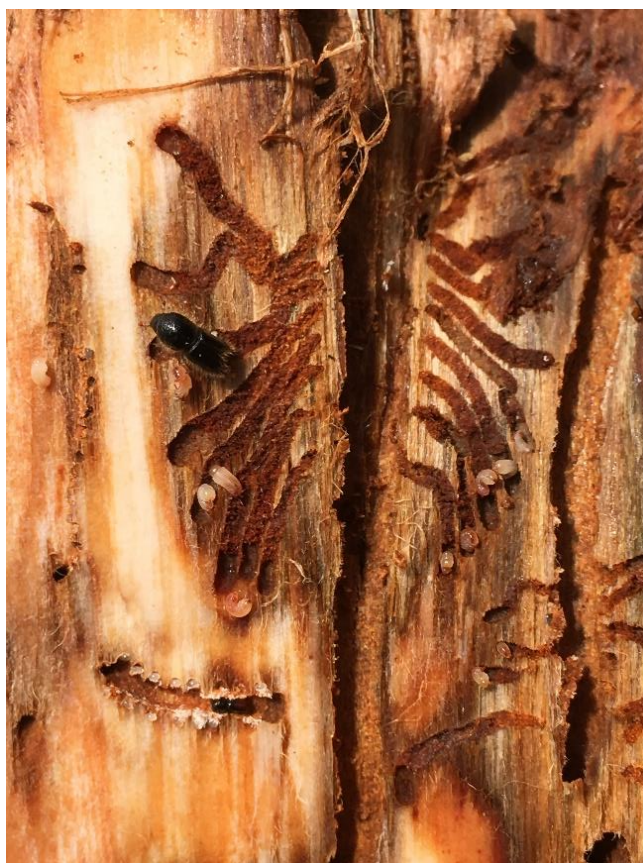
Obrázek 3: Špalky umístěné ve venkovním prostoru (snímek autorky)



Obrázek 4: Zkumavka Eppendorf s vylítnutým broukem (snímek autorky)

Všichni posbíraní jedinci byli převezeni do laboratoře České zemědělské univerzity v Praze. Pod odborným dozorem mé vedoucí diplomové práce, doktorky Karoliny Lukášové, byli jedinci pitváni pod stereomikroskopem Nikon. Pomocí pinzet byla každému jedinci do kapky vody vyjmuta trávící soustava a další vnitřní orgány (Obr.7). Připravený vzorek byl umístěn pod světelný mikroskop Nikon Eclipse - Ni pod zvětšením 100x – 400x a prohlédnut. Případná pozitivní nákaza patogeny byla rovněž vyfotografována v programu Nis Elements.

Z každého vzorku byl veden detailní záznam o pohlaví a případném výskytu patogenů v připraveném formuláři.



Obrázek 5: Odloupnutá kůra s dospělcem a larvami (snímek autorky)



Obrázek 6: Odkorněný špalek (snímek autorky)



Obrázek 7: Trávicí soustava pod stereomikroskopem (snímek autorky)

4.3. Zpracování dat

Získaná data byla převedena do tabulkového procesoru MS Excel 2016 a poté graficky a statisticky znázorněna v programu Statistica 12 (testy normality dat, Kruskal Wallisův test, ANOVA, korelace, grafické výstupy).

5. Výsledky

Celkem bylo analyzováno 220 brouků, z toho 113 jedinců bylo sesbíráno ze špalků umístěných v interiéru (z toho 6 až při odkorňování špalků po dokončení výzkumu), 58 jedinců ze špalků ve venkovních prostorech a 49 jedinců bylo sesbíráno mimo výzkumné špalky – ze zbytku napadeného stromu, který nebyl využit na výzkumné špalky. Z celkového počtu bylo analyzováno 155 samic, tj. 70,5 %, a 65 samců, tj. 29,5 %. Ze 49 brouků posbíraných mimo výzkumné špalky bylo 35 samic a 14 samců, což je procentuálně zhruba stejný poměr jako ve sběru z výzkumných špalků.

5.1. Sesterské rojení

Z počtu 171 brouků, sesbíraných v první fázi výzkumu, bylo 165 jedinců přemístěno na zdravé špalky k založení sesterské generace. 83 brouků sesterskou generaci založilo, z toho 56 samic, tj. 48,7 %, a 27 samců, tj. 54 %.

Ze špalků umístěných venku bylo na zdravé špalky přemístěno 58 brouků, z toho 27 samic se zúčastnilo zakládání sesterských generací, a ze špalků umístěných v interiéru bylo přemístěno 107 brouků, z toho 29 samic se zúčastnilo zakládání sesterských generací.

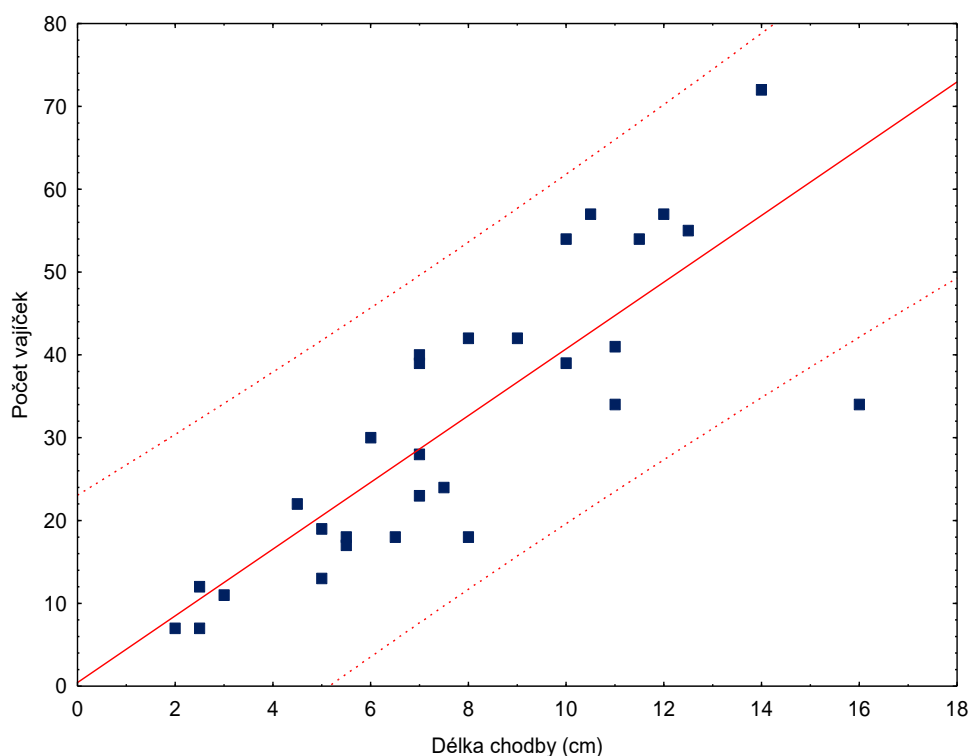
V tabulce 1 je uveden počet brouků přemístěných na zdravý špalek a použitých na výzkum sesterského rojení a dále početní i procentuální vyjádření brouků, kteří se sesterského rojení účastnili.

Tabulka 1: Početní a procentuální vyjádření brouků vstupujících do sesterského rojení. Venkovní ... brouci ze špalků v exteriéru, vnitřní ... brouci ze špalků v interiéru.

	venkovní	vnitřní	N samců	N samic
Počet vylétnutých jedinců	58	107	50	115
Počet jedinců zakládajících sesterské rojení	38	45	27	56
Počet dospělců zakládajících sesterské rojení (%)	65,52	42,06	54,00	48,70

Po odkornění špalků se sesterským rojením bylo napočítáno celkem 30 chodeb s délkou 2-16 cm, v průměru $7,6 \pm 3,5$ cm. Počet vajíček v chodbách se pohyboval od 7 vajíček v jedné chodbě, po 72 vajíček v jedné chodbě, v průměru však $30,9 \pm 17,1$ vajíček na samici. Matečné chodby ze snubní komory vedly průměrně dvě, maximálně tři. Někteří brouci chodby vyhloubili, ovšem žádná snůška v nich nebyla.

Délka matečných chodeb pozitivně korelovala s počtem vykladených vajíček u samic zakládajících sesterské rojení ($y = 0,429 + 4,0289 \cdot x$; $r = 0,8242$; $p < 0,00001$; $r^2 = 0,6794$; Graf 1).



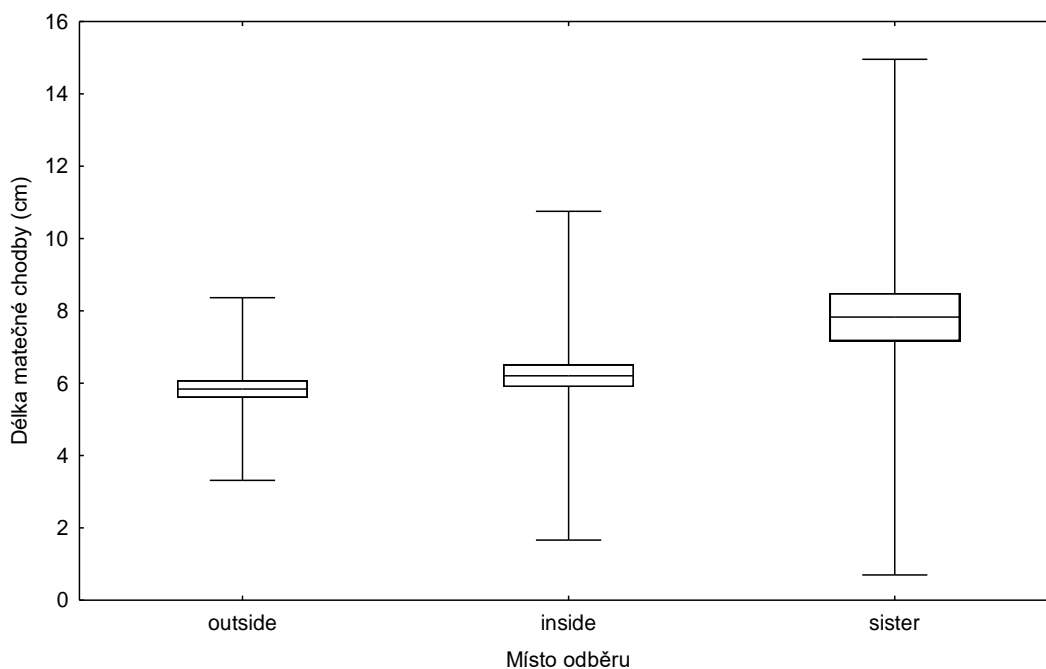
Graf 1: Závislost mezi délkou matečné chodby (cm) a počtu vykladených vajíček jednou samicí během sesterského rojení. Regresní pásy představují 0,95 spolehlivost.

Po ukončení výzkumu a následném odkornění špalků z interiéru byla naměřena průměrná délka chodby $6,2 \pm 2,3$ cm s průměrnou snůškou $19,9 \pm 7,9$ vajíček. U špalků ve venkovních prostorech byla naměřena průměrná délka chodby $5,8 \pm 1,2$ cm s průměrnou snůškou $23,1 \pm 6,5$ vajíček.

Délka matečných chodeb vyhloubených samicemi byla srovnatelná u všech tří skupin kladoucích samic. Nejdelší chodby hloubily samice v sesterském rojení, ale rozdíly nebyly statisticky signifikantní (tabulka 2, Graf 2).

Tabulka 2: Vicenásobné srovnání (Kruskal-Wallisův test) délky matečných chodeb u samic kladoucích na špalcích umístěných uvnitř (vnitřní) a za venkovních podmínek (venkovní) a samic zakládajících sesterské rojení (sesterské rojení).

	venkovní	vnitřní	sesterské rojení
venkovní		0,488142	2,234825
vnitřní	0,488142		2,069754
sesterské rojení	2,234825	2,069754	

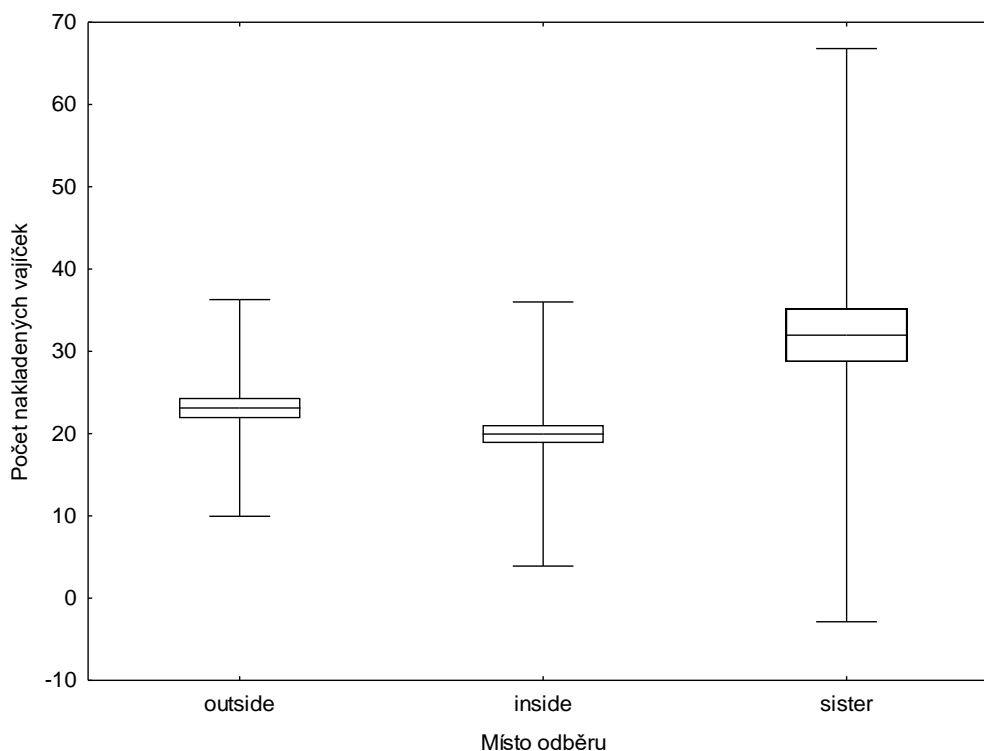


Graf 2: Srovnání délky matečných chodeb (cm) u samic kladoucích na špalcích umístěných uvnitř (inside) a za venkovních podmínek (outside) a samic zakládajících sesterské rojení (sister). Krabice je tvořena průměrem (středová čára), \pm směrodatná chyba, svorka představuje $2 \times$ směrodatnou odchylku.

Nejvyšší počet nakladených vajíček na jednu samici byl zaznamenán v matečných chodbách sesterského rojení (Graf 3), statisticky signifikantní byl tento rozdíl však pouze mezi samicemi v sesterském rojení a u samic kladoucích na špalcích umístěných uvnitř (tabulka 3).

Tabulka 3: Vícenásobné srovnání (Kruskal-Wallisův test) počtu vajíček u samic kladoucích na špalcích umístěných uvnitř (vnitřní) a za venkovních podmínek (venkovní) a samic zakládajících sesterské rojení (sesterské rojení).

	venkovní	vnitřní	sesterské rojení
venkovní		0,245798	0,559777
vnitřní	0,245798		0,003175
sesterské rojení	0,559777	0,003175	



Graf 3: Srovnání počtu nakladených vajíček u samic kladoucích na špalcích umístěných uvnitř (inside) a za venkovních podmínek (outside) a samic zakládajících sesterské rojení (sister). Krabice je tvořena průměrem (středová čára), \pm směrodatná chyba, svorka představuje 2* směrodatnou odchylku.

5.2. Patogenní organismy

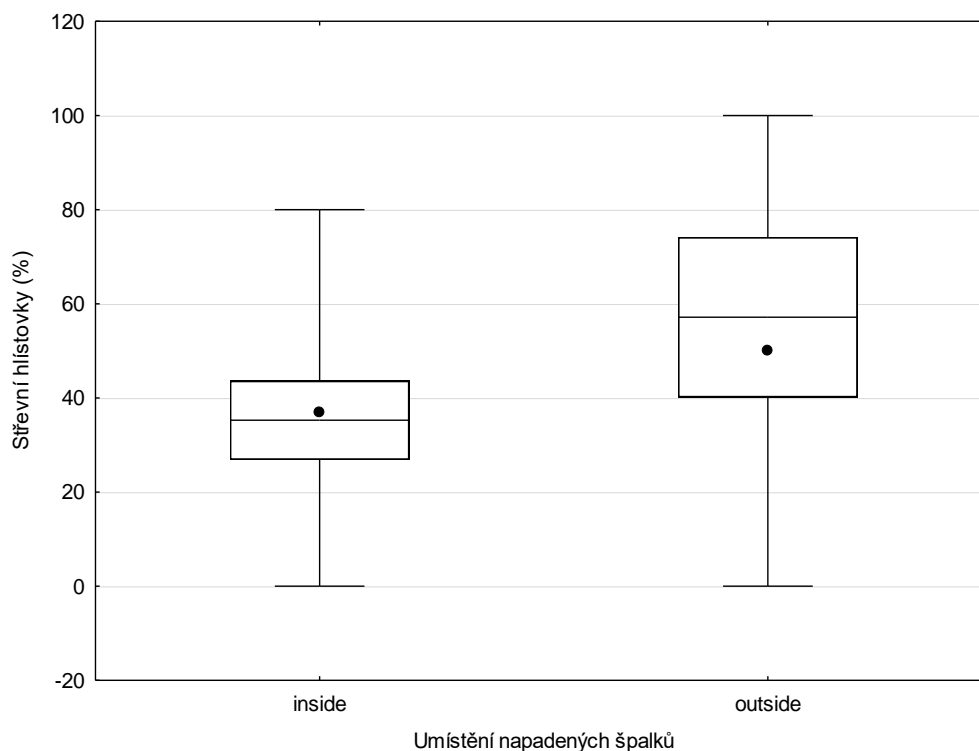
U brouků bylo celkem analyzováno šest patogenních organismů a parazitoidů, a to jak střevní, tak mimostřevní hlístovky (Obr.8), hlístice rodu *Contortylenchus*, *Gregarina typographi* [ve vývojovém stadiu gametocyst (Obr.9) a trofozoitů (Obr.10),], *Chytridiopsis typographi* (Obr.11) a parazitoid *Tomicobia seitneri* (Ruschka 1924) z čeledi *Pteromalidae*. U třech brouků byl zjištěn také *Entomopoxvirus typographi* (Obr.12).

V tabulce 4 je uveden procentuální výskyt daného patogenu u určité skupiny zkoumaných brouků. V průměru se vyskytují střevní hlístovky u 39,89 % zkoumaných brouků, mimostřevní hlístovky u 49,75 %, hlístice rodu *Contortylenchus* u 1,98 %, *Gregarina typographi* u 5,59 %, *Chytridiopsis typographi* 2,87 % a parazit *Tomicobia seitneri* u 0,37 % zkoumaných brouků.

Tabulka 4: Procentuální vyjádření výskytu patogenů u určité skupiny brouků. Vnitřní ... brouci ze špalků v interiéru, venkovní ... brouci ze špalků v exteriéru, sesterské rojení ... patogeny u jedinců zakládající sesterské rojení, kontrola ... patogeny u jedinců získaných a zůstávajících ve špalcích.

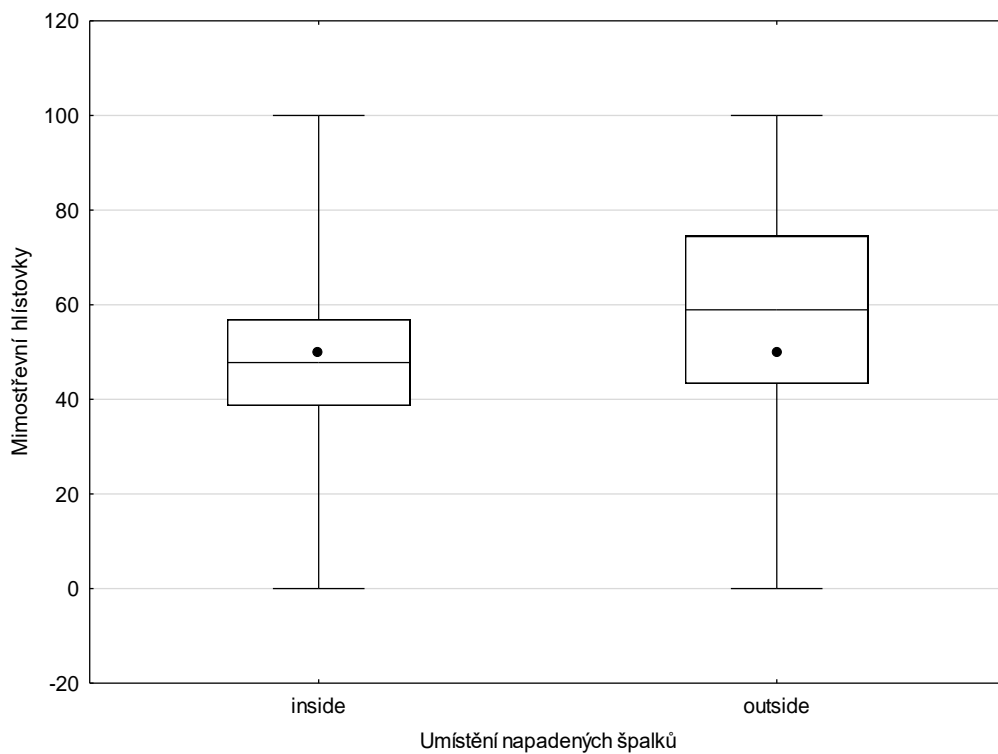
	střevní hlístovky	mimostřevní hlístovky	<i>Contortylenchus</i>	<i>Gregarina typographi</i>	<i>Chytridiopsis typographi</i>	<i>Tomicobia seitneri</i>
vnitřní	38,24	52,94	5,88	5,88	2,94	1,47
venkovní	50,00	40,00	0	10,00	0	0
sesterské rojení	32,53	53,01	0	2,41	2,41	0
kontrola	38,78	53,06	2,04	4,08	6,12	0
průměr	39,89	49,75	1,98	5,59	2,87	0,37

Infekční nákazy patogeny byly srovnatelné pro všechny nalezené druhy na špalcích umístěných ve venkovních podmínkách i těch v interiéru. Statisticky signifikantní rozdíly nebyly zjištěny ani u hlístovek ve střevech lýkožrouta smrkového (normalita statistického souboru: Shapiro-Wilkův test; $W = 0,89741$, $p > 0,05$; ANOVA: $F(1;15) = 1,603$; $p > 0,05$; Graf 4), ani u mimostřevních druhů (normalita statistického souboru: Shapiro-Wilkův test; $W = 0,92199$, $p > 0,05$; ANOVA: $F(1;15) = 0,4334$; $p > 0,05$; Graf 5) a dospělců *Contortylenchus* sp. (normalita statistického souboru: Shapiro-Wilkův test; $W = 0,47545$, $p < 0,05$; Kruskal Wallisův test: $H(1;17) = 2,3734$; $p > 0,05$).

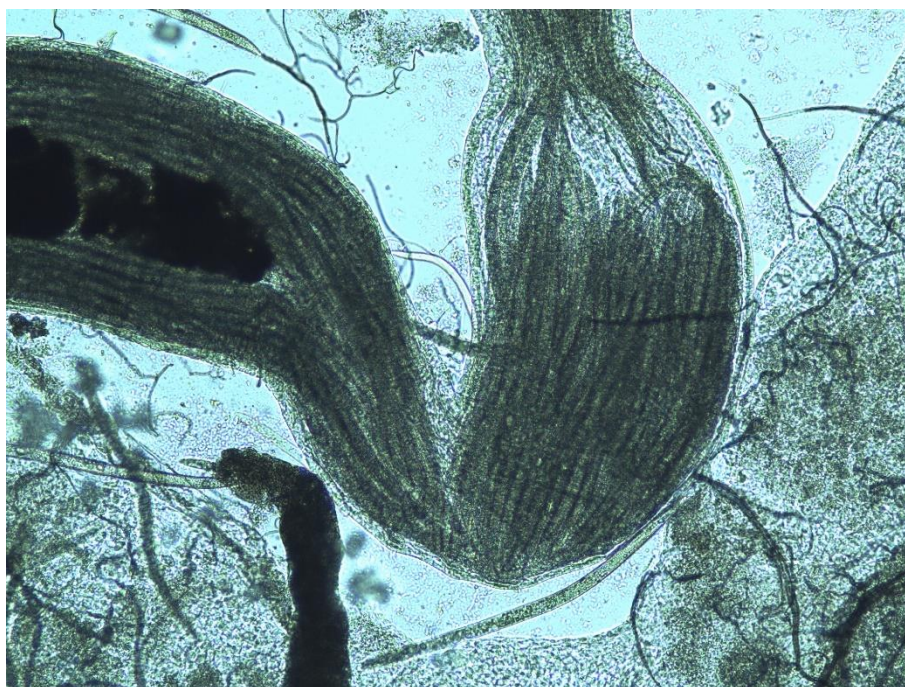


Graf 4: Průměrná hladina infekce střevními hlístovkami na špalcích umístěných ve venkovních podmínkách (outside) a v interiéru (inside). Krbice je tvořena průměrem (středová čára), mediánem (kruh) \pm směrodatná odchylka, svorka představuje minimum a maximum.

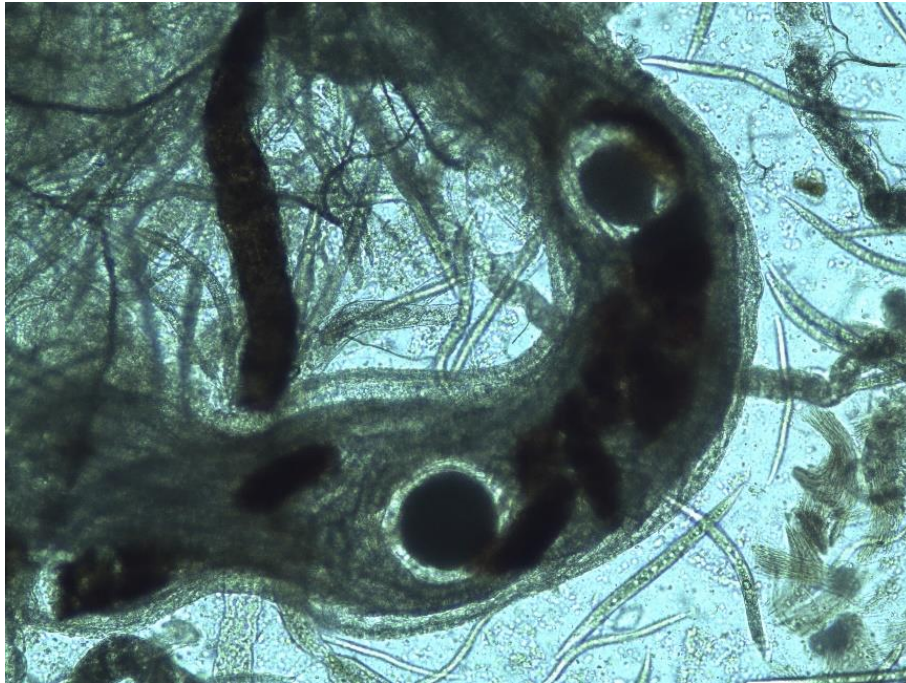
Obdobné výsledky byly zjištěny u patogenu *Chytridiopsis typographi* (normalita statistického souboru: Shapiro-Wilkův test; $W = 0,38535$, $p < 0,05$; Kruskal Wallisův test: $H(1;17) = 1,4875$; $p > 0,05$) nebo *Gregarina typographi* (normalita statistického souboru: Shapiro-Wilkův test; $W = 0,51562$, $p < 0,05$; Kruskal Wallisův test: $H(1;17) = 0,7185$; $p > 0,05$).



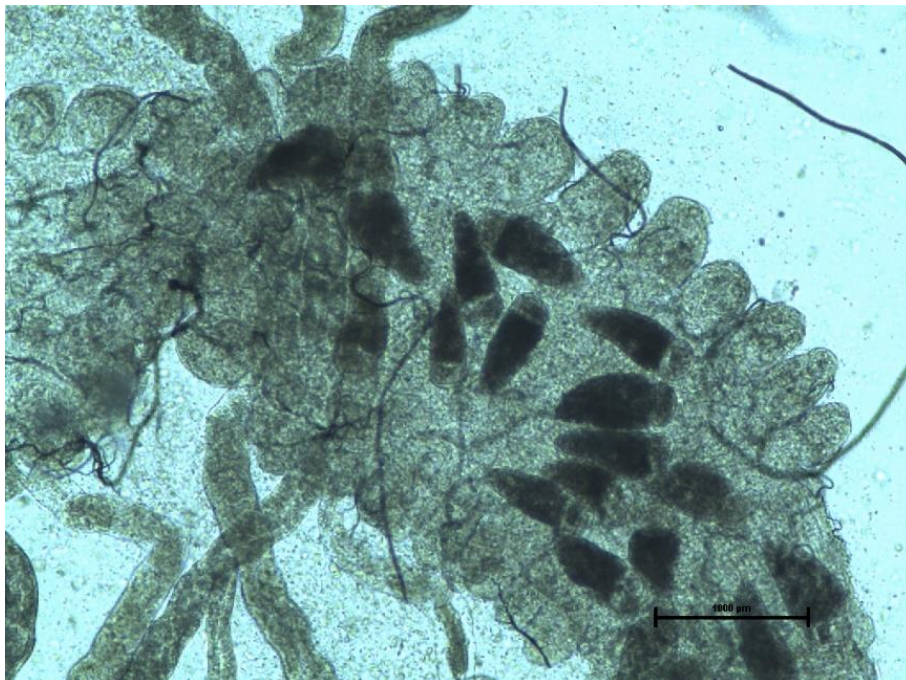
Graf 5: Průměrná hladina infekce mimosřevními hlístovkami na špalcích umístěných ve venkovních podmínkách (outside) a v interiéru (inside). Krbice je tvořena průměrem (středová čára), mediánem (kruh) \pm směrodatná odchylka, svorka představuje minimum a maximum



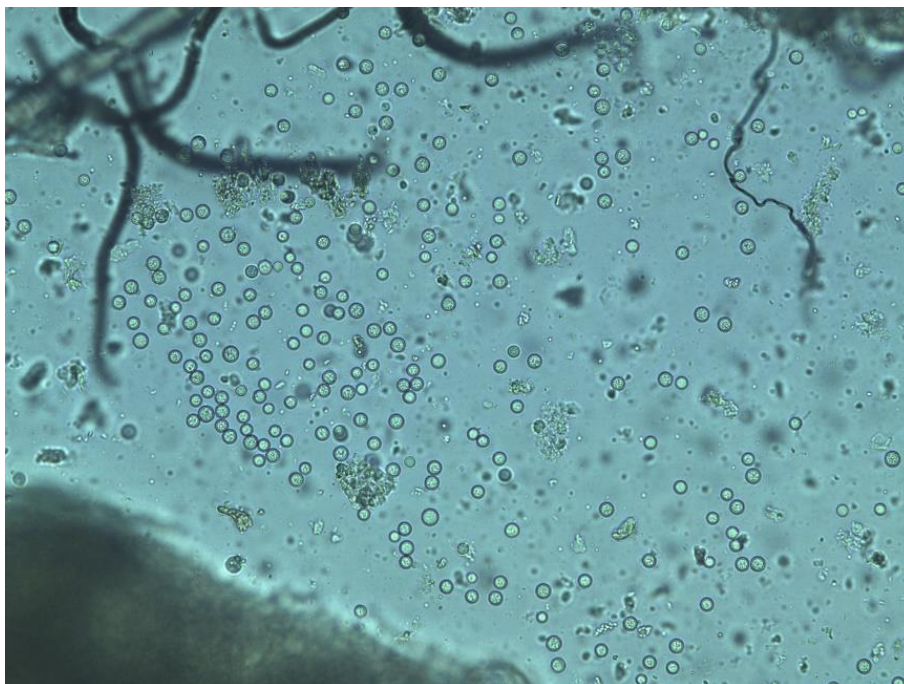
Obrázek 8: Hlístovky ve střevě lýkožrouta smrkového, zvětšení 100x (snímek autorky)



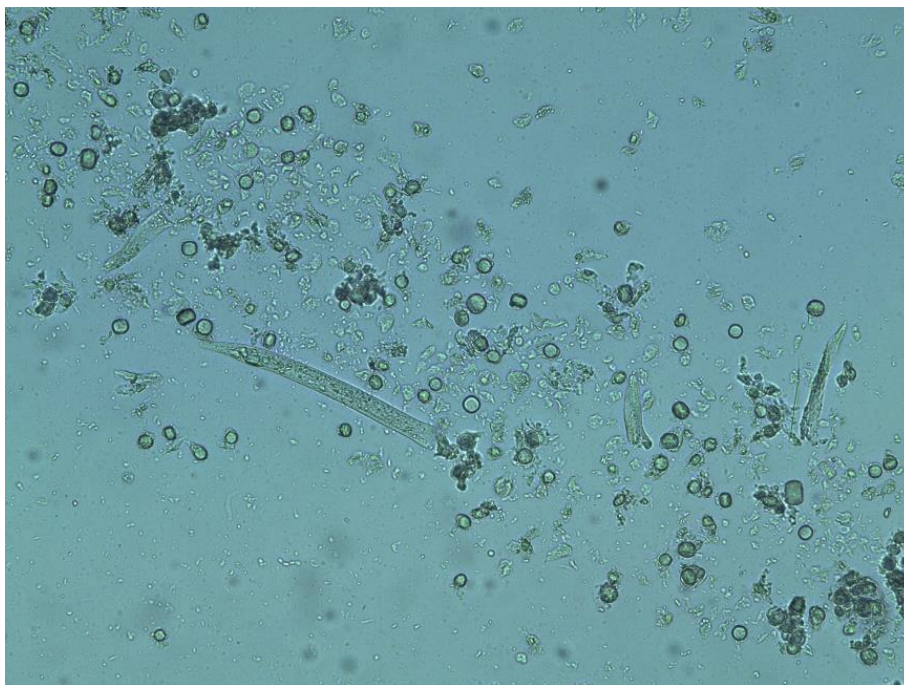
Obrázek 9: Stadium gametocyst patogenu *G. typographyi* zjištěného ve střevě lýkožrouta smrkového, zvětšení 100x (snímek autorky)



Obrázek 10: Stadium trofozoitů patogenu *G. typographyi* zjištěného ve střevě lýkožrouta smrkového, zvětšení 100x (snímek autorky)



Obrázek 11: *Chytridiopsis typographi* v hemolymfě lýkožrouta smrkového, zvětšení 100x (snímek autorky)



Obrázek 12: Virus *Entomopoxvirus typographi* zaznamenaný u lýkožrouta smrkového, zvětšení 100x (snímek autorky)

6. Diskuze

Z počtu 165 zkoumaných brouků, kteří byli použiti pro výzkum zakládání sesterských generací, se 50,3 % zakládání sesterských generací zúčastnilo. Martínek (1957) uvádí, že se zakládání sesterských generací účastní 65–70 % samic, přičemž v našich výsledcích se uvádí pouze 48,7 % samic.

Jak uvádí Anderbrant (1989), rozdíl mezi samci a samicemi zakládajícími sesterské generace není výrazný, což dokazuje fakt, že při výzkumu bylo z celkového počtu vylétnutých brouků, analyzováno 48,7 % samic a 54 % samců zakládajících sesterské generace.

Ips typographus je druh podkorního škůdce, který kolonizuje smrkové porosty hromadným náletem, přičemž se orientuje pomocí agregačních feromonů. Aby došlo k úspěšnému napadení a bylo eliminováno riziko zalití zavrtávajících se samců pryskyřicí, musí být denzita nalétávajících brouků vysoká, což vede k překonání obranyschopnosti stromu (Raffa, Berryman 1983).

Následný reprodukční úspěch v dceřiné generaci je závislý na tom, zda vývoj proběhl na stojících živých stromech nebo na ležících pokácených stromech (Hedgren, Schroeder 2004). Obsazování smrkových kmenů ovlivňuje procento přežití potomstva v důsledku rostoucí konkurence o lýko a příležitostným kanibalismem larev (Thalenhorst 1958). Samice lýkožrouta smrkového během kladení zabraňuje mortalitě vajíček předčasným opuštěním matečných chodeb a založením sesterské generace, ve které pak ovšem klade nižší počet vajíček (Anderbrant 1989). Jedinci ve vyšších nadmořských výškách produkují méně sesterských rojení, než ty rojící se v nížinách (Netherer et al. 2001) a tito dospělci překonávají při hledání stromu mnohem menší vzdálenosti, než ti v prvním rojení (Zolubas, Byers 1995).

Průměrný počet vajíček ve snůšce sesterské generace byl spočítán na 30,9 vajíček, kdežto ve snůšce první (normální) generace bylo spočítáno průměrně 19,9 vajíček na špalcích umístěných v interiéru a 23,1 vajíček na špalcích umístěných ve venkovních prostorech. Těmito výsledky se shodují s Martínkovými studii (1957, 1961), který uvádí, že mezi první snůškou a snůškou sesterskou jsou malé rozdíly, a zároveň si s Martínkem odporují, jelikož

uvádí, že v první snůšce je nakladeno více vajíček než ve snůšce sesterské. To ovšem může být způsobeno menšími populačními hustotami lýkožroutů na zdravých špalcích, z čehož vyplývá menší konkurence brouků o lýko. Také se shodují s Martínkem v názoru, že při zakládání sesterských generací byly tvořeny matečné chodby delší než při zakládání první generace. Martínek uvádí délky matečných chodeb při zakládání sesterské generace průměrně 6,7 cm. Mé výsledky dokládají délky prvních matečných chodeb průměrně na 6,2 cm v interiéru a 5,8 cm ve venkovních prostorech, kdežto délka matečných chodeb při zakládání sesterské generace je průměrně 7,6 cm.

Zajímavé je, že se zakládání sesterských generací zúčastnilo procentuálně více brouků ze špalků umístěných ve venkovních podmínkách, kde byly teploty v průměru přibližně 19 °C, avšak kolísavé – od 9 do 32 °C (65,52 % brouků), než brouků umístěných v interiéru za stálé teploty – přibližně 20 °C (42,06 % brouků). Kolísání teploty proto zřejmě nemá významný vliv na sesterské rojení. Absolutní výška teploty v mém výzkumu není významná, jelikož jsem neprováděla výzkum na živých stromech s aktivní obranyschopností, respektive tvorbou pryskyřice, která kůrovcům znemožňuje množení, jak uvádí Skuhravý (2002). Existují pouze ojedinělé záznamy, kdy nebylo zjištěno sesterské rojení vůbec, což bylo ovšem zřejmě dáno vysokou vlhkostí a nízkými teplotami ve vegetační sezóně (Harding, Ravn 1983).

Druhy patogenů vyskytující se u zkoumaných brouků, tj. hlístovky, *Gregarina typographi*, *Chytridiopsis typographi* a *Entomopoxvirus typographi* patří k nejrozšířenějším patogenům rodu *Ips* (Weiser et al. 2000, Weiser 2002, Wegensteiner 2004, Takov et al. 2010). Vzhledem k tomu, že se hromadinka *Gregarina typographi* a mikrosporidie *Chytridiopsis typographi* vyskytovaly u nízkého počtu brouků (do 6 %), můžeme předpokládat, že téměř neměly vliv na zakládání sesterských generací.

Hlístovky se vyskytovaly téměř u 50 % zkoumaných brouků, naopak *Entomopoxvirus typographi* se vyskytoval u pouhého 1,36 % zkoumaných brouků. Tento virus bývá rozšířen převážně v horských oblastech v ohniscích se stabilně vyšší populační hustotou. Nicméně i na stejné hostitelské dřevině na

stejně lokalitě se může hladina patogenů lišit, jak uvádějí ve své studii Lukášová a Holuša (2014).

Zřejmě největší vliv na tukové těleso a letovou aktivitu brouků, a tím pádem i na zakládání sesterské generace, mají schizogregariny *Menziberia chalcographi* a *Mattesia schwenkei*, které ovšem u zkoumaných brouků nebyly analyzovány. Možná i z tohoto důvodu přeletěla do sesterského rojení velká část zkoumaných brouků – přibližně 50 %.

Z tohoto předběžného výzkumu tedy můžeme usuzovat, že patogenní organismy na studijní lokalitě nemají vliv na zakládání sesterské generace, která probíhala v rozsahu uváděném dalšími autory.

7. Závěr

- Do sesterského rojení přeletělo 83 ze 165 jedinců – 50,3 %, z toho 56 samic a 27 samců.
- Rozdíly mezi délkami matečných chodeb u kladení první generace a u kladení sesterské generace nebyl statisticky signifikantní.
- Statisticky signifikantní rozdíl byl pozorován pouze velikostí snůšky sesterské generace a mezi velikostí snůšky první generace v interiéru.
- U zkoumaných brouků byly zjištěny následující patogeny s uvedenými infekčními hladinami: střevní hlístovky – 39,89 %, mimostřevní hlístovky – 49,75 %, hlístice rodu *Contortylenchus* – 1,98 %, *Gregarina typographi* – 5,59 %, *Chytridiopsis typographi* – 2,87 % a parazitoid *Tomicobia seitneri* – 0,37 %.
- Letová aktivita ani zakládání sesterských generací nemohlo být, vzhledem k nízkému výskytu nálezů na námi studované lokalitě, významně ovlivněno přítomnými patogeny.

8. Použitá literatura

ANDERBRANT O., 1989: Reemergence and second brood in the bark beetle *Ips typographus*. *Holarctic Ecology*, 12: 494-500.

ANDERBRANT O., SCHLYTER F., BIRGERSSON G., 1985: Intraspecific competition affecting parents and offspring in the bark beetle *Ips typographus*. *Oikos*, 45: 89-98.

BAKKE A., 1976: Spruce bark beetle, *Ips typographus*: pheromone production and field response to synthetic pheromones. *Naturwissenschaften*, 92 s.

CHRISTIANSEN E., BAKKE A., 1988: The spruce bark beetle of Eurasia. In: Berryman A. A. (Ed.), *Dynamics of Forest Insect Populations; Patterns, Causes, Implications*. Plenum Press, New York, pp. 479-503.

CLOPTON R. E., GOLD R. E., 1996: Host specificity of *Gregarina blattarum* von Siebold, 1839 (Apicomplexa: Eugregarinida) among five species of domiciliary cockroaches. *Journal of Invertebrate Pathology*, 67: 219-223.

FUCHS G., 1915: Die Naturgeschichte der Nematoden und einiger anderer Parasiten 1. des *Ips typographus* L. 2. des *Hylobius abietis* L. *Zoologische Jahrbücher, Abteilung für Systematik*, 38: 109-222.

HARDING S., RAVN H. P., 1983: Undersøgelse af *Ips typographus* (L.)' biologi og økologi i Danmark. M. S. thesis, Dept. of Population Biology, Univ. of Copenhagen.

HÄNDEL U., KENIS M., WEGENSTEINER R., 2001: Untersuchungen zum Vorkommen von Pathogenen und Parasiten in Populationen überwinternder Fichtenborkenkäfer (Col., Scolytidae). *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie*, 13: 423-428.

HEDGREN P. O., SCHROEDER L. M., 2004: Reproductive success of the spruce bark beetle *Ips typographus* (L.) and occurrence of associated species: a comparison between standing beetle-killed trees and cut trees. *Forest Ecology and Management*, 203, 241–250.

HOLUŠA J., WEISER J., 2005: Biologické postupy boje s lesními škůdci. *Zpravodaj Ochrany Lesa*, 11: 18-23.

- KAYA H. K., 1984: Nematode parasites of bark beetles. In: Nickle, W., R. (Eds.), Plant and Insect Nematodes. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 727-754.
- KIRKENDALL L. R., 1983: The evolution of mating systems in bark and ambrosia beetles (Coleoptera: Scolytidae and Platypodidae). Zool. J. Linn. Soc. 77: 293-352.
- LIEUTIER F., 1980: Le parasitisme d'*Ips sexdentatus* (Boern) (Coleoptera: Scolytidae) par les nématodes du genre *Parasitaphelenchus* Fuchs. Relations avec le parasitisme par *Contortylenchus diplogaster* (v. Lins.). Revue Nématology, 3: 271-281.
- LIEUTIER F., 1982: Weight variations of adipose tissue and ovaries and variations in the length of ovocytes in *Ips sexdentatus* Boern. (Coleoptera: Scolytidae); relation to parasitism by nematodes. Ann. Parasitol. Hum. Comp. 57(4), 407-418.
- LIPA J. J., 1967: Studies on gregarines (Gregarinomorpha) of arthropods in Poland. Acta Protozoologica, 5: 97-179.
- LUKÁŠOVÁ K., HOLUŠA J., 2014: Problematika patogenů u lýkožroutů. Živa, 5: 203-205.
- MACEK M., WILD J., KOPECKÝ M., ČERVENKA J., SVOBODA M., ZENÁHLÍKOVÁ J., BRŮNA J., MOSANDL R., FISCHER A., 2017: Life and death of *Picea abies* after bark-beetle outbreak: ecological processes driving seedling recruitment. Ecological Applications, 27: 156-167.
- MARTÍNEK V., 1957: K otázce zakládání tzv. sesterského pokolení u kůrovce *Ips typographus* L. v horské a chlumní oblasti. Sborník československé akademie zemědělských věd – Lesnictví, 3 (10): 687 – 722.
- MARTÍNEK V., 1961: Problém natality a gradace kůrovce *Ips typographus* L. ve střední Evropě. Rozpravy ČSAV, 71: 77 s.
- MASLOV A. D., 2001: Usykhaniye elovykh nasazhdeniy ot koroeda tipografa i integraciya zashchitnykh meropriyatiy. In: Mozolevskaya E. G.: Kompleksnyye mery zashchity elnikov evropeyskoy Rosii po podavleniyu vspyshki massovogo razmnozheniya koroeda – tipografa. Rossiyskiy Centr zashchity lesa, Pushkino: 5-17.

- MASSEY C. L., 1960: Nematode parasites and associates of the California five spined engraver, *Ips confusus* (Lec.). Proc. Helminthol. Soc. Wash. 27(1), 42-44.
- NETHERER S., GASSER G., SCHOPF A., STAUFFER C., 2001: Untersuchungen über die Bereitschaft zur Geschwisterbrutanlage des Buchdruckers *Ips typographus* (Coleoptera; Scolytidae) aus verschiedenen Höhenstufen. Cent.bl. Gesamte Forstwes. 118, 163–174.
- PFEFFER, A., 1993: Kůrovci v přírodních rezervacích. Lesnická práce, 72: 150-151.
- PHELPS N. B. D., GOODWIN A. E., 2008: Vertical transmission of *Ovipleistophora ovariae* (Microspora) within the eggs of the Golden Shiner. Journal of Aquatic Animal Health, 20: 45-53.
- RAFFA K. F., BERRYMAN A. A., 1983: The role of host plant resistance in the colonization behavior and ecology of bark beetles (Coleoptera: Scolytidae). Ecological Monographs, 53: 27-49.
- RÜHM W., 1956: Die Nematoden der Ipiden: Parasitologische Schriftenreihe, 6. Veb Gustav Fischer Verlag, Jena, 437 pp.
- SCHLYTER F., CEDERHOLM I., 1981: Separation of the sexes of living spruce bark beetles, *Ips typographus* (Coleoptera:Scolytidae). Z. Angew. Ent. 92: 42-47.
- SKUHRAVÝ V., 2002: Lýkožrout smrkový (*I. typographus* L.) a jeho kalamity. Agrospoj, Praha, 196 pp.
- ŠVESTKA M., HOCHMUT R., JANČAŘÍK V., 1996: Praktické metody v ochraně lesa. Praha: Silva Regina, 309 s.
- ŠTURSA J., 2003: Encyclopedia Corcontica: Krajina - příroda - lidé. Vrchlabí: Správa KRNAP, 88 s.
- TAKOV D., PILARSKA D., WEGENSTEINER R., 2010. List of Protozoan and Microsporidian Pathogens of Economically Important Bark Beetle Species (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Europe. Acta Zoologica Bulgarica, 62: 201-209.

THALENHORST W., 1958: Grundzüge der Populationsdynamik des großen Fichtenborkenkäfers *Ips typographus* L. Frankfurt, Sauerländer: 126 s.

UNAL S., YAMAN M., TOSUN O., AYDIN C., 2009: Occurrence of *Gregarina typographi* (Apicomplexa, Gregarinidae) and *Metschnikowia typographi* (Ascomycota, Metschnikowiaceae) in *Ips sexdentatus* (Coleoptera: Cucculionidae, Scolytinae) populations in Kastamonu (Turkey). Journal of Animal and Veterinary Advances, 8: 26872691.

VITÉ J. P., BAKKE A., RENWICK J. A. A., 1972: Pheromone in *Ips* (Coleoptera: Scolytinae): Occurrence and production. Can. Ent., 1967-1975 s.

WEGENSTEINER R., 2004: Pathogens in bark beetles. In: Lieutier F. et al. (eds.): Bark and wood boring insects in living trees in Europe: a synthesis. Dordrecht, Kluwer: 291-313.

WEGENSTEINER R., WEISE J., 1994: A new *Entomopoxvirus* in the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera, Scolytidae). J. Invertebr. Path. 65: 203-205.

WEGENSTEINER R., WEISER J., FÜHRER E., 1996: Observations on the occurrence of pathogens in the bark beetle *Ips typographus* L. (Coleoptera, Scolytidae). Journal of Applied Entomology, 120: 199-204.

WEISER J., 2002: Patogenní organismy. In: Skuhravý V. (Ed.), Lýkožrout smrkový (*Ips typographus* L.) a jeho kalamity. Agrospoj, Praha. pp. 97-100.

WEISER J., PULTAR O., ŽIŽKA Z., 2000: Biological protection of forest against bark beetle outbreaks with poxvirus and other pathogens. IUAPPA, Section B: 168-172.

WEISER J., WEGENSTEINER R., HÄNDEL U., ŽIŽKA Z., 2003: Infections with the Ascomycete *Metschnikowia typographi* n. sp. in the bark beetle *Ips typographus* and *Ips amitinus* (Col., Scolytidae.). Folia Microbiologica, 48: 611-618.

WERMELINGER B., 2004: Ecology and management of the spruce bark beetle *Ips typographus* – a review of recent research. Forest Ecology and Management, 202: 67-82.

ZAHRADNÍK P., 1996: Zimování lýkožrouta smrkového (*Ips typographus* L.) v hrabance. Zpravodaj ochrany lesa, 3: 9-11.

ZAHRADNÍK P., 2006: Základy ochrany lesa v praxi. 2. vydání. Lesnická práce. Kostelec nad Černými lesy, 2006: 128 s.

ZOLUBAS P., BYERS J. A., 1995: Recapture of dispersing bark beetle *Ips typographus* L. (Col., Scolytidae) in pheromone-baited traps: regression models. Journal of Applied Entomology. 119, 285–289.

ZUMR V., 1985: Biologie a ekologie lýkožrouta smrkového (*Ips typographus* L.) a ochrana proti němu. Studie ČAZV, 17 (1985): 1-106.