

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra ochrany lesa a entomologie



Výskyt patogenu *Larssoniella duplicati* v původních a nových ohniscích
Ips duplicatus v Evropě

Diplomová práce

Autor práce: Soňa Zimová

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

2017

Czech University of Life Sciences Prague

Faculty of Forestry and Wood Sciences

Department of Forest Protection and Entomology



Occurrence of the pathogen *Larssoniella duplicati* in the indigenous and new outbreak areas of *Ips duplicatus* in the Europe

Master thesis

Author: Soňa Zimová

Supervisor: Mgr. Karolina Lukášová, Ph.D.

2017

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. Soňa Zimová

Lesní inženýrství

Název práce

Výskyt patogenu *Larssoniella duplicati* v původních a nových ohniscích *Ips duplicatus* v Evropě

Název anglicky

Occurrence of the pathogen *Larssoniella duplicati* in the indigenous and new outbreak areas of *Ips duplicatus* in the Europe

Cíle práce

– cílem práce je srovnat infekční hladiny druhově specifické mikrosporidie *Larssoniella duplicati* v původních ohniscích ve Švédsku s novými gradačními oblastmi v Polsku, České republice a Rumunsku

Metodika

- materiál *Ips duplicatus* bude získán z odchyťů z feromonových lapačů z několika lokalit v Evropě
- z každé lokality bude vyloučeno minimálně 100 jedinců a analyzováno druhové spektrum patogenů se zaměřením na mikrosporidii vázanou pouze na lýkožrouta severského: *L. duplicati*
- infekční hladiny zjištěných patogenů budou srovnány v rámci původních gradačních oblastí (Švédsko) s nově vzniklými gradačními oblastmi v Polsku, České republice a Rumunsku
- výsledky budou diskutovány s již publikovanými výsledky a studii ze střední Evropy

Doporučený rozsah práce

40 stran včetně Příloh

Klíčová slova

lýkožrout severský, mikrosporidie, invazní druh, feromonové lapače

Doporučené zdroje informací

- HOLUŠA J, KNÍŽEK M, LUBOJACKÝ J 2010 Distribution of the double-spined spruce bark beetle *Ips duplicatus* in the Czech Republic: spreading in 1997–2009. *Phytoparasitica* 5: 435-443.
- HOLUŠA J, WEISER J, DRÁPELA K 2007 Pathogens of *Ips duplicatus* (Coleoptera, Scolytidae) in three areas in Central Europe. *Acta Protozool* 46: 157-167.
- HOLUŠA J, WEISER J, ŽIŽKA Z 2009 Pathogens of the spruce bark beetles *Ips typographus* and *Ips duplicatus*. *Cent Eur J Biol* 4: 567-573.
- HOLUŠA J, ZAHRADNÍK P, KNÍŽEK M, DRÁPELA K 2003 Seasonal flight activity of the double-spined spruce bark beetle *Ips duplicatus* (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae) in Silesia (Czech Republic). *Biologia* 58: 935-941.
- 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 Zoolog Bulg* 62: 201-209.
- WEGENSTEINER R, WEISER J 2004 Annual variation of pathogen occurrence and pathogen prevalence in *Ips typographus* L. (Col, Scolytidae) from the BOKU University Forest Demonstration Centre. *J Pest Sci* 77: 221-228.
- WEISER J, HOLUŠA J, ŽIŽKA Z 2006 *Larssoniella duplicati* n.sp. (Microsporidia, Unikaryonidae) in the double – spined spruce bark beetle, *Ips duplicatus* (Coleoptera, Scolytidae) in Central Europe. *J Pest Sci* 79: 127-135.
-

Předběžný termín obhajoby

2016/17 LS – FLD

Vedoucí práce

Mgr. Karolina Lukášová, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra ochrany lesa a entomologie

Elektronicky schváleno dne 2. 5. 2016

prof. Ing. Jaroslav Holuša, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 29. 1. 2017

prof. Ing. Marek Turčáni, Ph.D.

Děkan

V Praze dne 05. 03. 2017

Ráda bych tímto poděkovala především vedoucí své bakalářské práce Mgr. Karolině Lukášové Ph.D. za pomoc a trpělivost se zpracováním práce a vlídné vedení v rámci celého studia.

Také bych chtěla poděkovat rodině a přátelům za podporu a uklidňující slova, když jich bylo třeba.

Prohlašuji, že diplomovou prací na téma Výskyt patogenu *Larssoniella duplicati* v původních a nových ohniscích *Ips duplicatus* v Evropě jsem vypracovala samostatně pod vedením Mgr. Karoliny Lukášové, Ph.D. a s použitím odborné literatury a dalších zdrojů, které jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Jsem si vědoma, že zveřejněním bakalářské 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 Jílovém u Prahy dne

Podpis autora.....

ABSTRAKT

Diplomová práce byla zaměřena na patogenní organismus specifický pro lýkožrouta severského, *Ips duplicatus* (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae). Byl získán materiál z 21 lokalit ze čtyř různých států. Mikrosporidie *Larssoniella duplicati*, která infikuje střevní svalstvo, Malpigické trubice a vaječníky dospělců *I. duplicatus*, byla zjištěna na lokalitách ve Švédsku, Polsku, České republice a Rumunsku a data z těchto států byla porovnána. Průměrná infekční hladina tohoto patogenu byla 16 %. Infekční hladiny mezi skupinami lokalit ze zkoumaných států nebyly statisticky signifikantní. Infekce *L. duplicati* se nelišila mezi pohlavími. Relativně stabilní infekční hladina *L. duplicati* naznačuje, že patogen je chronickým onemocněním. Z dalších patogenních organismů byla zjištěna přítomnost hlístovek a velmi nízká infekční hladina mikrosporidie *Chytridiopsis typographi*, které byly rovněž mezi jednotlivými státy porovnány.

Klíčová slova: *Larssoniella duplicati*, mikrosporidie, lýkožrout severský, *Ips duplicatus*, invazní druh, feromonové lapače

ABSTRACT

This thesis was focused on a pathogen specific for the double-spined spruce bark beetle *Ips duplicatus* (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae). Material from 21 localities of four countries was collected. The microsporidium, *Larssoniella duplicati*, that infects the midgut muscularis, the Malpighian tubules, and the ovaries of adult *I. duplicatus*, was detected at localities in Sweden, Poland, Czech Republic and Romania and the data were compared. Average infection level of this pathogen was 16 %. Infection levels among groups of localities from these countries were not statistically significant. The infection level of *L. duplicati* did not differ between males and females. The relatively stable infection of *L. duplicati* suggests that the pathogen is chronic. Of other pathogens there were detected the infestation of nematodes and very low infestation of *Chytridiopsis typographi* and they were compared among countries too.

Keywords: *Larssoniella duplicati*, microsporidia, double-spined spruce bark beetle, *Ips duplicatus*, invasive species, pheromone traps

Obsah

1	ÚVOD.....	10
2	CÍLE PRÁCE	13
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED	14
3.1	Popis lýkožrouta severského	14
3.2	Způsob života	14
3.3	Výskyt lýkožrouta severského	16
3.4	Monitoring a obrana	16
3.5	Feromony	17
3.6	Patogeny.....	18
3.6.1	<i>Larssoniella duplicati</i>	19
3.6.2	<i>Chytridiopsis typographi</i>	20
3.6.3	<i>Gregarina typographi</i>	20
3.6.4	Hlístice	21
4	METODIKA.....	23
	Pracovní postup	23
5	VÝSLEDKY.....	26
6	DISKUZE	35
7	ZÁVĚR.....	39
8	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	40
9	Seznam obrázků.....	44
10	Seznam grafů	45
11	Seznam tabulek.....	46

1 ÚVOD

Kůrovci jsou jedním z nejnebezpečnějších hmyzích škůdců v lesích. Většinou nalétávají nedávno poškozené a fyziologicky slabé stromy, které jsou ovlivněny nejčastěji lidskou činností doplněnou stresovými faktory vnějšího prostředí. Zvýšené počty kůrovců mohou způsobit nedostatek prostoru pro všechny dospělce k rozmnožování, což vede k napadení zdravých stromů a jejich úhynu. Nejčastěji používanými kontrolními opatřeními proti kůrovcům jsou sanační postupy napadené dřevní hmoty. Toto řešení je však často velmi drahé a vede ke vzniku rozsáhlých holin. Biologická ochrana by v tomto případě mohla být velmi účinná. Za použití přirozených nepřátel kůrovců, jakými jsou patogenní organismy, by bylo možné omezit růst populace a tak zamezit vzniku větších škod. Předpokladem je možnost vmanipulování patogenu do organismu kůrovce pro rozšíření nákazy v populaci (Takov et al., 2010).

Lýkožrouta severského – *Ips duplicatus* (Sahlberg, 1836) řadíme do čeledi nosatcovitých (Curculionidae), patřícího do řádu brouků (Coleoptera). V České republice se v minulosti neprojevoval jako škůdce, který by mohl způsobit potenciálně vážnější škody. Jeho první gradace se zde udává v 90. letech 20. století ve Slezsku a v oblasti severní Moravy, kde na sebe poprvé upozornil ve větším měřítku (Knížek a Holuša, 2007).

Dle Holuši et al. (2010), je od roku 1970 zaznamenán pomístní výskyt l. severského na smrkových stanovištích na severovýchodě České republiky. Podle monitoringu probíhajícího v letech 1997 – 2009 se lýkožrout severský překvapivě nacházel na území celé republiky již v roce 1997 a v nadmořských výškách až do 650 m.n.m. Nejvyšší odchvy se objevovaly na severní Moravě a ve Slezsku, kde se jejich centrum nachází i dnes. V roce 2002 jeho počty výrazně poklesly. Zatímco po roce 2005 začal expandovat z východní, části území České republiky, která tvořila jeho ohnisko výskytu, na sever a západ do střední části Čech, kde byl dříve v nižší populační hustotě a nezpůsobil tak do té doby větší hospodářské škody.

Po přemnožení v Česku během 90. let 20. století byl zjištěn jeho výskyt i v přilehlých částech Slovenska, kde byl při průběžném monitoringu zaznamenán jeho narůstající výskyt. Kůrovcové stromy s výskytem převážně lýkožrouta severského byly evidovány ve třech hlavních lokalitách v okolí Čadce, Považskej Bystrice a Oravskej Polhory (Novotný, Zúbrik et al., 2004).

První větší ohnisko tohoto druhu v Rumunsku bylo zjištěno na smrkových porostech v roce 2008 v jeho severovýchodní části. Duduman et al. (2011) udává, že výskyt lýkožrouta severského se od roku 2008 do roku 2011 výrazně rozšířil po území. *I. duplicatus* se zde nachází téměř na všech smrkových stanovištích do 1000 m.n.m. po celém Rumunsku. V severovýchodní části dokonce dosahuje kalamitního stavu, především v oblasti Calafindești okres Suaceva.

I když lýkožrout severský není v hlavním zájmu monitoringu, je zřetelně znát jeho postupné šíření na nová území. Již od roku 1997 je v České republice plošně monitorován výskyt *I. duplicatus* (Holuša et al., 2013). Při porovnání odchyty na Moravě a Slezsku mezi roky 1999 a 2000. V roce 2000 bylo vytěženo více jak 7000 metrů krychlových smrkového kůrovcového dřeva, což je třikrát větší množství než v roce předešlém (Knížek et al., 2006). V porovnání s odchvy z předešlých let množství jedinců v odchvytech v roce 2002 pokleslo a poslední gradace proběhla v roce 2003. Avšak od roku 2005 zůstaly počty lýkožroutů vyšší a byly zaznamenány i vyšší odchvy v jižní části země a *I. duplicatus* se postupně začíná šířit z původních východních území Čech na jih a západ a začíná se dostávat do oblasti středních Čech (Holuša et al., 2013).

Pro porovnání v Polsku byla zaznamenána velká lokální gradace l. severského již ve druhé polovině 90. let na jihu území na slezských pahorkatinách, která byla prvním výskytem l. severského na smrku tohoto území v takovém měřítku. Z toho důvodu byla v letech 2001 – 2002 utvořena monitorovací síť po celém jižním území, kde byly odchvy zaznamenány pouze v západních Karpatech (Holuša et al., 2013). Zde byl dokonce potvrzen výskyt *I. duplicatus* až v nadmořských výškách kolem 1000 m.n.m. Jeho lokace podél polských hranic je úzce spojená s jeho výskyty na severu Slovenska a severní Moravě v rámci České republiky (Grodzki, 2003).

Zatímco v Rumunsku je tento druh poměrně nový, protože se na monokulturách smrku zjistil teprve v nedávných letech. První gradace a následné zavedení monitoringu a kontrolních opatření proběhla až v letech 2004 – 2008, kdy se *I. duplicatus* objevil v severovýchodní části země, kde se smrky vyskytují na areálech, kde má původní stanoviště buk a dub. Smrkové porosty zde ještě ke všemu byly oslabeny předchozími obdobími sucha a následně počet zjištěných brouků stále narůstá. V letech 2010 – 2011 byl l. severský zaznamenán na celém území rumunské části Karpat v polohách do 1000 m.n.m. V původním ohnisku výskytu na severovýchodě Rumunska dokonce odchyt dosáhl kalamitního stavu. Prvonaález *I. duplicatus* na Slovensku byl již v roce 1997 stejně jako v Čechách. Od té doby se východním a jižním směrem přes hranice dál

do sousedních států. V posledních několika letech se stal dokonce na slovenské části Karpat hlavním škůdcem na smrkových porostech (Holuša et al., 2013).

Z těchto poznatků se dá usuzovat, že l. severský se velmi rychle šíří dále na jih a vyskytuje se již téměř po celé střední Evropě, má tedy vysoký gradační potenciál. V důsledku klimatických změn, fyziologickým oslabením a následným výskytem fytopatologických organismů jako například václavek se však jeho výskyt rozšiřuje a tím roste jeho význam v ochraně lesa (Lukášová a Holuša, 2015).

Druhově specifický patogen l. severského *Larssoniella duplicati* (Weiser, Holuša, Žižka, 2006) byl poprvé popsán z České republiky a Polska (Weiser et al., 2006). Jeho infekční hladiny a přítomnost v původním areálu (Švédsko) a nově obsazeném území (Rumunsko) doposud nebyly zjišťovány a mechanismy jeho šíření spolu s hostitelem nebyly studovány. Obecně se o něm hovoří jako o chronickém patogenu bez většího významu v populační dynamice lýkožroutů (Holuša et al., 2009). Poznání současného stavu v jednotlivých ohniscích *L. duplicatus* v této studii nám poskytne potřebné informace pro další postup v případném zvažování potencionálního užití tohoto patogenu v biologické ochraně.

2 CÍLE PRÁCE

- získat materiál lýkožrouta severského z několika lokalit
- vypitvat materiál a prozkoumat přítomnost mikrosporidie *Larsoniella duplicati*
- porovnat infekční hladiny z původních ohnisek ve Švédsku s novými oblastmi gradace v České republice, Polsku a Rumunsku

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Popis lýkožrouta severského

Dospělec lýkožrouta severského je 2,8 – 4,5 mm dlouhý, tmavě hnědý a lesklý. Mohl by být zaměněn nejčastěji za lýkožrouta smrkového, avšak od toho se liší menší velikostí a zuby na zadečku, nebo s lýkožroutem menším, který má však rovné švy na tykadlové paličce a jiné uspořádání výrůstků na zadní části krovek (Knížek a Holuša, 2007).

Ips duplicatus má tykadlovou paličku se zvlněnými švy. Krovky jsou válcovité s jemnějším tečkováním pokračujícím až do prohlubeniny v jejich zadní části, která je prohnutá a zadní okraj tak lehce vystupuje dopředu. Mezirýží lesklá s jednotlivými tečkami. Na zadní části krovek má 4 páry výrůstků. Vzdálenost mezi prvním a druhým zoubkem je dvakrát větší než mezi druhým a třetím. Právě druhý a třetí výrůstek jsou k sobě u samce přiblížené a propojené a tvoří výrazný dvojzub (Pfeffer, 1955).

Vajíčka jsou dlouhá průměrně 0,7 mm, bílá, oválná a lesklá. Larva bělavá, bez končetin zahnutá s chitinizovanou hlavou dorůstá 4,5 – 5,5 mm v posledním instaru. Kukla je velká 5 mm, volná s párem krátkých trnů na zadečku (Knížek a Holuša, 2007).

3.2 Způsob života

Hlavní hostitelskou dřevinou *Ips duplicatus* je ve střední Evropě smrk ztepilý, avšak je znám jeho výjimečný nález na borovicích (Pfeffer, 1955). V jižním Polsku a na východě Čech byl také zjištěn jeho výskyt na druzích *Pinus strobus* (Linné, 1753) – borovice vejmutovka a *Pinus sylvestris* (Linné, 1753) – borovice lesní. Napadené borovice jsou ale pouze jednotlivé stromy v porostu, které bývají napadeny v době zvýšeného stavu populační hustoty lýkožrouta severského (Holuša a Grodzki, 2008). Na východě České republiky byl dokonce potvrzen jeho výskyt na douglasce tisolisté – *Pseudotsuga menziesii* ([Mirbel] Franco). Byly zde objeveny dva hustě napadené stromy douglasky, v porostu dominujícího smrku, na kterých se l. severský úspěšně vyvíjel (Kašák a Foit, 2015). Nalétnutí jiných druhů jehličnatých stromů, může být způsobováno pouze nedostatkem vhodných hostitelských smrků.

Ips duplicatus se objevuje většinou společně s *I. typographus* (Linné 1758), avšak obývá odlišná stanoviště. Lýkožrout severský totiž nenalétává padlé stromy ani lapáky. Nalezneme ho pouze na oslabených stojících stromech. Stromy ležící

následkem bouře nebo sněhu tedy nenalétává a netvoří v takovýchto oblastech v porostu ohniska množení (Holuša et al., 2007).

Vývoj 1. severského probíhá pod kůrou smrků ve věku 40 – 70 let ve střední až horní části kmene. Matečné chodby požerky mají 1 – 5 ramen, mají podélný průběh a jsou lehce zprohýbané. Jejich délka se pohybuje mezi 7 – 10 cm a jsou 2 mm široké. Krátké larvální chodby, maximálně 5 cm dlouhé, navazují víceméně kolmo na matečné chodby. Tvarem se požerky velmi podobají požerkům lýkožrouta smrkového – *Ips typographus* (Křístek a Urban, 2013). Od něj se však liší menší velikostí stejně tak jako závrtové, větrací a výletové otvory (Knížek a Holuša, 2007).

Dle některých autorů by se u tohoto druhu měla objevovat v oblasti tajgy a severního Polska pouze jedna generace s jarním náletem v druhé polovině května a červnu (Pfeffer, 1955). Ve střední Evropě je však tento druh polyvoltinní. Naprosto běžně se objevují dvě generace za rok, v případě vysokých letních teplot, i generace třetí. Pokud by byly nastaveny naprosto ideální podmínky, druh by mohl za rok stihnout ještě o generaci více. Stejně jako u lýkožrouta smrkového, závisí počátek rojení *I. duplicatus* na teplotním vývoji v dubnu, avšak dle pozorování je oproti smrkovému lýkožroutovi o dva týdny opožděné. První generace se obvykle objevuje od počátku května, druhá pak v červenci. Pokud nastanou podmínky pro vývoj třetí generace, tak její výlet probíhá během srpna až září. Lýkožrout absolvuje také sesterské přerojování (Holuša et al., 2003).

Samci nalétávají hostitelský strom a po vyhloubení závrtového otvoru a snubní komůrky lákají samice pomocí agregačního feromonu. Samice poté hloubí matečné chodby, kde jsou schopny do jednotlivých prohlubní naklást průměrně 60 vajíček (Knížek a Holuša, 2007). Larvy se líhnou po jednom až dvou týdnech a vyvíjí se tři týdny za vhodných podmínek. Během vývoje si hloubí larvální chodby, ve víceméně kolmém směru na chodbu matečnou. Po zakuklení setrvává jedinec ve stadiu kukly přibližně něco přes týden. Vylétávající žlutí brouci následně prodělávají dvoutýdenní zralostní žír. Celkově vývoj *I. duplicatus* trvá mezi 6 a 8 týdny (Lukášová a Holuša, 2015). Kůrovec přezimuje ve stadiu dospělce po proběhnutém zralostním žíru nebo během něj v hrabance nebo pod kůrou stromů, méně často poté jako larva nebo kukla (Pfeffer, 1955; Novotný et al., 2004).

3.3 Výskyt lýkožrouta severského

Přirozený výskyt lýkožrouta severského se nachází v palearktické oblasti od severovýchodní Asie přes střední a severovýchodní Evropu až do skandinávské oblasti. Od počátku 20. století se objevuje po celé euro-sibiřské tajze od Sachalinu až po Švédsko a šíří se dál na jih. To je způsobeno pravděpodobně umělým vysazováním monokultur smrku a díky obchodu s dřevní hmotou. Také je znám jeho výskyt v izolovaných populacích v Alpách (Pfeffer, 1995).

Úplně první zmínky o *I. duplicatus* ve střední Evropě pochází z Horního Slezska a stejně tak z oblasti Czestochowe a Kielce na jihu Polska. V České republice je první výskyt zaznamenán ve východní části v oblasti Českého Těšína. A již v roce 1941 byl zjištěn mnohem jižněji na Slovensku u Luborči (Holuša et al., 2013).

V České republice gradoval v roce 1992 a tato gradace trvala další 3 – 4 roky, pravděpodobně i díky jeho komplikovanější kontrole (Holuša et al., 2010). Polská gradace probíhala mezi lety 1991 – 1995 na smrkových porostech do výšky 600 m.n.m. a ovlivnila porosty jižního Polska a slezských vrchovin (Grodzki, 1997). První gradace l. severského v Rumunsku byla v kulturách smrku ve věku 30 – 40 let na nepůvodním stanovišti ve výšce 300 – 400 m.n.m. Během několika let se postupně od monitoringu přešlo k obranným opatřením, která ale na některých místech nebyla dostačující a počty napadených stromů zde byly v roce 2008 až třikrát vyšší než v roce 2007 (Olenici et al., 2009).

3.4 Monitoring a obrana

Kontrola tohoto druhu v celostátním měřítku se většinou ve státech střední Evropy neprovádí vzhledem k pomístnímu ohniskovému výskytu. Hlavní způsob obrany spočívá v důsledném a včasném vyhledávání kůrovcových stromů a jejich asanaci (Novotný, Zúbrik et al., 2004). Napadení takovýchto jedinců není lehce pozorovatelné vzhledem k nalétávání osluněných horních partií korun vzrostlých stromů, což ztěžuje jejich vyhledání v porostu. Stejně tak barevné změny v koruně se projevují většinou již během nebo po výletu nové generace lýkožroutů. Vizuální kontrola se provádí v porostech se zastoupením smrku nad 20 % ve stáří vyšším než 40 let. Monitoring i obranu lze provádět také za pomoci lapačů umístěvaných do míst se zvýšeným výskytem tohoto škůdce. Vzhledem k tomu, že tento druh nereaguje na ležící lapáky, lze je použít pouze v kombinaci s feromonovými odparníky (Lukášová a Holuša, 2015). Do lapačů jsou používány feromonové odparníky s látkami E –

myrcenol a Ipsdienol. Lapače se umisťují do potenciálně ohroženého porostu přibližně 14 dní před předpokládaným prvním rojením. Doporučuje se alespoň 1 lapač na oblast o velikosti 5 ha. Při odchytu do 300 jedinců na lapač se jedná o slabý odchyt, 300 – 1000 jedinců střední a při odchytu více než 1 000 jedinců jde o silný stupeň odchytu (Jakuš et al., 2015).

V biologické ochraně u kůrovců, která je značně komplikovaná, je využití mikrosporidií neúčelné. Mikrosporidie jako takové se využívají spíše u bekyní či pilatek, kde vytváří chronická onemocnění se zřetelnou mortalitou housenek. Jejich namnožování je však možné především na laboratorních chovech (Holuša a Weiser, 2005). Na některé lesní škůdce je využívání biologické kontroly účinné jako u bekyně velkohlavé v severní Americe. Zde je úspěšně jako biologická obrana proti tomuto listožravému motýlu využívána entomopatogenní houba *Entomophaga maimaiga* (Humber, Shimazu, R. S. Soper, 1988). Spory této houby se šíří vzduchem z usmrčených housenek a byl prokázán jejich vliv na snížení nebo úplné zničení populace bekyně, zatímco necílové druhy motýlů zůstaly nedotčeny (Lacey et al., 2001). Přes množství popsáných prvoků a mikrosporidií jako patogenních organismů u kůrovců je jejich využití jako ekologicky bezpečné a efektivní biologické ochrany velmi těžko aplikovatelné do praxe (Takov et al., 2010). Pro to, aby mohly patogeny sloužit jako náhrada chemických insekticidů, by bylo třeba zvýšit jejich virulenci, rychlost zabití hostitele, efektivitu v náročných podmínkách životního prostředí a koneckonců jejich přijetí odběrateli a širokou veřejností (Lacey et al., 2001).

3.5 Feromony

Samci *Ips duplicatus* produkují agregační feromon, aby na vhodný hostitelský strom nalákali nejen samice za účelem páření, ale také další samce k společnému osídlení dřevní hmoty smrku ztepilého. Tento agregační feromon se skládá především z látek ipsdienol a E-myrcenol v poměru 5:1. Testy prokázaly, že tyto dvě látky v kombinaci mají zásadní význam v atrakci jedinců stejného druhu (Byers et al., 1990). Tyto feromony produkují sami samci kůrovce. Monoterpen myrcen přítomný v pryskyřici hostitelského smrku ztepilého, nemá žádný nebo pouze velmi malý vliv na syntézu ipsdienolu a E-myrcenolu (Ivarsson a Birgersson, 1995).

3.6 Patogeny

Výzkum patogenů kůrovců byl zahájen na počátku 20. století popisem prvního patogenního organismu, prvoka *Gregarina typographi* (Fuchs, 1915) nalezeného v těle lýkožrouta smrkového. Zájem o patogeny se tak zvýšil a se zvýšením počtu studovaných hostitelů se zvětšil i seznam nalezených druhů prvoků, mikrosporidií a virů. Lokalizace patogenů v těle hostitele se liší a z orgánů zahrnuje nejčastěji střeva a tukové těleso (Takov et al., 2010).

V Evropě byly výzkumy zaměřené především na hospodářsky velmi závažného škůdce lýkožrouta smrkového. Vzhledem k tomu, že lýkožrout severský se jako významný škůdce projevuje až v posledních několika letech, nebyl do těchto výzkumů zahrnut. Některé patogenní organismy jsou společné pro oba druhy kůrovců, avšak u *Ips duplicatus* se prokazuje přítomnost pro tento druh specifické mikrosporidie (Holuša et al., 2007).

Patogeny, které můžeme najít společně jak u lýkožrouta smrkového, tak lýkožrouta severského jsou *Gregarina typographi* (Fuchs, 1915) nacházející se v prostředí střeva a *Chytridiopsis typographi* ([původně *Haplosporidium typographi*, Weiser, 1954]; Weiser, 1970) ve střevním epitelu (Takov et al., 2010). Holuša et al. (2007) uvádí ještě společný patogenní organismus rodu *Pichia*, který se podobá druhu *Pichia capsulata* (Wickerham, 1984), nalezený v oblasti Malpigických trubic, který však spíše slouží jako symbiont při syntetizování feromonů.

Za zmínku také stojí endoparazitoidi kůrovců objevující se ve vnitřním prostředí nejčastěji v podobě larvy. Jako například *Tomicobia seitneri* (Ruschka, 1924) u l. smrkového, pravděpodobně i u dalších kůrovců rodu *Ips*. Tento parazitoid je v podobě vajíček nakladen do dospělce lýkožrouta. Tito jedinci jsou stále schopni přežít pod kůrou a klást vajíčka, ale jejich plodnost může být omezena v průměru až o 30 %. Po dokončení vývoje parazitoidi usmrtí hostitelského kůrovce v požerku a opouští jeho tělo. Výskyt tohoto parazitoida může dosáhnout u populace l. smrkového až 100 % (Kenis et al., 2004).

Pitvy larev, kulek a nedospělých brouků lýkožrouta severského byly negativní a v těchto vývojových fázích nebyla ani prokázána patrná úmrtnost v chodbách požerků (Weiser et al., 2006). Mezi jednotlivými generacemi dospělců nebyl zjištěn signifikantní rozdíl v infekční hladině patogenů (Holuša et al., 2009).

3.6.1 *Larssoniella duplicati*

Jedná se o již široce rozšířenou chronickou nákazu, která může být nalezena někde až u 80 % vzorků s vysokým stupněm infekce (Holuša et al., 2009). Tato poměrně nová patogenní mikrosporidie byla zjištěna pouze u lýkožrouta severského a nebyla potvrzena prozatím u lýkožrouta smrkového ani jiného druhu kůrovce, tedy pravděpodobně se jedná o druh specifický pouze pro *Ips duplicatus*. Nachází se ve střevní tkáni po celé délce střeva, malpighických trubicích a vaječnicích. K nákaze dochází v podélných a okružních svalech středního střeva a v matrix tracheálních zakončení na jeho povrchu. Jednojaderné oválné spory ve vegetativní fázi se shlukují v soudržných masách v centrální části svalu, kde ničí svalová vlákna a svalovinu střeva, zatímco infikovaná vlákna jsou rozptýlena ve všech částech střeva. Infekce se zřejmě šíří z tělesné dutiny (Weiser et al., 2006, Holuša et al., 2007).

Spory jsou široce oválné, tvarově i velikostně pravidelné. Infikovaná svalová vlákna drží spory fixované, a proto drží v tkáni i při narušení střeva. Měření fixovaných nabarvených spor ukazuje dvě hlavní velikostní skupiny spor. Až 60 % jsou spory o velikosti 3-3,5 x 1,5-2 μm , 30 % tvoří drobné spory 2-2,5 x 1,5 μm velké a zbylých 10 % jsou zdvojené teratospory o velikosti 4-5 x 2-2,5 μm . Podle pozorování pod elektronovým mikroskopem se spory v infikovaných tkáních objevují v hustých shlucích. Tato tvorba skupin spor bez jejich šíření při pitvání materiálu je pro lýkožrouta severského také specifická (Weiser et al., 2006).

Tento jev může být vysvětlen tvorbou množství sekrečních kanálků během sporogonie, což jsou poměrně dlouhé trubicovité struktury, které jsou někdy svinuté, přiléhající k vrcholové nebo zadní části formujících se spor. Tyto kanálky, vážou zničené tkáně dohromady a výtrusy tak nejsou uvolňovány do prostředí, jak je tomu u jiných mikrosporidií. Vzhledem k tomu není možné spory mikrosporidie *L. duplicati* pořádně identifikovat ve stěrech z fragmentů tkáně infikovaného střeva (Holuša et al., 2007). Vzhledem k fixaci spor v tkáni, není střevní svalstvo zcela zničené a svalová vlákna vyvíjí dál určitou aktivitu. Tím není zcela přerušena kompresní pohybová potřeba k pohybu potravy (Weiser et al., 2006).

Ve sporogonii mikrosporidií *L. duplicati* byly identifikovány dva typy spor. Prvním typem jsou spory primární, které stojí za přenosem zárodků v tkáni prvního hostitele. Druhým typem jsou environmentální spory, které v hostiteli zůstávají neporušené a slouží k pozdějšímu rozšíření infekce do prostředí. Primární spory vývojem nedospívají do stadia environmentálních spor. Primární spory jsou přenášeny

v oenocytech a vytlačovány epitelovými buňkami skrz povrch střeva, kde vyčnívající polární vlákna mohou předat patogen do nových částí svaloviny (Holuša et al., 2007). Přítomnost tohoto patogenu nebyla prokázána u larev, kukel ani nezralých brouků a u těchto stadií v chodbách nebyla prokázána ani zvýšená úmrtnost. Patogenita mikrosporidie nezpůsobuje zjevné zmenšování populace příštích generací (Weiser et al., 2006).

Rod *Larssoniella* má známé pouze dva zástupce. Mikrosporidie tohoto rodu patří do čeledi *Unikaryonidae*. Prvotně nalezenou mikrosporidií tohoto rodu je *Larssoniella resinellae* (Weiser, 1997) sp. n. nalezená u motýla druhu *Retinia resinella* (Linnaeus, 1758). Mikrosporidie byla nalezena u larev, kukel, dospělců i vajíček v hedvábných žlázách, Malpigických trubicích, tělním tuku a pohlavních žlázách (Weiser a David, 2006). Vzhledem k podobné stavbě a způsobu uvolňování spor, byly tyto dvě mikrosporidie zařazeny do stejného rodu (Weiser et al., 2006).

3.6.2 *Chytridiopsis typographi*

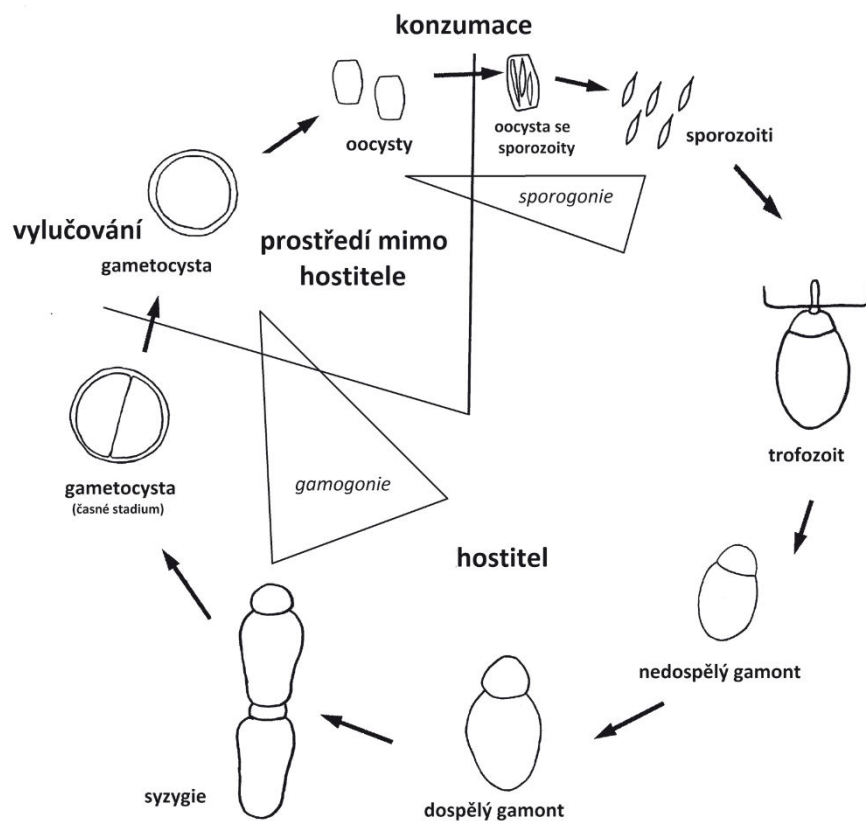
Jedná se také o mikrosporidiální patogenní organismus, vyskytující se především u *Ips typographus*, v menší míře poté i u *Ips duplicatus*. Infikovaní jedinci nevykazují žádné vnější morfologické znaky přítomnosti mikrosporidií v těle. Jedinci později identifikovaní jako infikovaní se neprojevovali tak aktivně a přestali přijímat potravu. Infekce se při pitvě projevuje na pohled zvětšeným (hypertrofovaným) průhledným střevem. V případě silné infekce je střevo úplně zničené a vyplněné množstvím volných cyst a spor. Toto uvolňování spor do střeva a skrze výkaly jejich přenos na ostatní jedince během agregace a migrace způsobuje rozšiřování infekce (Purrini a Weiser, 1985). Wegensteiner a Weiser (2004) zjistili častější výskyt tohoto patogenu u dospělých samců *I. typographus* než u samic.

3.6.3 *Gregarina typographi*

Cizopasník *Gregarina typographi* patří mezi prvoky často se vyskytující v zažívací soustavě kůrovců. Lze nalézt v oblasti střeva v několika formách s různou morfologií. V jarním období se objevují formy srpečkovitého tvaru, zatímco v létě jsou formy poměrně větší a prvek získává spíše tvar hříbku. Gregariny se spojují a tvoří cysty se silnou stěnou, kde se uvnitř tvoří velké množství spor. Takto vzniklé cysty odchází nezralé střevem do chodeb, kde se dále vyvíjí (Weiser, 1954). Tyto patogeny mají přímý vývojový cyklus bez mezihostitele a tvoří několik stadií, která vypadají odlišně. Ve střevním epitelu se sporozoiti vyvíjejí v trofozoity, kteří jsou spojeni se

střevním epitelem. Během syzygie se spojují vždy dva trofozoiti a vzniká tak reproduktivní gametocysta. Tyto gametocysty nakonec spolu s trusem vychází z těla hostitele ven, kde po uzrání praskají a následuje znovu životní cyklus (Lukášová a Holuša, 2012). K nákaze dalších jedinců dochází pozřením drobných spor s potravou. Ani při značném procentu gregarin přítomných na stěně žaludku, nepůsobí množství prvoků u lýkožrouta žádné viditelné komplikace (Weiser, 1954).

Obrázek 1: Životní cyklus *Gregarina typographi*; (zdroj: Lukášová a Holuša, 2012)



3.6.4 Hlístice

Hlístice jsou důležitým faktorem ovlivňujícím kůrovce. Ovlivňují zřejmě plodnost, počty nakladených vajíček, letovou aktivitu a délku života hostitele. Tyto organismy se nachází především na povrchu těla dospělců, ale také v jejich tělních dutinách, buďto volně ve vnitřním prostředí nebo ve střevech, velmi zřídka také v Malpigických trubicích. U lýkožrouta severského najdeme hned několik druhů hlístic. Jedná se především o druh *Micoletzky buetschlii* (Fuchs, 1915) na povrchu těla

dospělců. Dále také střevní hlístice *Parasitorhabditis obtusa* (Fuchs, 1915), a druhy *Contortylenchus diplogaster* (v. Linstow 1890) a *Parasitylenchus* cf. *aculeatus* (Slankis, 1972) vyskytující se v hemocoelu. Hlístice se objevují častěji u přezimujících brouků než u následné generace. Tento jev by mohl být způsoben tím, že imaga z jarního rojení přezimují po delší dobu v hrabance. Mezi samci a samicemi nebyl prokázán rozdíl v míře přítomnosti hlístovek (Grucmanová et al., 2014).

4 METODIKA

Pracovní postup

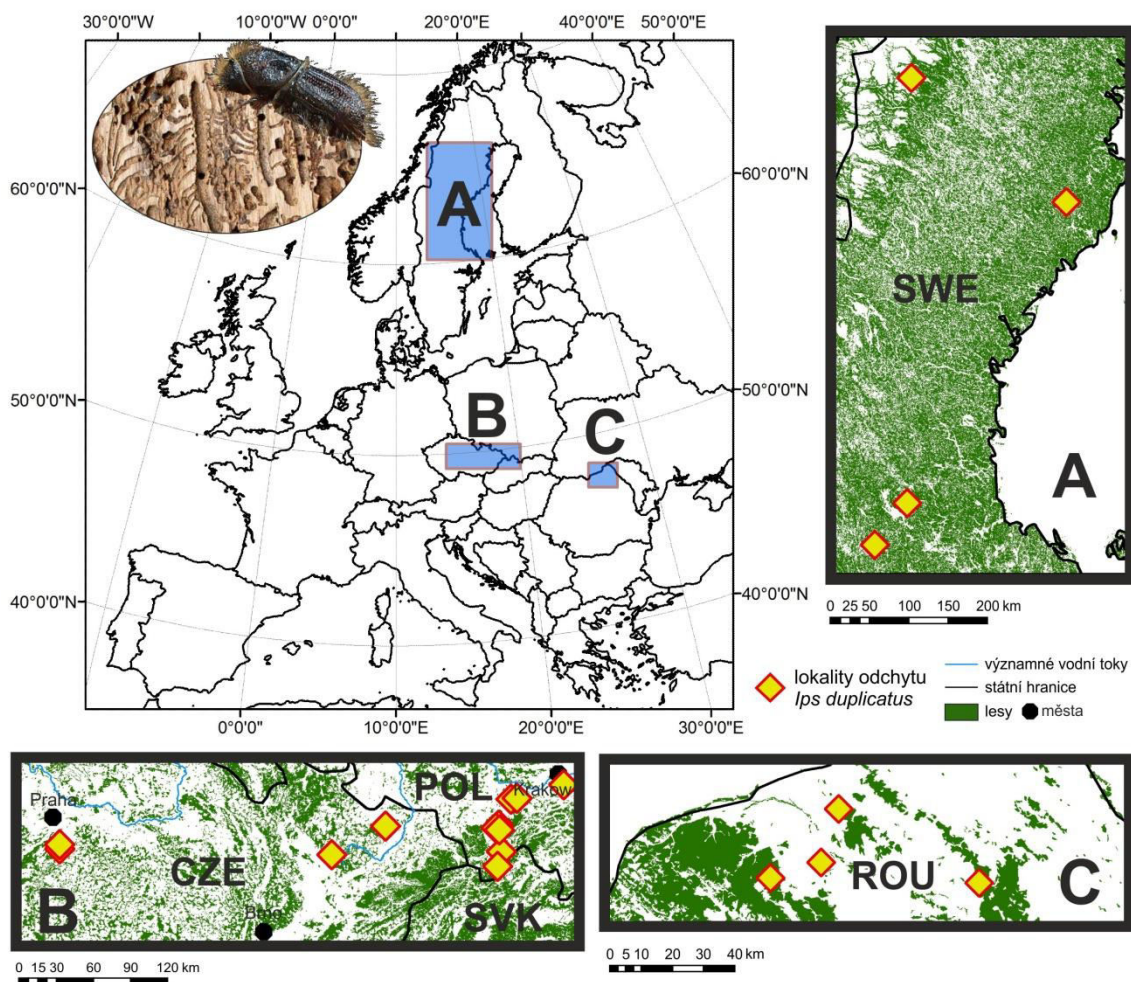
Ve výzkumu se jedná o zjištění hladiny výskytu patogenního organismu *Larssoniella duplicati* na několika lokalitách. Materiál k pitvám byl získáván ze studijních ploch v rámci České republiky, Polska, Rumunska a Švédska. Na všech lokalitách se jednalo o odběry vzorků z lapačů s umístěnými lokálními odparníky (Tabulka 1, Obrázek 1).

Oblast výzkumu nacházející se ve středních Čechách je v obci Jílové u Prahy. Studijní plochy byly umístěny v rámci porostů patřících pod městské lesy Jílové. Dne 26. března 2016 bylo na 2 lokalitách, vzájemně vzdálených přibližně 3 km, zavěšeno 5 lapačů typu Theysohn. Lapače byly umístovány do výšky přibližně 1,5 m na kovové stojany, které byly postaveny na holinách nebo v mladých porostech vzdálených od porostní stěny zralého smrku ztepilého (*Picea abies*; [L.] H. Karst.) cca 10 – 20 m. Na lokalitě Jílové u Prahy – Boží skála byl umístěn jeden lapač na čerstvě zalesněnou plochu, zatímco na lokalitu Jílové u Prahy – Ručičky byly postaveny lapače 4. Samotná vzdálenost mezi jednotlivými lapači na lokalitě Jílové u Prahy – Ručičky se pohybovala mezi 300 a 400 m. Do každého lapače byl vložen feromonový odparník Pheagr IDU. Tedy odparník s polopropustnou membránou s účinnými látkami E-myrcenol a ipsdienol. Odparníky mají účinnost 6 až 10 týdnů, podle klimatických podmínek a také umístění lapače na lokalitě (míra oslunění). V tomto případě 11. června proběhla jejich výměna za nové pro navýšení účinnosti odchyty. Lapače byly každých 7 až 14 dní kontrolovány a vzorky odebírány v intervalu, který byl přizpůsoben klimatickým podmínkám a předpokládané velikosti odchyty v daném období. Odebrané vzorky byly vždy vloženy do mikrozkušavky s médiem k udržení vlhkosti (vlhčená vata) a popsány datem a označením lokality, následně uchovány zmražením do dalšího zpracování. Poslední kontrola a odinstalování lapačů v těchto lokalitách, tedy ukončení terénních prací v Jílovém u Prahy proběhlo 27. srpna 2016.

Získávání materiálu na studijních plochách bylo ve všech státech prováděno stejnou metodou, přičemž umístění a sběr vzorků na lokalitě Jílové u Prahy jsem během letové sezóny prováděla osobně. Přehled počtu a umístění odběrových stanovišť v jednotlivých státech, včetně GPS lokalit, roku sběru, použitého feromonového odparníku a nadmořské výšky je uveden v Tabulce 1. Vzorky z Rumunska byly získány

z odchyťů Mihai Leonarda Dudumana Ph.D. z lesnické fakulty Stefan cel Mare University of Suceava, švédské vzorky byly poskytnuty z odchyťů Åke Lindelöwa Ph.D. z katedry ekologie na Swedish University of Agricultural Sciences a materiál z Polska byl zaslán Magdalenou Kacprzyk Ph.D. Eng. z katedry ochrany lesa, entomologie a lesní klimatologie University of Agriculture in Krakow. Zamražené vzorky byly s chladícím médiem zasílány v zimních měsících expresní zásilkovou službou.

Obrázek 2: Mapa s bodovým vyznačením lokalit, kde byly prováděny odchyty materiálu *Ips duplicatus* (Autor: Jiří Trombik)



Z odebraných vzorků byli v laboratoři za pomoci binokulární lupy determinováni jedinci *Ips duplicatus*, kteří byli následně za pomoci dvou pinzet vypitváni. Do kapky vody bylo preparováno střevo, Malpighické trubice, ovaria a tukové

těleso. Vše bylo poté zkoumáno pod mikroskopem, zda jsou přítomny patogenní organismy. Pozornost byla zaměřena především na tkáň střeva, ve které se zkoumaný patogen *Larssoniella duplicati* nejčastěji nachází. Vhodné vzorky byly na mikroskopu nafoceny (Obrázky 2 a 3). Každý analyzovaný jedinec byl zkoumán pod světelným mikroskopem Nikon Eclipse Ni při zvětšení 40 – 400x. Pozitivní nálezy patogenu byly vyfotografovány pomocí kamery umístěné na mikroskopu. Z každého vzorku byl pořízen záznam, který byl převeden do software Microsoft Excel.

Statistická analýza (normalita dat – Shapiro Wilk test; srovnání infekčních hladin patogenů na jednotlivých lokalitách – ANOVA; srovnání infekčních hladin u samců a samic – t-test, Tukey HSD test, Kruskal Wallis test a vícenásobný Kruskal Wallis test) i grafické zpracování bylo provedeno v programu STATISTICA 12 (Dell Inc., Round Rock, Texas, USA).

Tabulka 1: Přehled lokalit odchyť vzorků s udáním státu, GPS lokality, roku sběru, použitého feromonového odparníku a nadmořské výšky. (CZ...Česká republika, PL...Polsko, RO...Rumunsko, SWE...Švédsko)

	lokalita	stát	GPS lokalita		rok sběru	feromonový odparník	nadmořská výška (m.n.m.)
			N	E			
1	Hlubočky	CZ	49.6920	17.4146	2013	ID Ecolure	382
2	Jílové u Prahy - Boží skála	CZ	49.8866	14.5055	2016	Pheagr IDU	354
3	Jílové u Prahy - Ručičky	CZ	49.9166	14.5071	2016	Pheagr IDU	457
4	Pustá Polom	CZ	49.8510	18.0242	2014	ID Ecolure	454
5	Danielka	PL	49.7508	19.2009	2015; 2016	Duplodor	859
6	Okragłe	PL	49.4833	19.1666	2015	ID Ecolure	638
7	Petkówka	PL	49.7333	19.2333	2015; 2016	Duplodor	668
8	Racza	PL	49.7666	19.2333	2015; 2016	Duplodor	646
9	Romanka Górna	PL	49.5805	19.2246	2016	Duplodor	829
10	Romanka Górna	PL	49.9338	19.3989	2015	ID Ecolure	1009
11	Sopotnia Dolna	PL	49.9350	19.4664	2015	ID Ecolure	953
12	Tokarnia	PL	49.9833	19.9833	2015	ID Ecolure	688
13	Calafindești	RO	47.8543	26.1483	2011	nespecifikováno*	412
14	Joldești	RO	47.5601	26.6649	2013	nespecifikováno*	383
15	Solca	RO	47.7039	25.8029	2013	nespecifikováno*	744
16	Suceava	RO	47.6935	26.2691	2013	nespecifikováno*	387
17	Todirești	RO	47.7162	26.0270	2013	nespecifikováno*	434
18	Aivak	SWE	65.8117	16.0837	2014	ID Ecolure	780
19	Karl-Tövåsen	SWE	60.9730	15.0578	2014	ID Ecolure	324
20	Vansbro	SWE	60.5229	14.2389	2014	ID Ecolure	229
21	Vindeln	SWE	64.2000	19.7833	2014	ID Ecolure	291

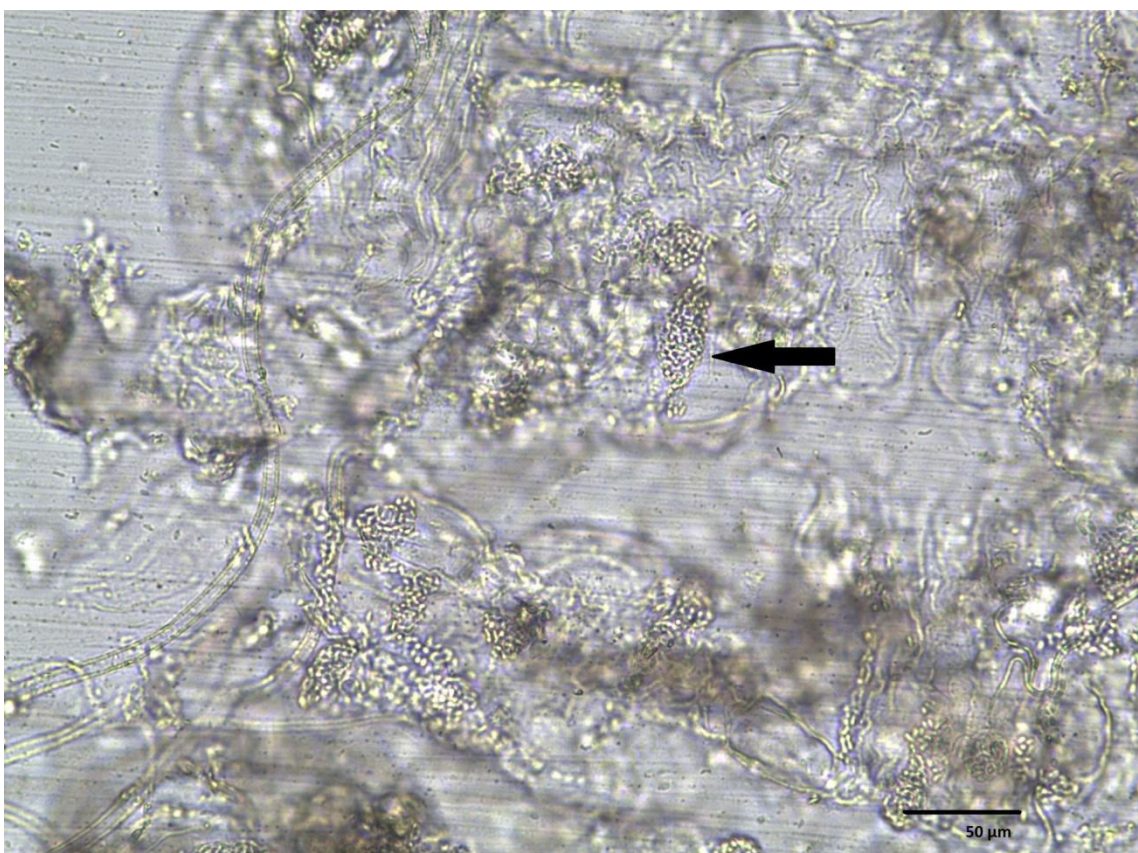
* různé kombinace syntetických feromonů a terpenů

5 VÝSLEDKY

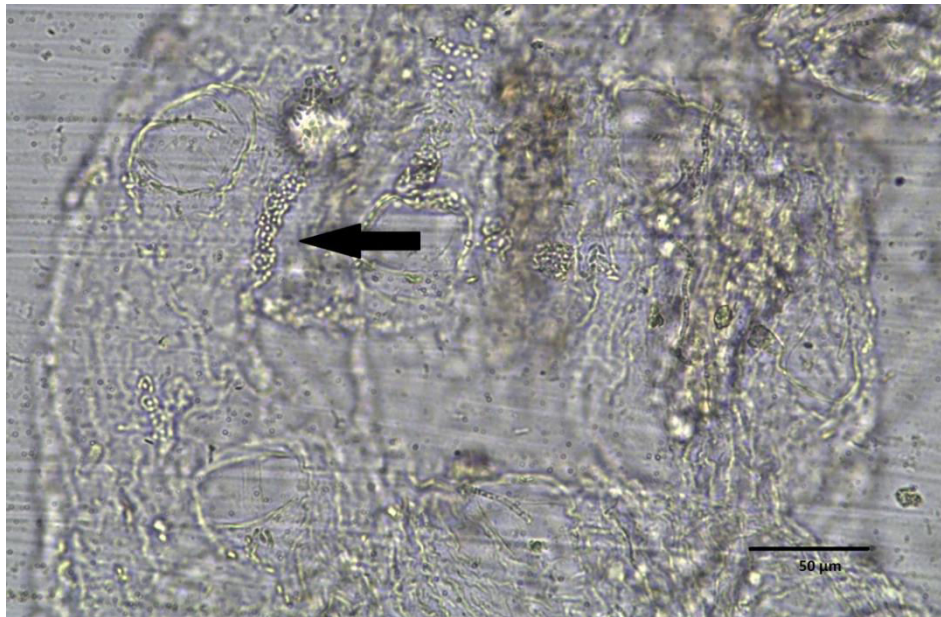
Celkem bylo vyšetřováno a analyzováno na přítomnost patogenů 1539 dospělců I. severského ze 4 lokalit v České republice, 5 lokalit v Rumunsku, 8 lokalit v Polsku a 4 ve Švédsku. Analyzovány byly nejen hodnoty infekčních hladin pro patogenní organismus *L. duplicati*, ale také byla zjištěna přítomnost *Ch. typographi* a střevních i mimostřevních hlístic.

Vzorky pocházely z odchytů z lapačů až na materiál získaný z lokality Hlubočky, kde se jednalo o odběr ze stojícího lapáku. Odběry vzorků byly získány v rozptýlu let 2011 až 2016. Nákaza *Ch. typographi* u I. severského v tomto výzkumu vyskytovala ve velmi nízké míře. Na Českých lokalitách byli zjištěni pouze 3 jedinci s její přítomností. A jen jeden další dospělec se vyskytl na švédské lokalitě Karl – Tövåsen (Tabulka 2).

Obrázek 3: Mikrosporidie *L. duplicati* ve střevní tkáni. Šipka označuje shluk spor.
(Autor: Soňa Zimová)

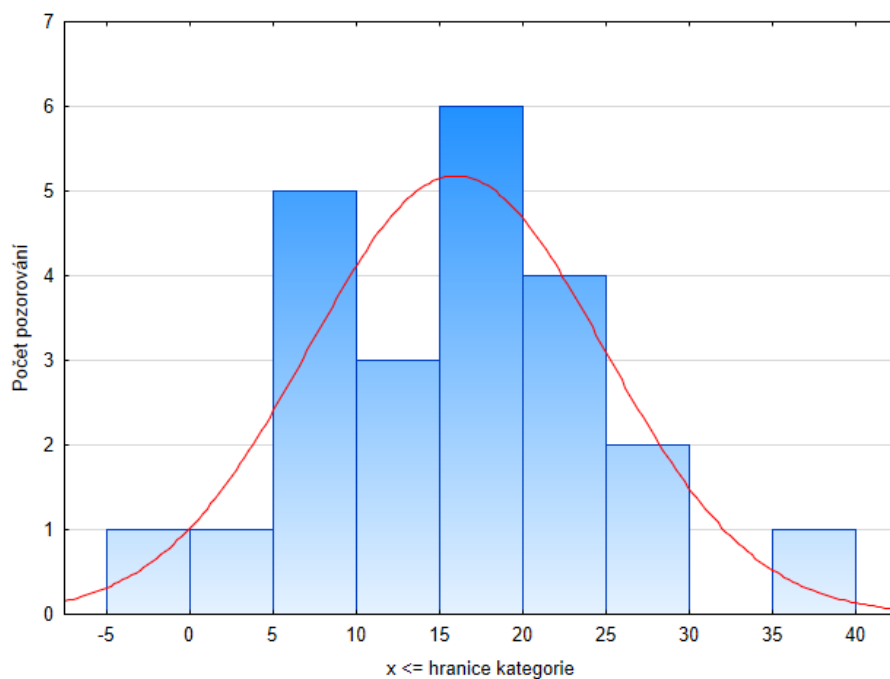


Obrázek 4: Mikrosporidie *L. duplicati* ve střevní tkáni. Šipka označuje shluk spor. (Autor: Soňa Zimová)



Celková průměrná infekční hladina *Chytridiopsis typographi* za všechny státy je $0,2 \% \pm 0,56 \%$. Hodnota u střevních hlístovek dosáhla $9,31 \% \pm 4,61 \%$ a u mimostřevních hlístic $3,84 \% \pm 3,34 \%$.

Graf 1: Histogram četnosti infekčních hladin patogenu *L. duplicati* na studovaných lokalitách. Červená čára označuje očekávané normální rozdělení.



Infekční hladina *L. duplicati* se pohybovala na jednotlivých lokalitách od 0 do 39,13 %. Celková průměrná hladina patogenu za všechny státy je 16 % ± 8,66 %. Na studovaných lokalitách byly hodnoty infekční hladiny rozloženy dle normálního rozdělení (Shapiro-Wilk test: $W = 0,97015$, $p > 0,05$; Graf 1).

Tabulka 2: Lokality s počtem jedinců napadených patogenními organismy *Larssoniella duplicati* a *Chytridiopsis typographi* a jejich infekční hladinou udanou v procentech.

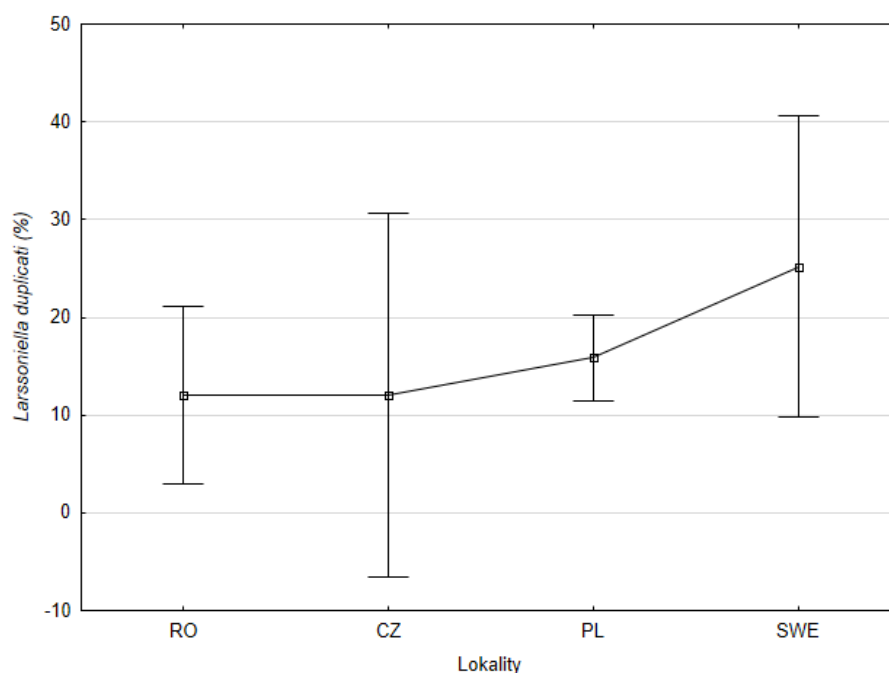
lokality	stát	rok sběru	typ odběru	Σ brouků	n brouků <i>Larssoniella</i> <i>duplicati</i>	<i>L.</i> <i>duplicati</i> (%)	n brouků <i>Chytridiopsis</i> <i>typographi</i>	<i>Ch.</i> <i>typographi</i> (%)
Hlubočky	CZ	2013	stojící lapák	22	3	13,64	0	0,00
Jílové u Prahy - Boží skála	CZ	2016	lapač	18	0	0,00	0	0,00
Jílové u Prahy - Ručičky	CZ	2016	lapač	43	3	6,98	1	2,33
Pustá Polom	CZ	2014	lapač	237	65	27,43	2	0,84
Danielka	PL	2015/16	lapač	20	2	10,00	0	0,00
Jelesnia	PL	2016	lapač	27	2	7,41	0	0,00
Petkóvka	PL	2015	lapač	53	10	18,87	0	0,00
Petkóvka	PL	2016	lapač	54	11	20,37	0	0,00
Racza	PL	2015	lapač	72	8	11,11	0	0,00
Racza	PL	2016	lapač	31	5	16,13	0	0,00
Romanka Górna	PL	2015	lapač	192	40	20,83	0	0,00
Sopotnia Dolna	PL	2015	lapač	35	9	25,71	0	0,00
Tokarnia	PL	2015	lapač	139	27	19,42	0	0,00
Ujsoty	PL	2015	lapač	22	2	9,09	0	0,00
Calafindești	RO	2011	lapač	20	4	20,00	0	0,00
Joldești	RO	2013	lapač	33	6	18,18	0	0,00
Solca	RO	2013	lapač	80	9	11,25	0	0,00
Suceava	RO	2013	lapač	45	4	8,89	0	0,00
Todirești	RO	2013	lapač	52	1	1,92	0	0,00
Aivak	SWE	2014	lapač	46	18	39,13	0	0,00
Karl-Tövåsen	SWE	2014	lapač	70	15	21,43	1	1,43
Vansbro	SWE	2014	lapač	156	26	16,67	0	0,00
Vindeln	SWE	2014	lapač	72	17	23,61	0	0,00

Průměrné hodnoty infekční hladiny *L. duplicati* se pohybovaly v poměrně malém rozmezí. V Rumunsku byla zaznamenána průměrná hodnota 12,05 % ± 6,54, hladina lokalit v České republice byla téměř stejná 12,01 % ± 10,12. V Polsku již byla průměrná infekční hladina 15,89 % ± 5,81 a ve Švédsku dosáhla hodnota nejvyššího výsledku 25,21 % ± 8,42 (Graf 2).

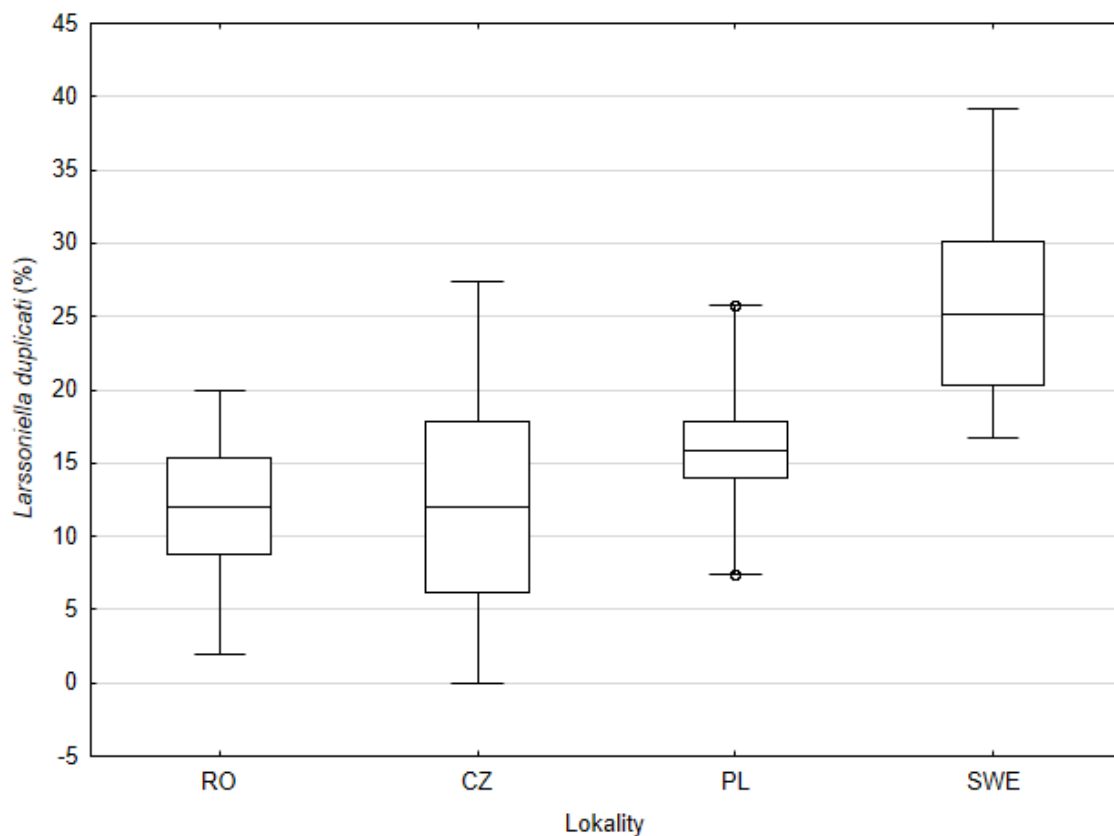
Tabulka 3: Lokality s počtem jedinců napadených střevními a mimostřevními hlísticemi a jejich infekční hladinou udanou v procentech.

lokality	stát	rok sběru	typ odběru	Σ brouků	n střevní <i>Nematoda</i>	střev. <i>Nematoda</i> (%)	n mimostř. <i>Nematoda</i>	mimostř. <i>Nematoda</i> (%)
Hlubočky	CZ	2013	stojící lapák	22	4	18,18	1	4,55
Jílové u Prahy - Boží skála	CZ	2016	lapač	18	1	5,56	0	0,00
Jílové u Prahy - Ručičky	CZ	2016	lapač	43	2	4,65	2	4,65
Pustá Polom	CZ	2014	lapač	237	24	10,13	4	1,69
Danielka	PL	2015/16	lapač	20	2	10,00	0	0,00
Jelesnia	PL	2016	lapač	27	4	14,81	0	0,00
Petkóvka	PL	2015	lapač	53	4	7,55	0	0,00
Petkóvka	PL	2016	lapač	54	0	0,00	5	9,26
Racza	PL	2015	lapač	72	11	15,28	1	1,39
Racza	PL	2016	lapač	31	4	12,90	3	9,68
Romanka Górna	PL	2015	lapač	192	9	4,69	14	7,29
Sopotnia Dolna	PL	2015	lapač	35	2	5,71	1	2,86
Tokarnia	PL	2015	lapač	139	9	6,47	5	3,60
Ujsoły	PL	2015	lapač	22	3	13,64	2	9,09
Calafindești	RO	2011	lapač	20	2	10,00	0	0,00
Joldești	RO	2013	lapač	33	4	12,12	1	3,03
Solca	RO	2013	lapač	80	3	3,75	3	3,75
Suceava	RO	2013	lapač	45	6	13,33	3	6,67
Todirești	RO	2013	lapač	52	3	5,77	5	9,62
Aivak	SWE	2014	lapač	46	7	15,22	0	0,00
Karl-Tövåsen	SWE	2014	lapač	70	7	10,00	3	4,29
Vansbro	SWE	2014	lapač	156	5	3,21	2	1,28
Vindeln	SWE	2014	lapač	72	8	11,11	4	5,56

Graf 2: Průměrné infekční hladiny *L. duplicati* v jednotlivých oblastech (RO...Rumunsko, CZ...Česká republika, PL...Polsko, SWE...Švédsko).



Graf 3: Srovnání infekční hladiny *L. duplicati* v jednotlivých oblastech (RO...Rumunsko, CZ...Česká republika, PL...Polsko, SWE...Švédsko). Krabici tvoří průměr ± směrodatná chyba, svorka představuje průměr ± minimum-maximum, kolečka znázorňují odlehlé hodnoty.



Nejnižší průměrné infekční hladiny *L. duplicati* byly potvrzeny na lokalitách v Rumunsku a České republice, naopak nejvyšší hladiny byly zaznamenány na švédských lokalitách. Rozdíly mezi jednotlivými skupinami lokalit však nebyly ani v jednom případě statisticky průkazné: ANOVA: $F(3;19) = 2,4461$; $p = 0,0953$ (Graf 2, Graf 3). Tukey HSD test srovnání jednotlivých lokalit neprokázal rozdíly ani mezi jednotlivými státy (Tabulka 4).

Tabulka 4: Několikanásobné porovnání průměru infekčních hladin patogenu *L. duplicati* na lokalitách v jednotlivých státech pomocí Tukey (HSD) testu. (RO...Rumunsko, CZ...Česká republika, PL...Polsko, SWE...Švédsko). Významné rozdíly na hladině $p < 0,05$.

	RO	CZ	PL	SWE
	M=12,049	M=12,010	M=15,895	M=25,209
Rumunsko		1,000000	0,821553	0,106526
Česká republika	1,000000		0,848543	0,132077
Polsko	0,821553	0,848543		0,243637
Švédsko	0,106526	0,132077	0,243637	

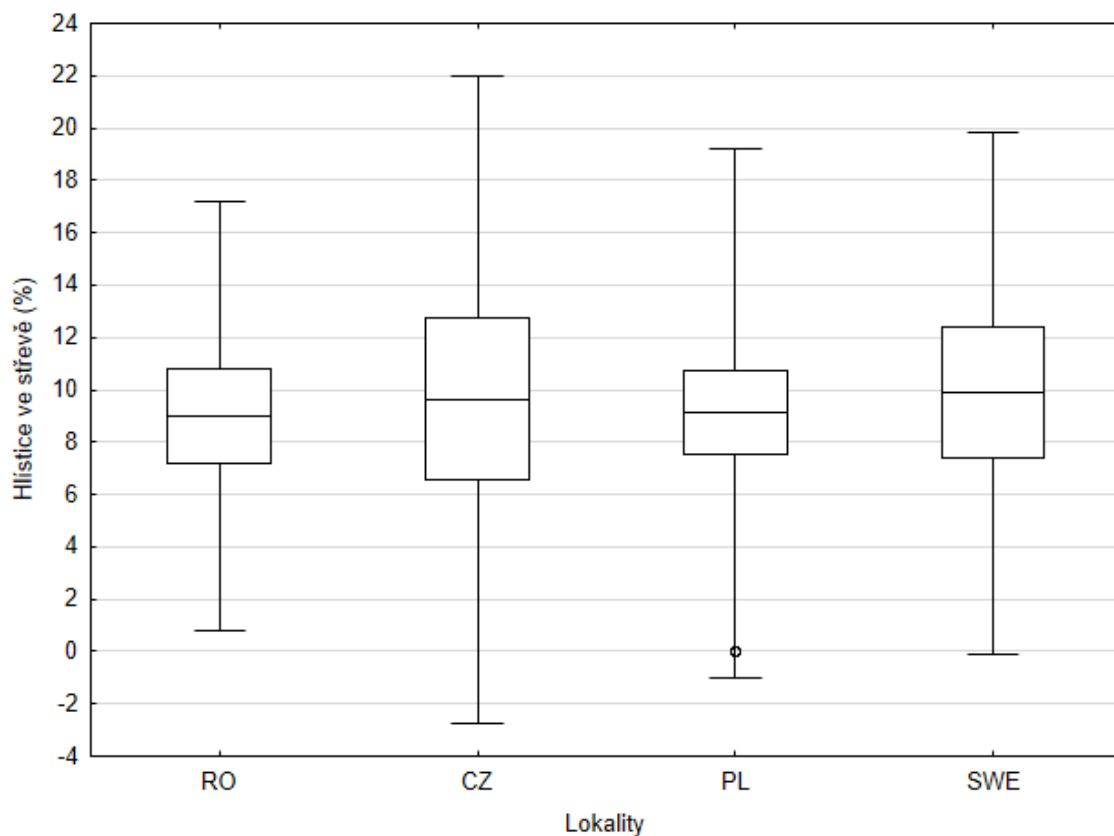
Infekční hladiny střevních hlístic na jednotlivých lokalitách měly normální rozdělení (Shapiro-Wilk test: $W = 0,97060$, $p > 0,05$). Rozdíly mezi nimi nebyly statisticky signifikantní (ANOVA: $F(3;19) = 0,0343$; $p > 0,05$; Tabulka 3 a 5 a Graf 4).

Tabulka 5: Několikanásobné porovnání průměru infekčních hladin střevních hlístic na lokalitách v jednotlivých státech pomocí Tukey (HSD) testu. (RO...Rumunsko, CZ...Česká republika, PL...Polsko, SWE...Švédsko). Významné rozdíly na hladině $p < 0,05$.

	RO	CZ	PL	SWE
	M=8,9948	M=9,6288	M=9,1056	M=9,8834
Rumunsko		0,997655	0,999978	0,993567
Česká republika	0,997655		0,998105	0,999879
Polsko	0,999978	0,998105		0,993708
Švédsko	0,993567	0,999879	0,993708	

Obdobné výsledky jako u střevních hlístic byly zjištěny u mimostřevních hlístovek, kde ovšem nebyla potvrzena normalita dat (Shapiro-Wilk test $W = 0,89183$, $p < 0,05$; %: Kruskal Wallis test: $H(3;23) = 0,6216$; $p > 0,05$; Tabulka 6 a Graf 5).

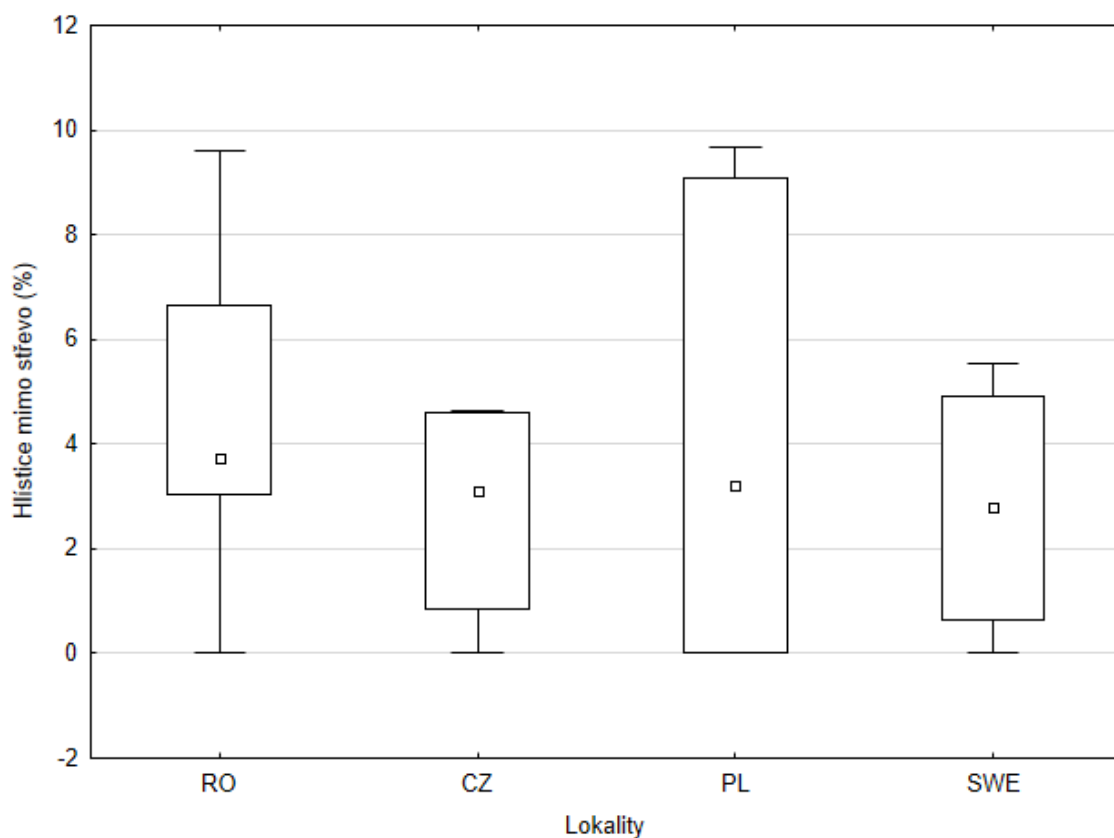
Graf 4: Srovnání parazitace lýkožrouta severského střevními hlísticemi v jednotlivých státech. Boxplot tvoří průměr ± směrodatná chyba, svorka představuje směrodatné odchyly a kolečka odlehlé hodnoty.



Tabulka 6: Vícenásobné porovnání průměru infekčních hladin mimostřevních hlístic na lokalitách v jednotlivých státech pomocí Kruskal-Wallisova testu. (RO...Rumunsko, CZ...Česká republika, PL...Polsko, SWE...Švédsko).

	RO	CZ	PL	SWE
	R:9,0000	R:9,0000	R:12,100	R:18,500
Rumunsko		1,000000	1,000000	0,220766
Česká republika	1,000000		1,000000	0,285624
Polsko	1,000000	1,000000		0,664242
Švédsko	0,220766	0,285624	0,664242	

Graf 5: Srovnání parazitace lýkožrouta severského mimostřevními hlísticemi v jednotlivých státech. Boxplot tvoří medián ± kvartily (25 % - 75 %), svorka představuje rozsah neodlehklých hodnot.



Do analýzy rozdílů mezi pohlavími bylo zařazeno 1 510 dospělců l. severského. Vypitváno bylo 959 samic a 551 samců. V infekční hladině *L. duplicati* nebyly nalezeny signifikantní rozdíly mezi samicemi a samci (t-test pro závislé vzorky: $t = 0,6971$, $p > 0,05$, Tabulka 7, Graf 6).

Tabulka 7: Celkový počet jedinců v jednotlivých státech, počet samců a samic v analýze a průměrná procentuální infekční hladina *L. duplicati* u obou pohlaví v jednotlivých státech ± směrodatná odchylka

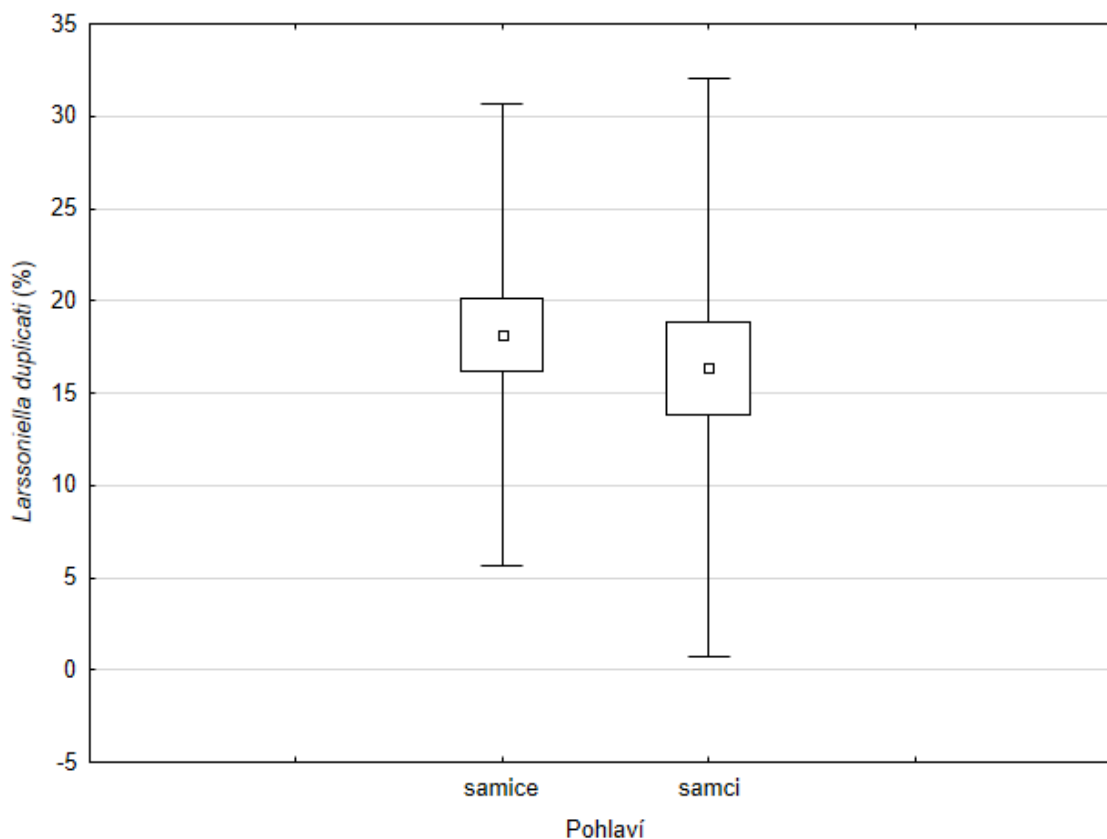
stát	Σ ks	Σ ♀	Σ ♂	<i>Larssoniella duplicati</i> ♀ (%) ± σ	<i>Larssoniella duplicati</i> ♂ (%) ± σ
RO	230	133	97	10,96 ± 5,17	13,73 ± 9,65
CZ	320	215	105	17,02 ± 16,66	10,93 ± 13,87
PL	645	408	237	18,83 ± 10,97	13,21 ± 8,88
SWE	315	203	112	22,06 ± 11,77	27,98 ± 20,10

Mezi průměrnými infekčními hladinami střevních a mimostřevních hlístic samců a samic v jednotlivých státech nebyl zjištěn průkazný rozdíl (Tabulka 8).

Tabulka 8: Celkový počet jedinců v jednotlivých státech, počet samců a samic v analýze a průměrná procentuální infekční hladina střevních a mimostřevních hlístic u obou pohlaví v jednotlivých státech \pm směrodatná odchylka

stát	Σ ks	Σ ♀	Σ ♂	střevní <i>Nematoda</i> ♀ (%) $\pm \sigma$	střevní <i>Nematoda</i> ♂ (%) $\pm \sigma$	<i>Nematoda</i> mimostřevní ♀ (%) $\pm \sigma$	<i>Nematoda</i> mimostřevní ♂ (%) $\pm \sigma$
RO	230	133	97	8,65 \pm 5,23	9,38 \pm 6,43	3,83 \pm 5,74	6,46 \pm 6,11
CZ	320	215	105	9,09 \pm 8,48	3,95 \pm 4,56	4,59 \pm 9,37	0,57 \pm 1,80
PL	645	408	237	9,62 \pm 7,20	8,15 \pm 8,16	6,24 \pm 7,72	3,06 \pm 5,00
SWE	315	203	112	10,22 \pm 7,54	5,77 \pm 11,31	2,64 \pm 5,21	2,34 \pm 3,72

Graf 6: Srovnání infekčních hladin *L. duplicati* (%) podle pohlaví ve vzorcích *I. duplicatus* analyzovaných na studijních lokalitách. Boxplot tvoří průměr \pm směrodatná chyba, svorka představuje směrodatnou odchylku.



6 DISKUZE

Kůrovci *Ips duplicatus* a *Ips typographus* jsou velmi podobné druhy vyskytující se ve smrkových porostech Evropy, závažnějším a tím pádem více studovaným je *I. typographus* a *I. duplicatus* tak ustupuje do pozadí. Oba tyto druhy jsou si nejen podobné některými vnějšími znaky a způsobem života, dokonce se často nachází na stejných stromech (Wermelinger, 2004; Holuša a Lukášová, 2013). Očekávalo by se tak, že při osídlení jednoho stromu bude docházet k přenosu infekčních onemocnění a oba kůrovci budou mít i stejné patogenní organismy a stejné infekční hladiny. Je tomu tak u patogenu *Chytridiopsis typographi*, který se objevuje u obou druhů avšak u l. smrkového někdy ve větší míře a jindy se stejnými hodnotami. Mezi infekční hladinou nebyl prokázán statisticky signifikantní rozdíl. Infekční hladina tohoto patogenu velmi často kolísá (Holuša et al., 2007). Avšak mikrosporidie *Larssoniella duplicati* je zjevně specifickým onemocněním pouze u *I. duplicatus*; u *I. typographus*, *Ips cembrae* (Heer, 1836) ani *Ips amitinus* (Eichhoff, 1871) nebyla nalezena (Lukášová a Holuša, 2013; Holuša et al., 2009, Weiser et al., 2006). Tato mikrosporidie byla objevena teprve v roce 2006 (Weiser, Holuša, Žižka) a zařazena do rodu *Larssoniella* k jedinému již známému druhu *Larssoniella resinellae* (Weiser a David, 2006).

Během roku 2016 byly shromážděny a zanalyzovány vzorky *Ips duplicatus* z několika lokalit v rámci České republiky, Rumunska, Polska a Švédska. Bylo vyšetřováno 1 539 dospělců tohoto kůrovce v laboratoři Fakulty lesnické dřevařské a zjišťována přítomnost patogenních organismů v jejich vnitřním prostředí. Zkoumána byla nejen přítomnost mikrosporidie *Larssoniella duplicati*, ale také byla nalezena *Chytridiopsis typographi* a střevní i mimostřední hlístice.

Holuša et al. (2007) prokázal přítomnost *L. duplicati* u starých i nových oblastí výskytu l. severského a to v poměrně vysokých hladinách. Populace *I. duplicatus* v Bělověžském pralese měla vysokou infekční hladinu dosahující až 30 %. V Moravskoslezském kraji byla průměrná infekční hladina 37,7 %, zatímco na lokalitách l. severského více na jihu byla hladina pouze kolem 10 %. Hladina infekce se během letové aktivity ani generací hmyzu neměnila. Tato skutečnost poukazuje na způsob přenosu infekce odlišný od orálního jako v případě *Chytridiopsis* a *Gregarina*. Infekční hladina *L. duplicati* v našem případě se pohybovala na jednotlivých lokalitách mezi hodnotami 0 a 39,13 %. Celková průměrná hladina patogenu za všechny státy byla

16 % \pm 8,66 % a hodnoty infekční hladiny byly rozložené dle normálního rozdělení. Infekční hladiny se tak pohybují stále kolem průměrné hodnoty a statisticky jsou stejné, jedná se tedy zřejmě o infekci chronickou. Stejně tak Lukášová a Holuša (2013) uvádí, že *L. duplicati* může dosahovat poměrně vysokých infekčních hodnot v rozmezí 10 - 30 %, podobnému rozpětí našeho výzkumu. Hodnoty neprojevují změny s ohledem na změnu hustoty populace během odběru vzorků nebo mezi jednotlivými generacemi. To vylučuje horizontální přenos a podporuje teorii přenosu vertikálního (Holuša et al., 2009).

Předpokladem ve výsledcích tohoto výzkumu byla nejnižší infekční hladina u nejnovějšího výskytu l. severského, tedy v Rumunsku, kde bylo zaznamenáno první ohnisko až v roce 2008 a dnes je na severovýchodním území dokonce v kalamitním stavu (Duduman et al., 2011), a zvyšující se hodnoty u starších ohnisek jeho výskytu, tedy dále do České republiky, Polska až k původnímu výskytu na území Švédska. Avšak průměrná infekční hladina *L. duplicati* v Rumunsku byla 12,05 % \pm 6,54, tedy téměř shodná s hodnotou v České republice 12,01 % \pm 10,12. V rámci materiálu z Polska již byla opravdu průměrná infekční hladina lehce vyšší 15,89 % \pm 5,81 a ve Švédsku nejvyšší 25,21 % \pm 8,42 (Graf 2). Mezi infekčními hladinami byly směrem od jihu k severu celkem nepatrné rozdíly, které nebyly statisticky průkazné, a infekce se tedy zdá být stabilní. To potvrzuje domněnku, že se jedná o onemocnění chronické. S čímž obecně u mikrosporidií souhlasí i Jurc (2004) podle nějž mikrosporidie způsobují smrt hostitele velmi pomalu, spíše zpomalují vývoj a plodnost hostitelů. Méně časté jsou letální infekce, většina z nich je chronická. Patogen je nebezpečný tím, že pokud mikrosporidie usmrtí jedince, jsou z něj stále uvolňovány spory do okolí a zvyšuje se tak riziko nákazy.

Vzhledem k specifickému šíření spor *L. duplicati*, kdy svalová vlákna drží spory zafixované proti jejich šíření do okolí (Weiser et al., 2006) a vzdálenostmi, ze kterých byly vzorky získávány, bylo naše pozorování komplikováno stavem některých vzorků. Vzhledem k vázání spor na infikovanou tkáň není možné identifikovat spory této mikrosporidie z fragmentů střeva, proto musely být některé nekvalitní starší vzorky vyřazeny z analýzy.

Další patogenní organismy, *Ch. typographi* a *Gregarina typographi*, se obvykle objevují jak u l. severského, tak u l. smrkového (Holuša et al., 2007). V našem výzkumu byla u l. severského zjištěna *Ch. typographi* pouze ve velmi malém množství. Nižší hladinu výskytu *Ch. typographi* vykazují i některá zjištění z výzkumu na jižním území

Čech (Holuša et al., 2007). Avšak hladina tohoto patogenu v porovnání I. severského a I. smrkového zjevně na jednotlivých lokalitách kolísá (Holuša et al., 2009). Přítomnost *G. typographi* nebyla prokázána vůbec, stejně tak nebyl zjištěn výskyt žádných vývojových stadií parazitoidů.

Při porovnání infekčních hladin *L. duplicati* mezi samci a samicemi, bylo zanalyzováno 1 510 jedinců, z toho 959 samic a 551 samců. Po porovnání t – testem nebyly zjištěny žádné signifikantní rozdíly (Graf 6). Stejně tak Weiser et al. (2006) udává, že obě pohlaví jsou infikována bez rozdílu.

Střevní hlístice se vyskytovaly také v rámci normálního rozdělení a mezi hodnotami infekčních hladin nebyl zjištěn statisticky signifikantní rozdíl. Pravděpodobně se mohlo jednat o nejčastější druhy hlístovek u I. severského. Tedy *Parasitorhabditis obtusa* ve střevě a mimostřevní hlístice *Contortylenchus diplogaster* a *Parasitylenchus cf. aculeatus* (Grucmanová et al., 2014). Průměrná infekční hladina střevních hlístic za všechny státy byla zjištěna 9,31 % ± 4,61 %. U mimostřevních hlístic se jednalo o průměrnou hladinu infekce 3,84 % ± 3,34 %. Grucmanová et al. (2014) uvádí, že až 51,2 % ze zkoumaných jedinců I. severského bylo pozitivní na přítomnost hlístovek. V jejich případě byly zjištěny hodnoty střevních hlístic průměrně 6,63 % a mimostřevních 10,73 %. Tedy na rozdíl od našeho výzkumu byla hladina mimostřevních hlístovek vyšší než u střevních.

K odchytu našich vzorků bylo v různých státech využito rozdílných feromonových odparníků (Tabulka 1). Volba agregačního feromonu, může ovlivnit odchyt I. severského. K monitoringu a odchytu do lapačů se v České republice obecně používají dva druhy feromonových odparníků a to ID Ecolure a Pheagr IDU, které jsou zveřejněny v Seznamu povolených přípravků na ochranu rostlin. V Polsku je užíván přípravek Duplodor, schválený pro použití v místních lesích. Co se jejich účinnosti týče, při porovnání těchto přípravků v porostech se 70 – 100 % zastoupením smrku ve věku 60 – 80 let se feromonový odparník ID Ecolure projevuje signifikantně vyššími odchty než přípravky Duplodor a Pheagr IDU a to po celou letovou sezónu. Největší rozdíly se však projevovaly ve vrcholcích letové aktivity, především jarního rojení (Holuša et al., 2010).

Kůrovci rodu *Ips* v Evropě často obývají několik druhů hostitelských dřevin, na kterých se nachází vedle sebe. Proto i jejich nemoci se pro několik druhů mohou překrývat. Například *Gregarina typographi* byla zjištěna u všech významnějších druhů rodu *Ips*, zatímco jiné jsou specifické jen pro určité druhy (Lukášová a Holuša, 2012).

K použití patogenů u kůrovců jako biologické ochrany je stále nedostatek informací. *L. duplicati* nemá jako součást biologického boje prakticky žádný význam. Aby byl patogen efektivní, musel by mít na hostitele prokazatelný vliv. Chronická nemoc se stabilní infekční hladinou není vhodná k použití v biologické ochraně. Ve velkém množství případů je známá pouze struktura nemocí a infekční hladiny. Je tedy nutné více rozvíjet znalosti o vývoji těchto organismů pro jejich možné využití v biologickém boji (Lukášová a Holuša, 2012).

Například Forsse (1987) při výzkumu letové aktivity I. smrkového prokázal, že přítomnost či absence hlístic neměla žádný vliv na délku letové aktivity tohoto kůrovce. Nebylo potvrzeno ani výrazné ovlivnění mortality kůrovců s ohledem na přítomnost hlístovek v těle (Moore, 1955). Také díky pokusům v produkci mikrosporidie *Ch. typographi* se zjišťují stále nové informace a fáze vývoje tohoto patogenu. Všechny tyto poznatky by mohly přispět k lepšímu využití v biologickém boji, pokud by se neprojevovalo onemocnění jako chronické a ovlivňovalo nějak život kůrovce (Tonka et al., 2010). Speciálním případem jsou neogregariny, které se z tukového tělesa šíří v podstatě až po uhynutí infikovaného kůrovce a jsou někdy řazeny spíše mezi komenzály (Lukášová a Holuša, 2012). Současné výzkumy jen potvrzují, že gregariny poškozují pomalu střevní epitel, který může být ale regenerován a pokud skrze poškození nevnikne do hostitele jiný patogen je efekt na život kůrovce velmi malý (Yaman, 2007).

Prokazatelného vlivu bylo dosaženo u experimentu kůrovců nakažených prvoky, kteří prokazatelně zkrátily délku života infikovaných jedinců oproti těm kontrolním (Kirchhoff a Führer, 1990). Velmi slibným pro výrobu biopreparátů se zdá houbový patogen *Beauveria bassiana* (Balsamo – Crivelli, Vuillemin, 1912). Tento patogen pokrývá hostitele bílým myceliem a konidiami. Je užíván jako náhrada za běžné chemické pesticidy v oblastech, kde chemická obrana nemůže být využívána (Roberts a Hajek, 1992). V České republice byl s touto houbou již registrován a je užíván přípravek Boverol (Kybal a Kálalová, 1987).

Pro účinné využití patogenních organismů v biologickém boji by tak bylo třeba zjistit ještě veškeré jejich vlivy na kůrovce, jako je omezení letové schopnosti, vitality, mortality během přezimování, fertilitu a další. Dále by bylo třeba se vypořádat s okolnostmi obtížných kultivací a aplikace.

7 ZÁVĚR

- Byl vyjitván a zanalyzován materiál z celkem 21 lokalit ve Švédsku, Polsku, České republice a Rumunsku
- Průměrná infekční hladina patogenu *Larssoniella duplicati* celkově za všechny státy je 16 %
- V Rumunsku byla průměrná hodnota 12,05 %, v České republice 12,01 % v Polsku 15,89 % a ve Švédsku dosáhla hodnota nejvyššího výsledku 25,21 %
- I přes skutečnost, že v původním ohnisku výskytu *I. duplicatus* ve Švédsku byly hodnoty infekce nejvyšší a v novějších z České republiky a Rumunska nejnižší, mezi státy nebyly zjištěny statisticky signifikantní rozdíly
- Byla potvrzena domněnka, že mikrosporidie *L. duplicati* je pravděpodobně chronickým onemocněním se stabilní infekční hladinou ve všech oblastech svého výskytu

8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- BYERS, J.A., SCHLYTER, F., BIRGERSSON, G., FRANCKE, W., 1990. E-myrcenol in *Ips duplicatus*: an aggregation pheromone component new for bark beetles. *Experientia*, 46: 1209 – 1211.
- DUDUMAN, M. L., ISAIA, G., OLENICI, N., 2011. *Ips duplicatus* (Sahlberg) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) distribution in Romania. *Bulletin of the Transilvania University of Braşov, series II: forestry – wood industry – agricultural food engineering*, 4: 19 – 26.
- FORSSE, E., 1987. Flight duration in *Ips typographus* L.: insensitivity to nematode infection. *Journal of Applied Entomology*, 104: 326 – 328.
- GRODZKI, W., 1997. Possibilities of the control of the double-spined bark beetle *Ips duplicatus* C. R. Sahlb. in the Southern Poland. *Sylvan*, 141: 25–36 (in Polish).
- GRODZKI, W., 2003. Distribution range of the double spined bark beetle *Ips duplicatus* C. R. Sahlb. (Col.: Scolytidae) in the mountain areas of southern Poland. *Sylvan*, 8: 29 – 36.
- GRUCMANOVÁ, Š., HOLUŠA, J., NERMUŤ, J., 2014. Nematodes associated with the double-spined bark beetle *Ips duplicatus* (Coleoptera: Curculionidae) in central Europe. *Journal of Applied Entomology*, 138: 723 – 732.
- HOLUŠA, J., ZAHRADNÍK, P., KNÍŽEK, M., DRÁPELA, K., 2003. Seasonal flight activity of the double-spined spruce bark-beetle *Ips duplicatus* (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae) in Silesia (Czech Republic). *Biologia, Bratislava*, 58: 935 – 941.
- HOLUŠA, J., WEISER, J., 2005. Biologické postupy boje s lesními škůdci. *Zpravodaj Ochrany Lesa*, 11: 18 – 23.
- HOLUŠA, J., WEISER, J., DRÁPELA, K., 2007. Pathogens of *Ips duplicatus* (Coleoptera: Scolytidae) in three areas in central Europe. *Acta Protozoologica*, 46: 157 – 167.
- HOLUŠA, J., GRODZKI, W., 2008. Occurrence of *Ips duplicatus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) on pines (*Pinus* sp.) in the Czech Republic and southern Poland – short communication. *Journal of Forest Science*, 54: 234 – 236.
- 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.

- HOLUŠA, J., GRODZKI, W., LUKÁŠOVÁ, K., 2010. Porównanie skuteczności dispenserów feromonowych ID Ecolure, Pheagr IDU i Duplodor na kornika zroszobębnego (*Ips duplicatus*). Sylwan, 154: 363 – 370.
- HOLUŠA, J., LUBOJACKY, J., KNÍŽEK, M., 2010. Distribution of the double-spined spruce bark beetle *Ips duplicatus* in the Czech Republic: spreading in 1997 – 2009. Phytoparasitica, 38: 435 – 443.
- HOLUŠA, J., LUKÁŠOVÁ, K., TROMBIK, J., HLÁSNY, T., CSÓKA, G., 2013. Report on presently occurring pests and pathogens in the Carpathians, including recent observations of climate change-induced alteration of pests outbreak ranges, population dynamics, predator-prey and host-parasitoids relations, distribution and virulence of pathogens. Module SR2 in-depth study on the impacts of climate change threats on ecosystems. Carpath CC, Climate Change Framework Project, 2013.
- HOLUŠA, J., LUKÁŠOVÁ, K., 2013. Sezónní letová aktivita I. smrkového a I. severského. Lesnická Práce, 7: 46.
- IVARSSON, P., BIGERSSON, G., 1995. Regulation and biosynthesis of pheromone components in the double-spined bark beetle *Ips duplicatus* (Coleoptera: Scolytidae). Journal of Insect Physiology, 41: 843 – 849.
- JAKUŠ, R., HOLUŠA, J., BLAŽENEC, M., 2015. Principy ochrany dospělých smrkových porostů před podkorním hmyzem. První vydání. Česká zemědělská univerzita v Praze, 198 stran.
- JURC, M., 2004. Insect pathogens with special reference to pathogens of bark beetles (Col., Scolytidae: *Ips typographus* L.). Preliminary results of isolation of entomopathogenic fungi from two spruce bark beetles in Slovenia. Zbornik Gozdarstva in Lesarstva, 74: 97 – 124.
- KAŠÁK, J., FOIT, J., 2015. Double-spined bark beetle (*Ips duplicatus*) (Coleoptera: Curculionidae): a new host – Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) – short communication. Journal of Forest Science, 61: 274 – 276.
- KENIS, M., WERMELINGER, B., GRÉGOIRE, J. – C., 2004. Research on parasitoids and predators of Scolytidae – a review. Bark and wood boring insects in living trees in Europe, a synthesis, 1: 237 – 290.
- KIRCHHOFF, J.–F., FÜHRER, E., 1990. Experimentelle analyse der infektion und des entwicklungszyklus von *Malamoeba scolyti* in *Dryocoetes autographus* (Coleoptera: Scolytidae). Entomophaga, 35: 537 – 544.

- KNÍŽEK, M., HOLUŠA, J., KŘÍSTEK, Š., LIŠKA, J., VOJGTOVÁ, P., 2006. Distribution of *Ips duplicatus* (Coleoptera: Scolytidae) in the Czech Republic. IUFRO Working Party 7.03. 10 Proceedings of the Workshop 2006.
- KNÍŽEK, M., HOLUŠA, J., 2007. Lýkožrout severský *Ips duplicatus* (Sahlberg). Lesní ochranná služba. Lesnická Práce (Příloha), 86: 1 – 4.
- KŘÍSTEK, J., URBAN, J., 2013. Lesnická entomologie. 2. vydání, Academia, Praha, 445 stran.
- KYBAL, J., KÁLALOVÁ, S., 1987. Mycological aspects of the production of the bioinsecticidal preparation Boverol. Rostlinná výroba, 33: 1215 – 1222.
- LACEY, L. A., FRUTOS, R., KAYA, H. K., VAIL, P., 2001. Insect pathogens as biological control agents: do they have a future? Biological Control, 21: 230 – 248.
- LUKÁŠOVÁ, K., HOLUŠA, J., 2012. Patogeny lýkožroutů rodu *Ips* (Coleoptera: Scolytinae): review. Zprávy Lesnického Výzkumu, 57: 230 – 240.
- LUKÁŠOVÁ, K., HOLUŠA, J., 2013. New data on the host specificity of *Larssoniella duplicati*. Periodicum biologorum, 115: 455 – 457.
- LUKÁŠOVÁ, K., HOLUŠA, J., 2015. Invazní druhy hmyzu na lesních dřevinách. První vydání. Česká zemědělská univerzita v Praze, 91 stran.
- MOORE, A. D., 1955. *Ips confusus* (Lec.) adults infected with nematodes. Journal of Economic Entomology, 48: 478.
- NOVOTNÝ, J., ZÚBRIK, M., BRUTOVSKÝ, D., FINĎO, S., CSÓKA, G., KELBEL, P., KUNCA, A., LEHOCKÝ, M., LEONTOVYČ, R., NOVOTNÝ, J., TURČÁNI, M., VARÍNSKY, J., 2004. Biotické škodcovia lesov Slovenska. Druhé vydanie. Polnochem a.s., Bratislava, Slovenská republika, 208 stran.
- OLENICI, N., DUDUMAN, M. L., TULBURE, C., ROTARIU, C., 2009. *Ips duplicatus* (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae) - un dăunător important al molidului din afara arealului natural de vegetatie. Revista Pădurilor, 124: 17-23.
- PFEFFER, A., 1955. Kůrovcovití – Scolytoidea (řád brouci – Coleoptera). Fauna ČSR sv. 6. Nakladatelství československé akademie věd, Praha, 344 stran.
- PURRINI, K., WEISER, J., 1985. Ultrastructural study of the microsporidian *Chytridiopsis typographi* (Chytridiopsida: Microspora) infecting the bark beetle *Ips typographus* (Scolytidae: Coleoptera), with new data on spore dimorphism. Journal of Invertebrate Pathology, 45: 66 – 74.

- ROBERTS, D. W., HAJEK, A. E. 1992. Entomopathogenic fungi as bioinsecticides. Leatham G. F. (ed.): Frontiers of industrial mycology. New York, Chapman and Hall: 144 – 159.
- 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.
- TONKA, T., WEISER, J. jr., WEISER, J., 2010. Budding: a new stage in the development of *Chytridiopsis typographi* (Zygomycetes: Microsporidia). Journal of Invertebrate Pathology, 104: 17 – 22.
- 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: 221 – 228.
- WEISER, J., 1954. Příspěvek k znalosti cizopasníků kůrovce *Ips typographus* I. Věstník československé zoologické společnosti, 43: 217 – 224.
- WEISER, J., 1970. Three new pathogens of the douglas fir beetle *Dendroctonus pseudotsugae*, *Nosema dendroctoni* n. sp., *Ophryocystis dendroctoni* n. sp., and *Chytridiopsis typographi* n. comb. Journal of Invertebrate Pathology, 16: 436 – 441.
- WEISER, J., HOLUŠA, J., ŽIŽKA, Z., 2006. *Larssoniella duplicati* n. sp. (Microsporidia, Unikaryonidae), a newly described pathogen infecting the double-spined spruce bark beetle, *Ips duplicatus* (Coleoptera, Scolytidae) in the Czech republic. Journal of Pest Science, 79: 127 – 135.
- WEISER, J., DAVID, L., 2006. A light and elektron microscopic study of *Larssoniella resinellae* n. gen., n. sp. (Microspora, Unikaryonidae), a parasite of *Petrova resinella* (Lepidoptera, Tortricidae) in Central Europe. Archiv für Protistenkunde, 147: 405 – 410.
- WERMWLINGER, B., 2004. Ecology and management of the spruce bark beetle *Ips typographus* – a review of recent research. Forest Ecology and Management, 202: 67 – 82.
- YAMAN, M., 2007. *Gregarina typographi* Fuchs, a gregarine pathogen of the six-toothed pine bark beetle, *Ips sexdentatus* (Boerner) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) in Turkey. Turkish Journal of Zoology, 31: 359 – 363.

9 Seznam obrázků

Obrázek 1: Životní cyklus <i>Gregarina typographi</i> ; (zdroj: Lukášová a Holuša, 2012) ..	21
Obrázek 2: Mapa s bodovým vyznačením lokalit, kde byly prováděny odchvy materiálu <i>Ips duplicatus</i> (Autor: Jiří Trombik).....	24
Obrázek 3: Mikrosporidie <i>L. duplicati</i> ve střevní tkáni. Šipka označuje shluk spor. (Autor: Soňa Zimová).....	26
Obrázek 4: Mikrosporidie <i>L. duplicati</i> ve střevní tkáni. Šipka označuje shluk spor. (Autor: Soňa Zimová).....	27

10 Seznam grafů

Graf 1: Histogram četnosti infekčních hladin patogenu <i>L. duplicati</i> na studovaných lokalitách. Červená čára označuje očekávané normální rozdělení.	27
Graf 2: Průměrné infekční hladiny <i>L. duplicati</i> v jednotlivých oblastech (RO...Rumunsko, CZ...Česká republika, PL...Polsko, SWE...Švédsko). Čtverec představuje průměr $\pm 0,95$ interval spolehlivosti.....	29
Graf 3: Srovnání infekční hladiny <i>L. duplicati</i> v jednotlivých oblastech (RO...Rumunsko, CZ...Česká republika, PL...Polsko, SWE...Švédsko). Krabici tvoří průměr \pm směrodatná chyba, svorka představuje průměr \pm minimum-maximum, kolečka znázorňují odlehlé hodnoty.....	30
Graf 4: Srovnání parazitace lýkožrouta severského středními hlísticemi v jednotlivých státech. Boxplot tvoří průměr \pm směrodatná chyba, svorka představuje směrodatné odchylky a kolečka odlehlé hodnoty.	32
Graf 5: Srovnání parazitace lýkožrouta severského mimostředními hlísticemi v jednotlivých státech. Boxplot tvoří medián \pm kvartily (25 % - 75 %), svorka představuje rozsah neodlehlých hodnot.	33
Graf 6: Srovnání infekčních hladin <i>L. duplicati</i> (%) podle pohlaví ve vzorcích <i>I. duplicatus</i> analyzovaných na studijních lokalitách. Boxplot tvoří průměr \pm směrodatná chyba, svorka představuje směrodatnou odchylku.	34

11 Seznam tabulek

Tabulka 1: Přehled lokalit odchyť vzorků s udáním státu, GPS lokality, roku sběru, použitého feromonového odparníku a nadmořské výšky. (CZ...Česká republika, PL...Polsko, RO...Rumunsko, SWE...Švédsko).....	25
Tabulka 2: Lokality s počtem jedinců napadených patogenními organismy <i>Larssoniella duplicati</i> a <i>Chytridiopsis typographi</i> a jejich infekční hladinou udanou v procentech. .	28
Tabulka 3: Lokality s počtem jedinců napadených střevními a mimostřevními hlísticemi a jejich infekční hladinou udanou v procentech.	29
Tabulka 4: Několikanásobné porovnání průměru infekčních hladin patogenu <i>L. duplicati</i> na lokalitách v jednotlivých státech pomocí Tukey (HSD) testu. (RO...Rumunsko, CZ...Česká republika, PL...Polsko, SWE...Švédsko). Významné rozdíly na hladině $p < 0,05$	31
Tabulka 5: Několikanásobné porovnání průměru infekčních hladin střevních hlístic na lokalitách v jednotlivých státech pomocí Tukey (HSD) testu. (RO...Rumunsko, CZ...Česká republika, PL...Polsko, SWE...Švédsko). Významné rozdíly na hladině $p < 0,05$	31
Tabulka 6: Vícenásobné porovnání průměru infekčních hladin mimostřevních hlístic na lokalitách v jednotlivých státech pomocí Kruskal-Wallisova testu. (RO...Rumunsko, CZ...Česká republika, PL...Polsko, SWE...Švédsko).....	32
Tabulka 7: Celkový počet jedinců v jednotlivých státech, počet samců a samic v analýze a průměrná procentuální infekční hladina <i>L. duplicati</i> u obou pohlaví v jednotlivých státech \pm směrodatná odchylka	33
Tabulka 8: Celkový počet jedinců v jednotlivých státech, počet samců a samic v analýze a průměrná procentuální infekční hladina střevních a mimostřevních hlístic u obou pohlaví v jednotlivých státech \pm směrodatná odchylka	34