

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra ochrany lesa a entomologie



Bakalářská práce

Vliv patogenů na plodnost lýkožrouta smrkového
(Coleoptera: Curculionidae)

Pavčina Daňhelková

© 2015 ČZU v Praze

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Katedra ochrany lesa a entomologie

Fakulta lesnická a dřevařská

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Pavλίna Daňhelková

Hospodářská a správní služba v lesním hospodářství

Název práce

Vliv patogenů na plodnost lýkožrouta smrkového (Coleoptera: Curculionidae)

Název anglicky

Impact of pathogens on fertility of spruce bark beetle (Coleoptera: Curculionidae)

Cíle práce

Srovnat plodnost zdravých samic Ips typographus se samicemi s nákazami

Metodika

- v terénu odebrat samice Ips typographus z matečných chodeb po vykladení
- spočítat nakladená vajíčka
- odebrané brouky zmrazit při -4°C
- vyjmout tělní obsah a prohlédnout pod mikroskopem
- stanovit infekční nákazy
- srovnat plodnost u samic s nákazami s plodností zdravých samic

Doporučený rozsah práce

30 stran

Klíčová slova

Ips typographus, plodnost, patogeny

Doporučené zdroje informací

- Anderbrant O., 1988: Survival of parent and brood adult bark beetles, *Ips typographus*, in relation to size, lipid content and re-emergence or emergence day. *Physiological Entomology*, 13 (2): 121-129.
- Faccoli M. & Bernardinelli I., 2011: Breeding performance of the second generation in some bivoltine populations of *Ips typographus* (Coleoptera Curculionidae) in the south-eastern Alps. *Journal of Pest Science*, 84:15-23.
- Lukašova K., Holuša J., 2012: Patogeny lýkožroutů rodu *Ips* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae): Review. *Zprávy lesnického výzkumu*, 57: 160-164.
- Skuhřavý V., 2002: Lýkožrout smrkový *Ips typographus* (L.) a jeho kalamity (Der Buchdrucker *Ips typographus* L. und seine Kalamitäten. Spruce bark beetle *Ips typographus* and its outbreaks). 1.vyd. Praha, Agrospoj, 196 pp.
- Wegensteiner R. 2004. Pathogens in bark beetles. In: Lieutier F. et al., Day K. R., Battisti A., Grégoire J.-C., Evans H. F. (eds.): *Bark and wood boring insects in living trees in Europe*; a synthesis. Dordrecht, Kluwer: 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

2015/06 (červen)

Vedoucí práce

prof. Ing. Jaroslav Holuša, Ph.D.

Elektronicky schváleno dne 19. 2. 2014

prof. Ing. Jaroslav Holuša, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 1. 8. 2014

prof. Ing. Marek Turčáni, Ph.D.

Děkan

V Praze dne 19. 04. 2015

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv patogenů na plodnost lýkožrouta smrkového" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 20. 4. 2015

Pavλίna Daňhelková

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce prof. Ing. Jaroslavu Holušovi Ph.D. za přínosné rady a ochotu při vyhotovování mé práce, Ing. Martinu Resnerovi a RNDr. Adamovi Vělemu Ph.D. za pomoc při terénních pracích.

Abstrakt

Bakalářská práce studuje vliv patogenů na plodnost lýkožrouta smrkového (*Ips typographus*). Informace byly získány z vědeckých publikací, terénního sběru vzorků- samic *I. typographus* a následné laboratorní činnosti. Odběry brouků byly provedeny na lapácích a to konkrétně na třech lokalitách na území České republiky. První lokalitou byla Pec pod Sněžkou nacházející se v NP KRNAP (50.6974342N, 15.7505886E, 769 m. n. m.), sběr brouků byl proveden 20. 6. 2014. Druhou byla lokalita nedaleko Prášil (49.0918444N, 13.3707764E, 883 m. n. m.), sběr brouků byl proveden 15. 8. 2014. A třetí lokalitou byly Boletice (48.8300097N, 14.2046961E, 798 m. n. m.), sběr brouků byl proveden 16. 8. 2014.

Celkem bylo při studiu vypitváno 741 *I. typographus*. Spektrum zjištěných patogenů bylo značně pestré, avšak nejednalo se o vzácné druhy. Byly identifikovány například larvy hlístovek ve střevech a tělní dutině, hlístovka *Contortylenchus diplogaster*, hlístovky tělní, eugregarina *Gregarina typographi*, schizogregarina *Matessia schwenkei*, virus *Entomopoxvirus*, a parazitoid *Tomicobia seitneri*.

Práce studuje vliv těchto zmíněných patogenů a parazitů na plodnost *I. typographus*. Nebylo potvrzeno, že samice napadené patogeny či parazity kladly méně vajíček.

Klíčová slova: *Ips typographus*, plodnost, patogeny

Abstract

The impact of pathogens on fertility spruce bark beetle (*Ips typographus*) was studied. Beetles were collected from infested trees at three locations in the Czech Republic. The first location was Pec pod Sněžkou located in the National Park KRNAP (50.6974342N, 15.7505886E, 769 m.a.s.l.), the collection of beetles was made 20. 6. 2014. The second location near Prášily (49.0918444N, 13.3707764E, 883 m.a.s.l.), the collection of beetles was made 15. 8. 2014. A third location was Boletice (48.8300097N, 14.2046961E, 798 m.a.s.l.), the collection of beetles was made 16. 8. 2014.

In total, 741 *I. typographus* were studied. The spectrum of pathogens detected were high, but there was no found any rare species. We have found larvae of nematodes in the intestines and body cavities, nematod *Contortylenchus diplogaster*, eugregarine *Gregarina typographi*, schizogregarina *Matessia schwenkei*, entomopoxvirus virus, a parasitoid *Tomicobia Seitneri*.

The work examines the impact of these aforementioned pathogens and parasites on fertility *I. typographus*. It was not confirmed that bark beetles females infested by pathogens or parasites laid fewer eggs.

Keywords: *Ips typographus*, fertility, pathogens

OBSAH

Abstrakt	1
Abstract	2
1. Úvod	4
2. Cíle	5
3. Literární přehled	6
3.1.Charakteristika <i>Ips typographus</i>	6
3.2.Plodnost <i>Ips typographus</i>	6
3.3.Patogeny <i>Ips typographus</i>	8
3.3.1. Viry.....	9
3.3.2. Prvoci.....	9
3.3.2.1. Měňavky.....	10
3.3.2.2. Hromadinky.....	10
3.3.3. Houby.....	11
3.3.4. Mikrosporidie.....	11
3.3.5. Hlístovky.....	12
4. Metodika	15
5. Výsledky	19
6. Diskuse	28
7. Závěr	30
8. Seznam obrázků a grafů	31
9. Seznam použité literatury	33

1. Úvod

Ips typographus (Linnaeus 1758) je jedním ze šesti zástupců řádu *Ips* v České republice (Pfeffer 1995). Lýkožrout smrkový patří v celé Eurasii mezi nejvýznamnější škůdce starších smrkových porostů. Je zařazen mezi kalamitní škůdce České republiky.

I když je bionomie *I. typographus* podrobně studována (Gregoire, Evans 2004, Wermelinger 2004), znalosti o patogenech jsou stále velmi omezené. V posledních letech však byly podrobně studovány (Wegensteiner 2004, Takov et al 2010, Wegensteiner et al 2010, Lukášová, Holuša 2011).

V dnešní době je známo několik desítek druhů patogenů (tab. 1) a hlístic. Tyto patogeny a hlístice byly objeveny v tělech lýkožroutů rodu *Ips*. První záznamy o studování patogenů pochází z počátku 20. století (Fuchs 1915), další až z poloviny 20. století. Intenzivně jsou nemoci studovány od poloviny devadesátých let (Wegensteiner 2004). V tomto období bylo objeveno nejvíce patogenů a informací o nich (Weiser et al. 2006). Takov et al. (2010) zpracoval přehled všech dosud známých nemocí. Ve většině případů nám je známa pouze výše infekční nákazy a infrastruktura patogenů. Není ale znám jejich vztah k početnosti hostitele. U mnoha druhů není objasněn vývojový cyklus, ale v současné době probíhá jejich výzkum. O hlísticích máme informací ještě méně.

Neznám je zatím vliv na fitness brouků včetně ovlivňování plodnosti samic lýkožroutů.

2. Cíle

Cílem práce je zjistit zda patogeny, kterými jsou napadeny samice *Ips typographus*, ovlivňují počet vykladených vajíček.

3. Literární přehled

3.1 Charakteristika *Ips typographus*

Lýkožrout smrkový patří do řádu brouků (Coleoptera), čeledi kůrovcovitých (Scolytidae). Je jedním ze šesti zástupců tohoto rodu u nás. Lýkožrout smrkový patří ve střední Evropě mezi nejvýznamnější škůdce starších smrkových porostů. Tuto skutečnost je možné dokázat objemem napadeného dříví, který v osmdesátých a devadesátých letech dosáhl celkové výše téměř 14 mil. m³. Lýkožrout smrkový je typickým škůdcem, který v první řadě napadá čerstvě vytěžené smrkové dříví, polomy a fyziologicky oslabené stojící stromy (imisemi, suchem, václavkou apod.). Při přemnožení, když nenalézá dostatek vhodného materiálu pro založení potomstva, napadá i zdravé smrky. Z hlediska způsobu poškození je lýkožrout smrkový škůdcem fyziologickým. Negativní dopad působení tohoto škůdce souvisí se zdravotním stavem porostů, s podmínkami vhodnými pro jeho rozmnožování a také vlivem počasí. Brzký příchod jara, dlouhé a teplé léto urychluje vývoj *I. typographus* a tak se může zvýšit počet generací. Po Evropě je široce rozšířen (s výjimkou Velké Británie), na východě zasahuje přes Sibiř, Čínu a Koreu až po Japonsko, kde tvoří morfologicky odlišnou formu. U nás se vyskytuje všude, kde jsou smrkové porosty. Původně byl druhem horských smrčín, odkud se postupně rozšířil i do smrkových monokultur v nižších polohách (ještě ve 20. letech tohoto století ho prof. Komárek našel pouze v našich okrajových pohořích a na Třeboňsku). *I. typographus* je jedním z kalamitních škůdců a nejčastěji se vyskytuje ve smrkových porostech nad 60 let (Wegensteiner 2004).

3.2 Plodnost *Ips typographus*

Ohrožení lýkožroutem smrkovým je přímo spjato se zdravotním stavem lesních porostů a zvyšuje se s růstem lokální populační hustoty. Systém agregčních feromonů vyvinutý u *I. typographus*, je důvodem hromadných náletů na vybrané hostitelské stromy. Aby bylo napadení úspěšné, musí být počet brouků dostatečný k překonání odolnosti stromu (Raffa, Berryman 1983). Růst hustoty obsazení kmene však ovlivňuje míru přežití potomstva, díky stoupající konkurenci o lýko (Thalenhorst 1958). V souvislosti s chemickou komunikací je vzrůstající hustota kolonizujících brouků omezována látkami jako je ipsdienol či ipsenol

uvolňující se z trusu samic (Wainhouse 2005). Díky působení těchto látek, následně dochází k přesměrování letu na okolní stromy. Avšak v závislosti na lokální denzitě *I. typographus* a odolnosti stromů dochází k navýšení optimální hustoty napadení, než je obvyklé, a tím k nižšímu reprodukčnímu úspěchu (Anderbrant et al. 1985). Otázkou zůstává, zda snížení počtu vajíček je důsledkem nižší reprodukční schopnosti (Anderbrant 1990), nebo zvýšení mortality mezi stadiem vajíčka až dospělého, vlivem denzity (Thalenhorst 1958, DeJong, Grijpma 1986), nebo zkombinováním obou faktorů.

Vědci, zabývající se počtem vajíček nakladených jednou samicí, zastávají mnoho názorů na tuto problematiku. Pfeffer (1954) uvádí počet vajíček v rozmezí 20 – 100 kusů v závislosti na tom, zda samice prodělala sesterské rojení. Průměrný počet stanoví na 60 vajíček. Podle Zumra (1995) počet nakladených vajíček klesá s nadmořskou výškou a pohybuje se mezi 25 (1200 m. n. m.) až 83 (500 m. n. m.). Wermelinger (2004) zastává názor, že samice naklade v průměru 80 vajíček do jedné snůšky. Thalenhorst (1958) ve své práci uvádí počet nakladených vajíček pro první mateřskou chodbu v rozmezí 35 – 50 kusů bez vlivu prostorové konkurence. Spolu se sesterským rojením dále uvádí až 90 vajíček nakladených jednou samicí. Značně vysoké celkové množství vajíček, zahrnutím prvního i druhého sesterského rojení udává Martínek (1956) a to až do výše „fyziologických“ možností jedné samice *I. typographus*, tj. 120 vajíček (Martínek 1961).

Samice *I. typographus* řeší kompetici o lýko, vylétnutím z matečné chodby a založením sesterského pokolení (Martínek 1961). S kratší dobou pobytu samice *I. typographus* v požerku, a tím i kratší matečnou chodbou, souvisí i nižší počet kladených vajíček pozorovaný mnoha autory (Thalenhorst 1958, Mills 1986, Anderbrant 1990). Těsný lineární vztah mezi délkou chodby a počtem kladených vajíček vyjádřil Anderbrant (1990) rovnicí $y = 0,53x - 1,5$, kde y je počet vajíček nakladených samicí a x délka matečné chodby. Údaje o počtu vajíček na jednu snůšku v souvislosti s hustotou náletu kmene, uvádí řada autorů. Bombosch (1954) pozoroval pro 150 matečných chodeb na m^2 – 54 vajíček, pro 250 chodeb na m^2 – 41 vajíček a pro 350 chodeb na m^2 – 34 vajíček. Švihra (1973) zjistil na stromových lapácích při hustotě závrtů 150 – 200 na m^2 průměrně 34 vajíček, při 201 – 250 na m^2 průměrně 36 vajíček, 251 – 300 na m^2 průměrně 43 vajíček, 301 – 350 na m^2 průměrně 49 vajíček a při 351 – 500 závrtů na m^2 průměrně 55 vajíček. Produkci vajíček v závislosti na hustotě obsazení kmene matematicky vyjádřil Thalenhorst (1958) vzorcem $y = ba/x$, kde y je produkce potomstva každé samičky, b je zamýšlená produkce (35 – 50 vajíček), a je koeficient rušení (2,7 – 3,1) a x je hustota mateřských chodeb na 1 000 cm^2 (0,1 m^2). Vzorec dle Thalenhorsta (1958) vyjadřuje nižší hodnoty, než jsou uváděné Bomboschem (1954).

Vztah mezi množstvím *I. typographus*, které napadli kmen a množstvím nakladených vajíček vyjádřil Mills (1986) logaritmickou funkcí $y = a + b \cdot \ln(x + 1)$, kde parametry a , b představují počet vajíček (a ; 91,6 ks) a délku matečné chodby (b ; 21,26 cm) při absenci kompetičních vztahů, x počet matečných chodeb na 1 000 cm² (0,1 m²). Stejně údaje Mills (1986) aproximoval také modelem pro kladení kůrovců, navrženým Berrymanem (1974) $y = a \cdot e^{b \cdot x^{0,5}}$. Odhady průměrné plodnosti samic pomocí tohoto modelu byly velmi podobné logaritmickým vztahům, ale vypočtené hodnoty parametrů měly menší rozptyl.

Nezanedbatelným omezením při aplikaci teoretických modelů určených ke stanovení počtu kladených vajíček na jednu samici, představuje skutečnost, že tyto postupy jsou často konstruovány pomocí údajů, vycházejících z laboratorních pokusů (Mills 1986, Anderbrant 1990) nebo terénních pokusů s napadenými poleny. Problémem však zůstává malý počet měření (Martínek 1956, 1961).

Na základě údajů získaných na území České republiky, byl nalezen vztah mezi délkou chodby (x_1), počtem rodinných požerků na m² (x_2) a množstvím nakladených vajíček na chodbu (y), charakterizován rovnicí $y = 15,45 + 0,29 \cdot x_1 - 0,02 \cdot x_2$ s variabilitou vysvětlenou modelem $R^2 = 0,36$; $p < 0,05$ (Matoušek et al. 2012).

3.3 Patogeny *Ips typographus*

První zmínky o patogenech u lýkožroutů rodu *Ips* pocházejí z počátku 20. století (Fuchs 1915). Intenzivně jsou nemoci studovány od poloviny devadesátých let (Wegensteiner 2004). V té době bylo objeveno nejvíce druhů. Přehled všech nemocí (mikrosporidie a prvoci) byl zpracován Takovem et al. (2010). U většiny druhů nemocí není znám vývojový cyklus, nebo v současné době probíhá jejich výzkum.

Tab. 1 Přehled patogenů lýkožroutů rodu *Ips* (Lukášová, Holuša 2012)

Patogeny/ Druhy	<i>Ips typographus</i>	<i>Ips acuminatus</i>	<i>Ips sexdentatus</i>	<i>Ips amitinus</i>	<i>Ips duplicatus</i>	<i>Ips cembrae</i>
<i>Malamoeba scolyti</i>	x	x	-	-	-	-
<i>Gregarina typographi</i> *	x	x	x	x	x	x
<i>Telosporidium typographi</i>	x	-	-	-	-	-
<i>Menzbiera chalcographi</i>	x	-	-	-	-	-
<i>Mattesia schwenkei</i> *	x	x	-	-	-	x
<i>Chytridiopsis typographi</i>	x	x	-	x	x	x
<i>Nosema typographi</i> *	x	-	-	-	-	x
<i>Unikaryon montanum</i> *	x	-	-	x	-	-
<i>Larsoniella duplicati</i>	-	-	-	-	x	-
<i>Metschnikowia typographi</i>	x	-	x	x	-	-
<i>ItEPV</i>	x	-	-	x	-	-
Σ patogeny	10	4	2	5	3	4

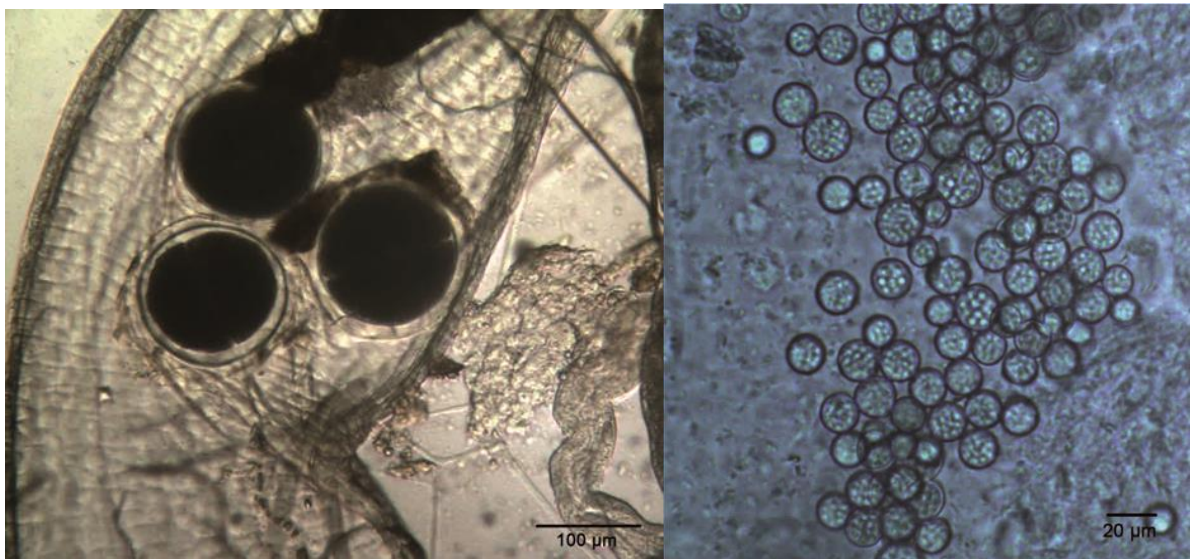
* Druhy, u kterých si autoři nebyli jistí a určili je pouze do rodu, jsme přiřadili k již popsaným druhům. Zřejmě se totiž jedná o tyto již existující druhy (vzhledem k podobné bionomii a vazbě na stejné hostitelské dřeviny lýkožroutů). Bez genetických testů, které jsou zejména u mikrosporidií velmi komplikované, není zatím potřeba je striktně rozlišovat.

3.3.1 Viry

Mezi druhově specifická onemocnění patří viry. Jejich působením v hostitelském těle se rozpadá tkáň v kalnou tekutinu. Kultivace virů je možná pouze v laboratorních podmínkách, neboť potřebuje přesné technologické postupy. U *I. typographus* je známý *Entomopoxvirus*. Projevuje se tvorbou bílkovinných světlolomných inkluzí pouze ve stěně střeva dospělých brouků, jiné orgány nenapadá (Weiser, Wegensteiner 1994, Wegensteiner, Weiser 1995, Weiser et al. 2000, Burjanadze, Goginashvili 2009, Yaman, Baki 2011). Čočkovité inkluze obsahují větší množství virových částic a postupně vyplňují střevní epitel a uvolňují se s výkaly. Tím může dojít k deformaci střeva hostitele a jeho následnému úmrtí. Patogen se přenáší trusem a předává se během úživného žíru.

3.3.2 Prvoci

K dalším patogenům patří prvoci, především měňavky, hromadinky a kokcidie (Weiser 1966). V biologickém boji proti škůdcům je jejich použití značně omezené. Některé druhy např. gregariny (obr. 1) jsou označovány spíše jako komenzální organismy a neogregariny napadající tukové těleso. Velice špatně se šíří (prakticky dojde k předání nemoci až po uhynutí a rozkladu hostitelských tkání).



Obr. 1 Gametocysty *Gregarina typographi* v lumenu střeva *Ips typographus* (Lukášová, Holuša 2012)

Obr. 2 Silnostěnné cysty *Chytridiopsis typographi* nalezené v mesenteronu *Ips typographus* (Lukášová, Holuša 2012)

3.3.2.1 Měňavky. Měňavky rodu *Malamoeba*, konkrétně druh *Malamoeba scolyti*. Byl potvrzen ve střevě *I. typographus* (Wegensteiner 1994, Wegensteiner et al. 1996, Händel et al. 2001). Tento patogen je znám velkými vejčitými cystami, které z těla hostitele odcházejí přes střevo spolu s trusem. Po namnožení dojde k ucpání trubic a znemožnění vyměšování odpadních látek z těla hostitele (Weiser 2002). Bylo dokázáno, že po cíleném napadení kůrovce tímto prvokem v laboratorních podmínkách, dojde ke zkrácení života kůrovce až o polovinu (Kirchhoff, Führer 1990).

3.3.2.2 Hromadinky. Hromadinky jsou paraziti bezobratlých, zahrnující tři skupiny: Archigregarinida, Eugregarinida a Neogregarinida. Zástupci těchto parazitů se běžně vyskytují u hmyzu (Zuk 1987, Simmons 1990, Lange, Wittenstein 2002, Smith et al. 2007, Smith, Cook 2008, Locklin, Vodopich 2010), zvláště u brouků (Coleoptera), (Schawang, Janovy 2001, Yaman 2002, 2007, Sienkiewicz, Lipa 2008). Eugregarina *Gregarina typographi* (Fuchs, 1915) byla zjištěna ve střední části střeva u mnoha zástupců podčeledi Scolytinae (Takov et al. 2007, 2010, Yaman 2007, Holuša et al. 2009, Kereselidze et al. 2010). Kůrovci se infikují požitím oocyst v nakaženém trusu, zbytcích těla uhynulých jedinců a kanibalismem při tvorbě požerku nebo při zralostním žíru. Obecně gregariny zřejmě způsobují mechanická a fyziologická poškození střevního epitelu, ovlivňují vylučování metabolitů a toxinů během procesu pinocytózy. Vývoj trofozoitů poškozuje buňky ve střevním epitelu a poskytuje tak vstupní bránu do tělní dutiny pro další patogeny (Lipa 1967).

Poškození středního střeva však mohou být lehce kompenzována buněčnou regenerací a patologický efekt na hostitele je obecně velmi slabý (Lipa 1967, Tanada, Kaya 1993). V případě vysokého počtu trofozoitů může jedinec zemřít na ucpání střeva (Ceryngier, Hodek 1996). Mezi neogregariny řadíme také patogen *Mattesia schwenkei*, ten napadá střeva jedince a způsobí mechanické i fyziologické poškození střevního epitelu. Negativně ovlivňuje vylučovací procesy (Lipa 1967).

3.3.3 Houby

Dalšími patogeny jsou houby. Mnoho těchto onemocnění se objevuje až po uhynutí jedince. Úhyn je tak způsoben jinými faktory. K nejčastějším houbovým patogenům škůdců patří především *Beauveria bassiana* (Bals.) a *Beauveria brongniartii* (Sac.), která je na první pohled identifikována pokrytím těla hostitele bílým povlakem. Výsledky laboratorních studií dokazují, že v porovnání s většinou ostatních druhů entomopatogenních hub vykazuje *B. bassiana* po aplikaci na dospělce *I. typographus* nejen nejvyšší schopnost napadat jiné buňky (Wegensteiner 1996, Kreutz et al. 2004) – hlavně izoláty získané z čistých kultur z mrtvých hostitelů (Draganova et al. 2007), ale také největší přizpůsobení co se týče schopnosti šíření patogenů prostřednictvím přirozených mechanismů, které odrážejí populační chování hostitele (Landa et al. 2007).

3.3.4 Mikrosporidie

K parazitům řadíme také mikrosporidie (Zygomycetes: Microsporidia), původně se řadí mezi prvoky. Dnes se považují za primitivní houby (Corradi, Keeling 2009, Redhead et al. 2009). Mluvíme cca o 1300 známých druzích, což znamená cca o 160 rodech. (Wittner, Weiss 1999). Nejběžněji se objevují u škůdců jak zemědělských tak lesnických a to jak ve všech tkáních, tak i ve všech vývojových stádiích hostitele. K infekci dochází nejčastěji požitím nakažené potravy (Holuša, Weiser 2005). Pouze v případě velmi silné infekce mohou mikrosporidie napadnout vaječníky a objevuje se přenos přes vajíčka (Weiser et al. 2000, Phelps, Goodwin 2008). Mikrosporidie se vyznačují uniformním životním cyklem (Cali, Takvorian 1999). U kůrovců je známo několik druhů mikrosporidií. Tyto druhy napadají střevní epitel středního střeva, dostávají se do vaječnicků a jsou předávány larvám (Weiser et al. 1998, Weiser 2002, Wegensteiner 2004). U larev se výskyt onemocnění a úmrtnost neprojevuje. Hodnoty infekční hladiny nad 30 % u viru a mikrosporidií považuje bez hlubšího studia Weiser (2002) za příznak nastupujícího zániku ohniska přemnožení

brouků pomocí přirozené regulace populace. *Unikaryon montanum* (Weiser, Wegensteiner, Žizka, 1998) je nalézán v tukové tkáni, Malphigických trubicích a vaječnících lýkožrouta smrkového (Wegensteiner, Weiser 2004). *Nosema typographi* (Weiser 1955) byl nalezen v tukové tkáni, vaječnících a Malphigických trubicích. Má dvoujaderné spory které se vylučují spolu s trusem (Purrini 1978, Wegensteiner, Weiser 1996). Nákaza v populacích *I. typographus* je běžně velmi nízká, pohybuje se kolem 2 % i méně (Wegensteiner, Weiser 1996, Händel et al. 2003). Nejběžnější mikrosporidie *Chytridiopsis typographi* (Weiser, 1954) se vyznačuje tvorbou velmi odolných silnostěnných cyst obsahující 16 – 32 kulovitých spor, které jsou infekční agens, a také chybějícím polaroblastem, který je nahrazen polárními vlákny. (Wegensteiner 2004, Takov et al. 2010, 2011, Tonka et al. 2010, Wegensteiner et al. 2010, Michalková et al. 2011). *Ch. typographi* vytváří vředovitá ohniska, ve kterých dochází k porušení střeva. Má dva typy spor: tenkostěnné – na vnější prostředí méně odolné – a silnostěnné. Tenkostěnné spory, produkované v tenkostěnných dočasných sporoforních váčcích, šíří infekci uvnitř hostitele tím, že vstříknou sporoplazmu do epitelových buněk střeva původního hostitele. Silnostěnné spory jsou umístěny v trvalém sporoforním váčku připomínajícím cystu, který neuvolňuje spory v původním hostiteli, ale je vylučován s trusem. Tyto spory zůstávají infekční po dobu několika měsíců ve vnějším prostředí a slouží pro horizontální přenos patogenu. Obecně je *Ch. typographi* nespecifický patogen, který napadá jen epitel střeva podčeledi Scolytinae (Wegensteiner 2004). Hladina infekčnosti tohoto patogenu se pohybuje kolem několika desítek procent (Wegensteiner 2004, Wegensteiner, Weiser 2004, Holuša et al. 2009, Wegensteiner et al. 2010).

3.3.5 Hlístovky

Entomopatogenní hlístice (Nematoda: Heterorhabditidae, Mermithidae, Steinernematidae) jsou endoparazité hmyzu (Gaugler, Kaya 1990, Gaugler 2002). Jsou běžně užívány v biologickém boji proti druhům hmyzu žijícím skrytým způsobem života (Ramos Rodríguez et al. 2006), nejběžněji ve vlhkém a v půdním prostředí (Kaya, Gaugler 1993). Do tělní dutiny hostitelů se hlístice dostávají tělními otvory. Po vniknutí do hostitele vypouštějí pomocí symbiotických bakterií endotoxiny, jimiž svého hostitele usmrtí. Po zabití hostitele slouží jeho tělo i s bakteriemi k následnému vývoji hlístic. Infekční stádia (až několik tisíc) opouští již usmrceného hostitele po 2- 3 týdnech. Rychle vyhledávají nové živé hostitele z řad hmyzu k následnému napadení (Croll 1970). Hlístice nepatří k běžným patogenům kůrovců, ale úspěšně je infikují (Poinar, Deschamps 1981). Hlístice využívají kůrovce k přesunu na nová stanoviště (forézie) nebo je potřebují k dokončení svého vývojového cyklu (parazitace).

Tab. 2 Výskyt hlístovek pod krovkami, na křídlech, hrudníku a mezi tělesnými segmenty lýkožroutů rodu *Ips* ve střední Evropě (Grucmanová, Holuša 2013)

druh	čeleď	<i>Ips</i> druh	země	citace
<i>Bursaphelenchus eidmanni</i> (Ruhm, 1956)	Parasitaphelenchidae	<i>I. amitinus</i> <i>I. typographus</i>	Germany, Slovakia	Ruhm 1956, Tenkacova, Mituch 1986, 1987, 1991
<i>Bursaphelenchus sexdentati</i> Ruhm, 1960	Parasitaphelenchidae	<i>I. sexdentatus</i>	Germany	Ruhm 1960
<i>Cryptaphelenchus macrogaster</i> <i>acuminati</i> Ruhm, 1956	Aphelenchoididae	<i>I. acuminatus</i>	Germany	Ruhm 1956
<i>Ektaphelenchus typographi</i> (Fuchs, 1930)	Ektaphelenchidae	<i>I. typographus</i>	Germany	Ruhm 1956
<i>Fuchsnema halleri</i> (Fuchs, 1915)	Diplogasteroididae	<i>I. amitinus</i> <i>I. cembrae</i> <i>I. typographus</i>	Germany, Slovakia	Ruhm 1956, Tenkacova, Mituch 1986, 1991
<i>Micoletzkyia buetschlii</i> (Fuchs, 1915)	Neodiplogastridae	<i>I. cembrae</i> <i>I. typographus</i>	Czech Republic, Germany, Slovakia	Weiser 1954, Ruhm 1956, Tenkacova, Mituch 1986, 1991
<i>Neoditylenchus major</i> (Fuchs, 1915)	Neotylenchidae syn. Sychnotylenchidae	<i>I. amitinus</i> <i>I. typographus</i>	Germany, Slovakia	Ruhm 1956, Tenkacova, Mituch 1987, 1991

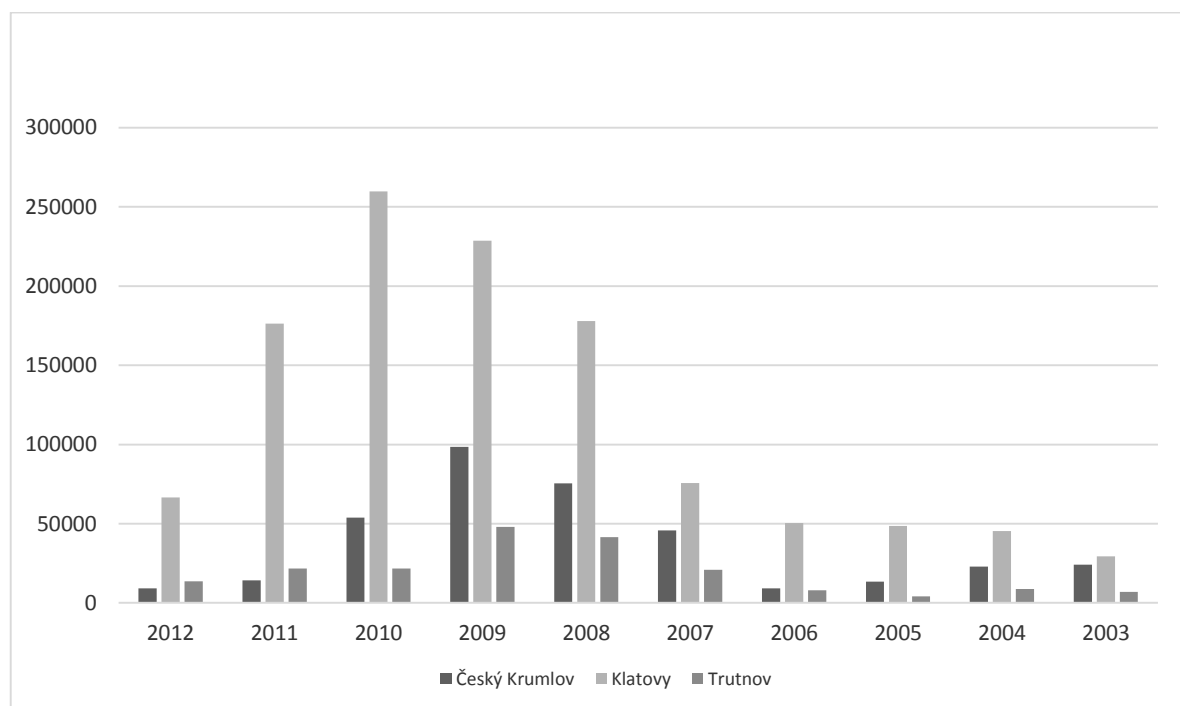
Tab. 3 Výskyt patogenů v požercích lýkožroutů rodu *Ips* ve střední Evropě (Grucmanová, Holuša 2013)

druh hlístic	čeleď	<i>Ips</i> druh	lokace	země	citace
<i>Contortylenchus diplogaster</i> v. Linstow, 1890	Allantonematidae	<i>I. cembrae</i> <i>I. sexdentatus</i> <i>I. typographus</i>	hemocel	Czech Republic, Germany, Poland, Slovakia	Ruhm 1956, Tenkacova, Mituch 1986, 1991, Balazy 1966, 1968
<i>Cryptaphelenchus</i> <i>macrogaster macrogaster</i> (Fuchs, 1937)	Aphelenchoididae	<i>I. cembrae</i> <i>I. typographus</i>	Malphigian tubules intestinum	Germany, Slovakia	Ruhm 1956, Tenkacova, Mituch 1986, 1991
<i>Ektaphelenchus typographi</i> (Fuchs, 1930)	Ektaphelenchidae	<i>I. typographus</i>	larvae	Germany	Ruhm 1956
<i>Parasitorhabditis obtusa</i> (Fuchs, 1915)	Rhabditidae	<i>I. cembrae</i> <i>I. typographus</i>	intestinum	Austria, Switzerland, Czech Republic, Germany, Poland, Slovakia, Slovenia	Ruhm 1956, Weiser, Mracek 1988, Tenkacova, Mituch 1986, 1987, 1991, Balazy 1966, 1968, Andrassy 1983
<i>Parasitylenchus dispar</i> (Fuchs, 1915)	Parasitylenchidae	<i>I. typographus</i>	hemocel	Czech Republic, Germany, Poland, Slovakia, Slovenia	Ruhm 1956, Balazy 1966, 1968, Weiser 1954, 1977, Weiser, Mracek 1988, 2006, Tenkacova, Mituch 1986, 1991

Mezi hlístice s vazbou ke kůrovcům řadíme především zástupce řádů Tylenchida a Rhabditida. Většina hlístic spojovaných s *I. typographus* jedince negativně neovlivňuje, ale existují i některé parazitické druhy (Ruhm 1956). Ty jsou lokalizovány v těle brouků buď volně v hemolymfě, jako například rody *Contortylenchus* a *Parasitylenchus*, nebo v Malphigických trubicích jako rod *Cryptaphelenchus*. Ve střevě nacházíme rody *Aphelenchoides* a *Parasitorhabditis* (Ruhm 1956). Průměrná nákaza kůrovců střevními hlísticemi se pohybuje kolem 50 % (Wegensteiner, Weiser 1996, Burjanadze, Goginashvili 2009, Kereselidze et al. 2010). Podle některých studií zabíjejí parazitické hlístice své hostitele (způsobují ucpání střeva a jeho perforaci) a ovlivňují míru mortality a jejich plodnost (Lieutier 1980, Kaya 1984). Vliv běžně se vyskytujících druhů endoparazitických hlístic u *I. typographus* na jejich letovou činnost nebyl prokázán (Forsse 1987).

4. Metodika

Studium bylo provedeno na třech lokalitách s vyššími populačními hustotami lýkožroutů, kde byly v předchozích studiích zjištěny i vyšší nákazy patogeny (Lukášová et al. 2012).



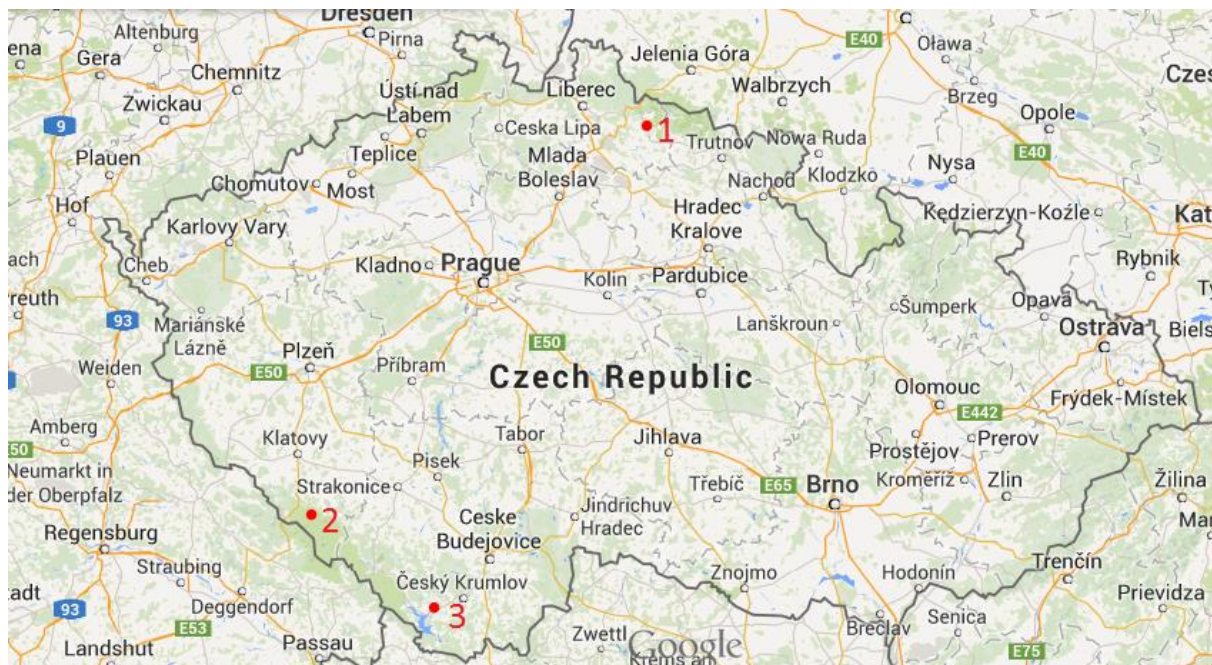
Obr. 3 Objem smrkového kůrovcového dříví v okrese Český Krumlov, Klatovy a Trutnov v letech 2003-2012

Lokalita Pec pod Sněžkou (50.6974342N, 15.7505886E, 769 m. n. m., obr. 4 a obr. 5), leží na území Krkonošského národního parku. Terén byl mírně svažité a převažují smrkové porosty. Brouci byli odebráni na napadeném smrkovém dříví, svezném na odvozní místo. Odběr byl proveden 20. 6. 2014.

Lokalita Prášily (49.0918444N, 13.3707764E, 883 m. n. m., obr. 4 a obr. 6) leží v národním parku Šumava, U napadených kmenů byl terén svažité hůře přístupný a převažovala smrková monokultura. Odběr byl proveden 15. 8. 2014

Lokalita Boletice (48.8300097N, 14.2046961E, 798 m. n. m., obr. 4 a obr. 7) je ve vojenském prostoru Vojenských lesů a statků ČR s. p.. Zde byla smrková monokultura zasazená do rovinatého terénu. Odběr byl proveden 16. 8. 2014.

Objem smrkového kůrovcového dříví v okresech, kde leží jednotlivé lokality, se výrazně liší (obr. 3). Nejvyšší objemy byly zaznamenány v okrese Klatovy (lokality Prášily) (obr. 6 a obr. 4), nižší v okrese Český Krumlov (lokality Boletice) (obr. 7 a obr. 4) a nejnižší v okrese Trutnov (Lokalita Pec pod Sněžkou) (obr. 4 a obr. 5).



Obr. 4 Označení lokalit, kde byly provedeny odběry (1- Pec pod Sněžkou 2- Prášily 3- Boletice)

Pro studium byly vybrány stromy s rozvinutými požerky tak, aby bylo jisté, že samice *I. typographus* jsou vykladené. Proto byly studovány jen požerky, kde první vylíhlé larvy byly již ve stadiu L3 (obr. 8 a obr. 9). Kmen byl odkorněn ostrým nožem a následně odebrány samice *I. typographus* z matečných chodeb a spočítána nakladená vajíčka. Dále byly změřeny délky chodeb. Jednotlivé samice byly uchovány v uzavíratelných mikroskumavkách typu Eppendorf o obsahu 2cm³. Všechny nasbírané vzorky byly uchovány při minus deseti stupních.

Další práce byly prováděny v laboratořích České zemědělské univerzity v Praze. Materiál byl vyjmut z mikroskumavek a rozmrazen v Petriho miskách při pokojové teplotě. Nadále se z lýkožrouta pomocí pinzet, na podložním skle pod binolupou vyjmul střevo a přiložilo se krycí sklo. Tím se vytvořil preparát, který se nadále studoval pod mikroskopem. Tímto způsobem se vypitvali a prohlédli všichni nasbírané *I. typographus*. Střevo bylo prohlédnuto pod světleným mikroskopem Arsenal LPE 5013i-T (Arsenal s.r.o., Prague, Czech Republic) při zvětšení 40–400 a byly zaznamenány patogeny a paraziti (det. J. Holuša).

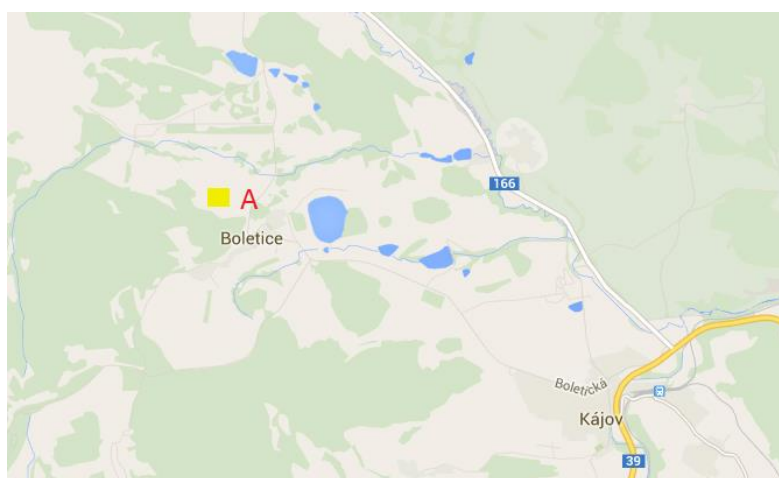
Zjištěné výsledky, tedy zda je vzorek napaden a jakým patogenem se zapisovaly do připraveného archu. Zjištěné informace jsem přepsala do elektronické podoby.



Obr. 5 Umístění lokality u Pece pod Sněžkou



Obr. 6 Umístění lokality u Prášil



Obr. 7 Umístění lokality u Boletic

Normalita dat byla testována Kolmogorov-Smirnovových, Lillieforsovým a Shapiro-Wilkovým testem. Průměrné počty vajíček byly porovnány LSD testem, zatímco průměrné počty vajíček nakladených samicemi podle patogenu či parazita v tělech samic byly srovnány Scheffeho testem. Všechny analýzy byly provedeny v programu Statistica 12.0.



Obr. 8 Rozvinutý požerek *I. typographus* s prvními larvami L3 v okamžiku studia (Pavčina Daňhelková)



Obr. 9 Jednoramenný požerek *I. typographus* s prvními larvami L3 v okamžiku studia (Pavčina Daňhelková)

5. Výsledky

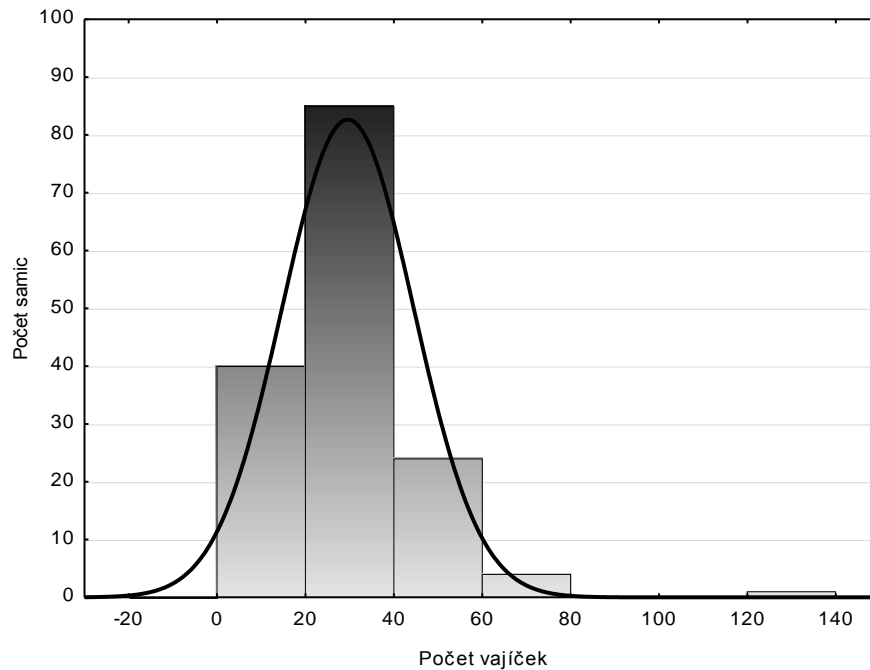
Na lokalitě u Pece pod Sněžkou bylo celkem nasbíráno 272 *I. typographus*. Po vypreparování střev (pouze u samic) a jejich následném prostudování bylo zjištěno, že 4,7% jedinců obsahovalo střevní hlístovky a 43% nemocných jedinců obsahovalo juvenilní hlístovky v tělní dutině. U 29,9% *I. typographus* byl zjištěn *C. diplogaster*, *G. typographi* byla identifikována u 8% jedinců, naopak *Ch. typographi* nebyla v Peci pod Sněžkou nalezena ani u jednoho studovaného jedince. *Tomicobia seitneri* byla objevena u méně než procenta studovaných *I. typographus*, oproti *ItEPV*, která se vyskytla u necelých dvou procent. *M. schwenkei* nebyla nalezena ani u jednoho procenta vzorků.

Tab. 4 Procentuální počet zastoupení různých druhů patogenu na třech zkoumaných lokalitách

Patogen/parazit	Boletice	Pec pod Sněžkou	Prášily
hlístovky střevní	7,8	4,7	1,2
hlístovky tělní	15,2	43,0	22,5
<i>Contortylenchus diplogaster</i>	0,8	29,9	1,2
<i>Gregarina typographi</i>	0,4	8,0	0
<i>Chytridiopsis typographi</i>	0,4	0	0,4
<i>Tomicobia seitneri</i>	2,6	0,7	7,5
<i>ItEPV</i>	0,4	1,4	5,4
<i>Mattesia schwenkei</i>	0	0	5,4

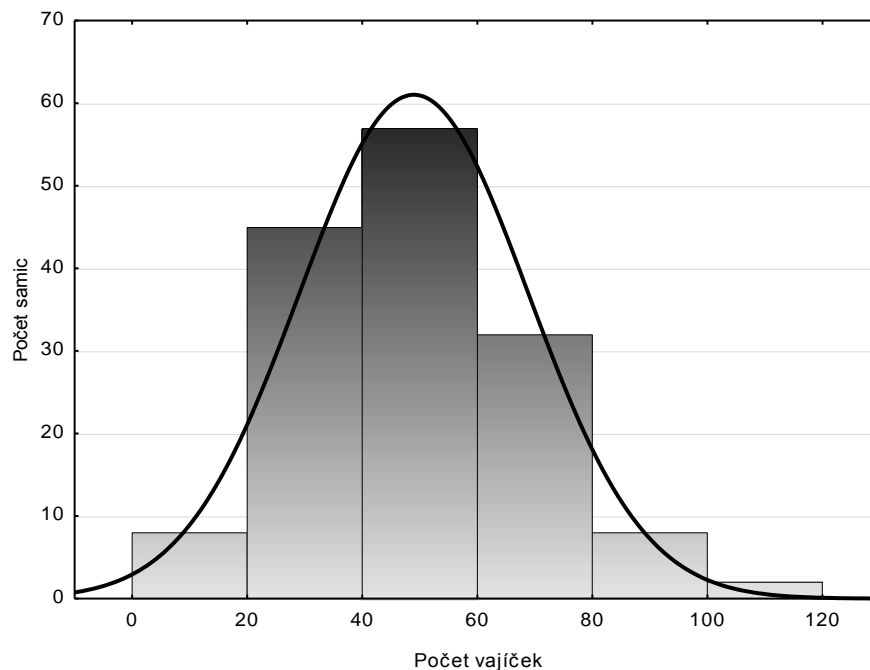
Na lokalitě u Prášil bylo odebráno 239 jedinců *I. typographus*. Z nich více než procento obsahovalo střevní hlístovky, oproti téměř 23% jedinců s juvenilními hlístovkami v tělní dutině. Výrazně méně bylo nalezeno brouků s *C. diplogaster*. A to jen něco málo přes jedno procento. A *G. typographi* nebyla identifikována žádná, oproti *Ch. typographi* která byla nalezena u necelého jednoho procenta studovaných brouků. *T. seitneri* přesahovala přes sedm procent brouků a *ItEPV* 5,4%, stejně jako *M. schwenkei*.

Na lokalitě u Boletic se zjistilo necelých 8% brouků se střevními hlístovky, 15,2% obsahovalo juvenilní hlístovky v tělní dutině. *C. diplogaster* se vyskytovala pouze u necelého jednoho procenta stejně jako *G. typographi* a *Ch. typographi*. *T. seitneri* byla objevena u 2,6%. *ItEPV* u 0,4% studovaných jedinců a *M. schwenkei* u žádného.



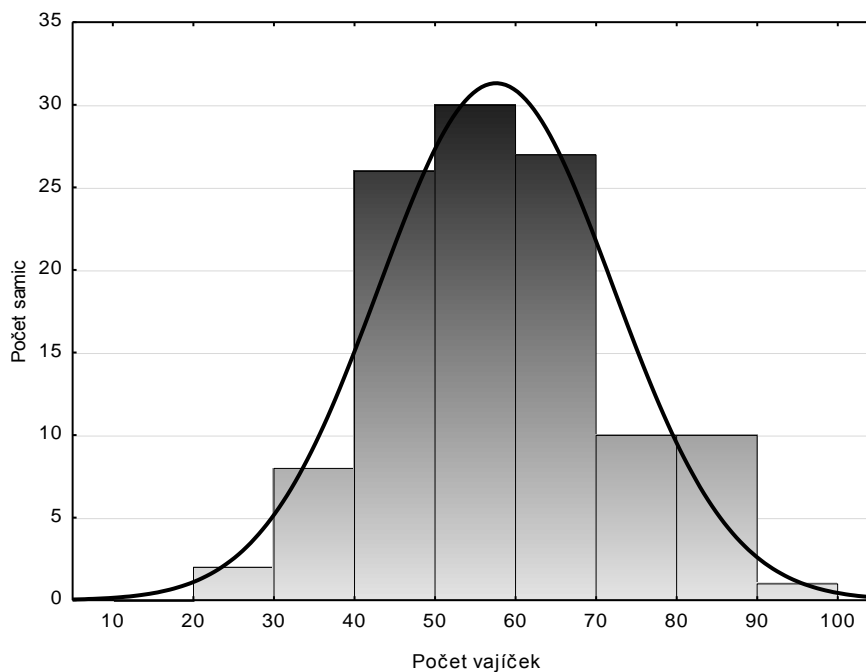
Obr. 10 Počty vajíček nakladených jednou samicí na lokalitě Prášíly (K-S $d=0,09$, $p<0,15$; Lilliefors $p<0,01$; Shapiro-Wilk $W=0,88$; $p=0,00$)

Na obr. 10 můžeme vidět počty vajíček nakladených jednou samicí na studované lokalitě v okolí Prášil. Z grafu je patrné, že počet vajíček nakladený jednou samicí se pohybuje nejčastěji mezi 20-40.



Obr. 11 Počty vajíček nakladených jednou samicí na lokalitě Boletice (K-S $d=0,066$, $p>0,20$; Lilliefors $p<0,01$; Shapiro-Wilk $W=0,97$, $p=0,008$)

Na obr. 11 vidíme průměrný počet nakladených vajíček na jednu samici v rozmezí 40-60. Tendence počtu vajec je tedy vyšší než na lokalitě Prášily (obr. 10).



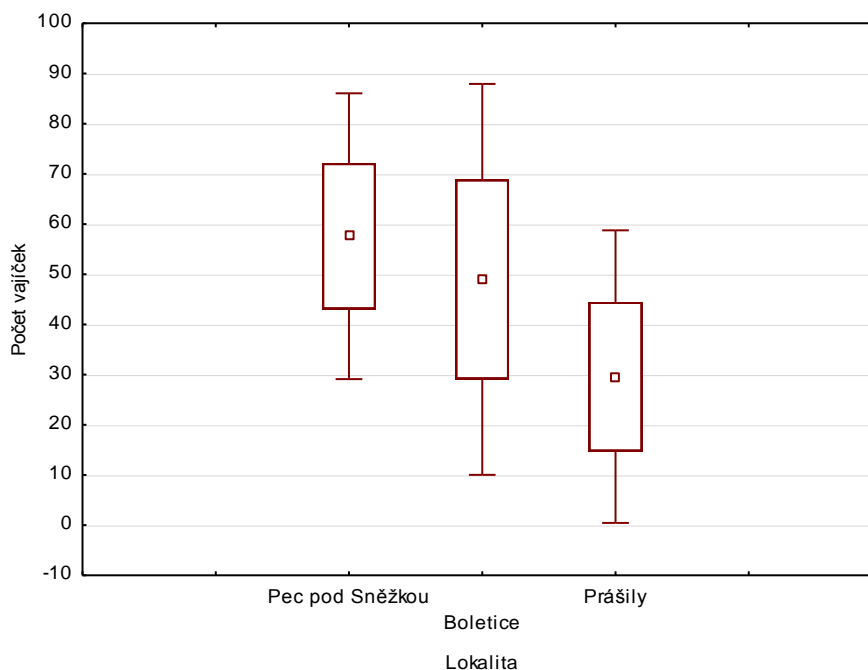
Obr. 12 Počty vajíček nakladených jednou samicí na lokalitě Pec pod Sněžkou (K-S $d=,09738$, $p> 0,20$; Lilliefors $p<0,01$; Shapiro-Wilk $W=0,97$, $p=0,08$)

V Peci pod Sněžkou se počet vajíček nakladený jednou samicí nejčteněji pohybuje mezi 50 až 70 vajíčky na jednu samici (obr. 12). Oproti lokalitám Prášily (obr. 10) a Boletice (obr. 11) je zde počet nejvyšší.

Tab. 5 Základní charakteristiky počtu vajíček na jednotlivých lokalitách

Lokalita	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.
Pec pod Sněžkou	114	57,5	22,0	93,0	14,5
Boletice	152	48,9	12,0	109,0	19,8
Prášily	154	29,5	4,0	121,0	14,8

Na lokalitě Pec pod Sněžkou byl minimální počet nakladených vajíček na jednu samici 22,0 a maximální počet 93,0. Z toho byl zjištěn průměr nakladených vajíček necelých 60 na jednu samici. Na lokalitě Boletice byl zjištěn průměrný počet nakladených vajíček na jednu samici necelých padesát a na lokalitě u Prášil téměř 30 vajíček na samici (tab. 5).



Obr. 13 počty vajíček nakladených jednou samicí na studovaných lokalitách (Čtvereček...Průměr; krabice... \pm SD; svorky... Průměr \pm 1,96*SD)

Na obr. 13 jsou graficky znázorněny počty vajíček nakladených jednou samicí na studovaných lokalitách. Čtvereček znázorňuje průměrný počet. Na obr. 13 je patrné, že nejvyšší průměrný počet vajíček byl zjištěn na lokalitě Pec pod Sněžkou (obr. 5), druhý nejvyšší počet vajíček na jednu samici byl na lokalitě v Boleticích (obr. 7) a nejnižší počet byl v Prášilech (obr. 6). Krabice označují směrodatnou odchylku. Svorky značí průměr \pm 1,96*SD.

Tab. 6 Srovnání počtu vajíček nakladených jednou samicí na jednotlivých lokalitách (LSD test; $\alpha=0,05$; $P\check{C} = 281,34$, $sv = 417,00$)

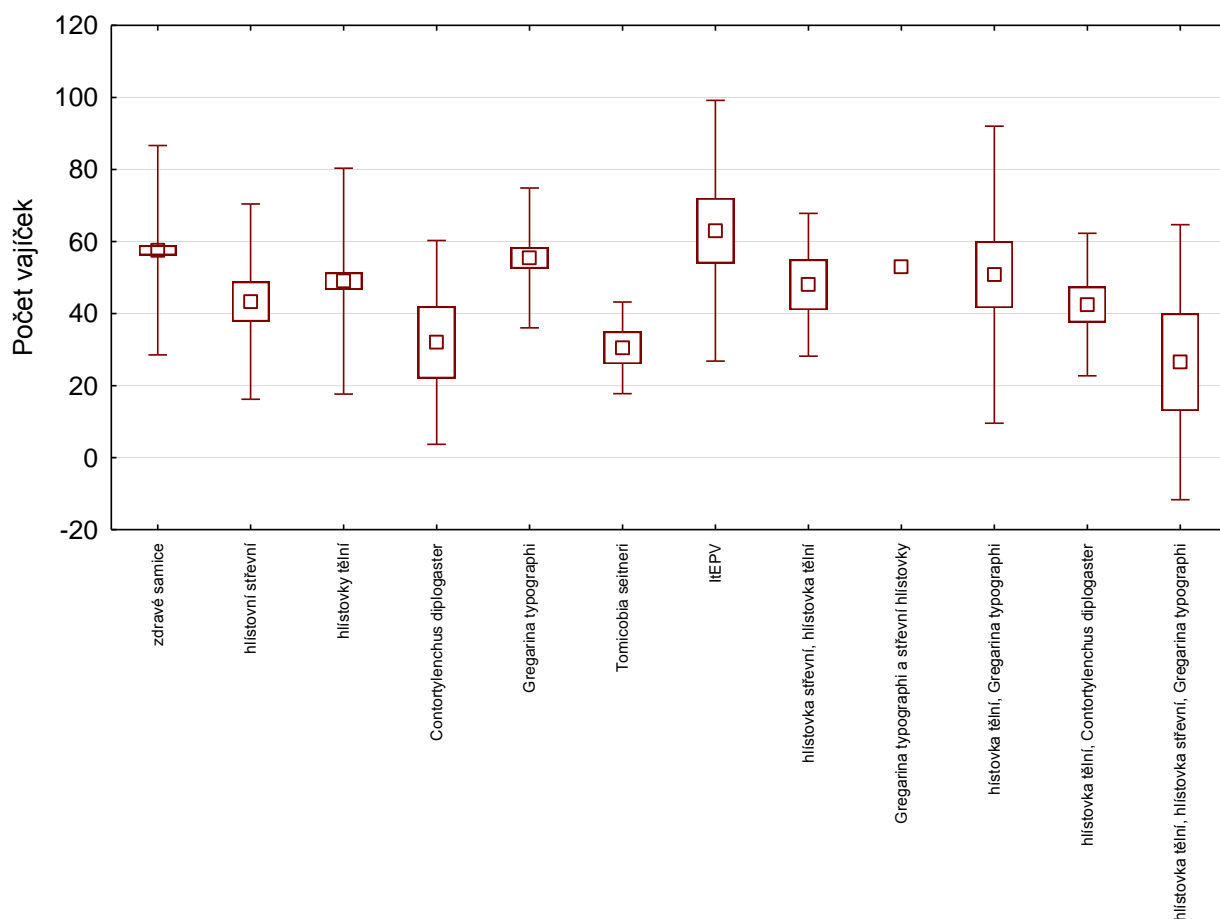
Lokalita	Průměrný počet vajíček	Prášily	Boletice	Pec pod Sněžkou
Prášily	29,5	****		
Boletice	48,9		****	
Pec pod Sněžkou	57,5			****

Protože data počtu nakladených vajíček měla normální rozdělení (obr. 10-13), byly srovnány průměrné počty, které se signifikantně lišily na jednotlivých lokalitách (tab. 6).

Tab. 7 Srovnání počtu vajíček nakladené jednou samicí *Ips typographus* s patogeny či parazity na lokalitě Pec pod Sněžkou (Scheffeho test; $\alpha=0,05$; $P\check{C} = 215,92$, $sv = 185,00$)

Nákaza	Průměrný počet vajíček	1
hlístovky tělní, hlístovky střevní, <i>Gregarina typographi</i>	26,5	****
<i>Tomicobia seitneri</i>	30,5	****
<i>Contortylenclus diplogaster</i>	32,0	****
hlístovky tělní, <i>Contortylenclus diplogaster</i>	42,5	****
hlístovky střevní	43,3	****
hlístovky střevní, hlístovky tělní	48,0	****
hlístovky tělní	49,0	****
hlístovky tělní, <i>Gregarina typographi</i>	50,8	****
<i>Gregarina typographi</i> , <i>Contortylenclus diplogaster</i>	53,0	****
<i>Gregarina typographi</i>	55,4	****
zdravé samice	57,5	****
<i>ItEPV</i>	63,0	****

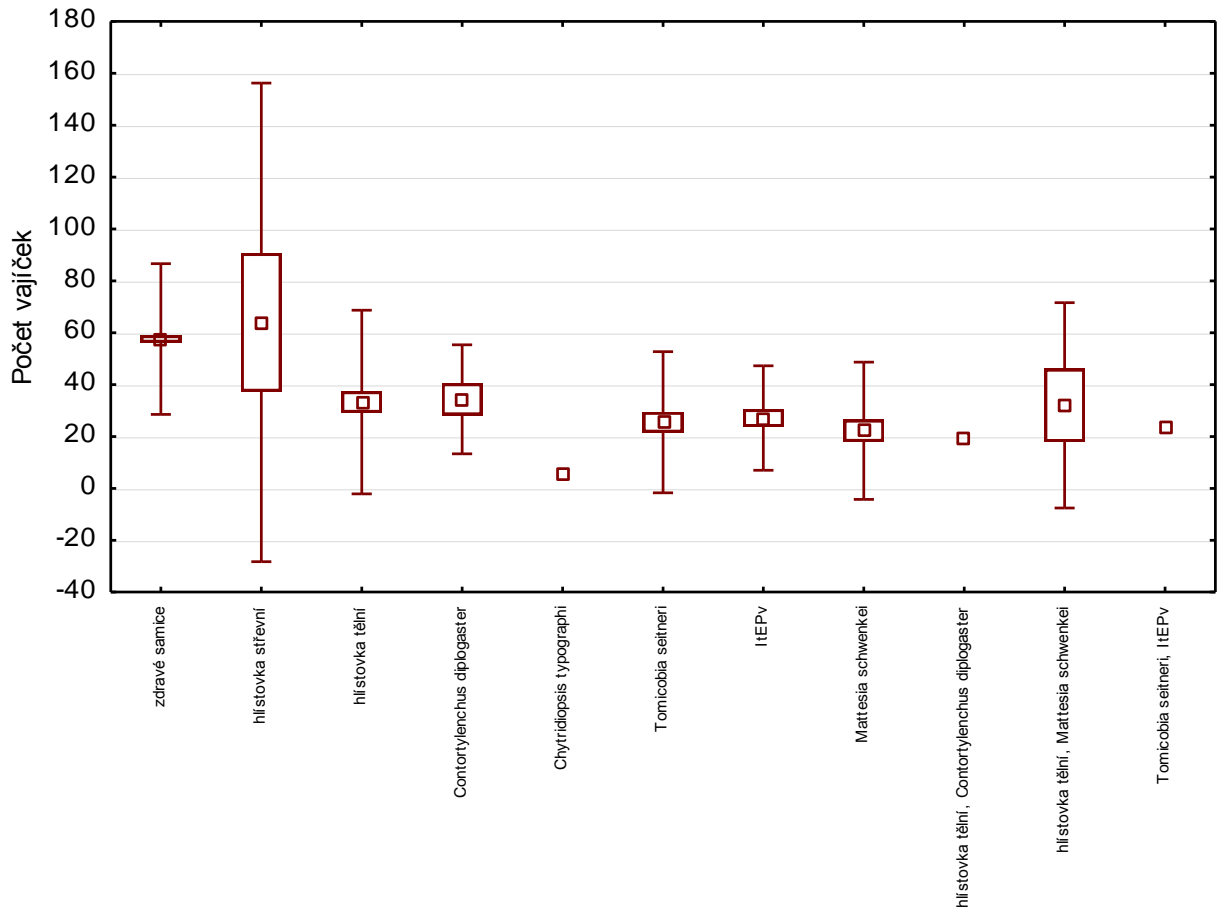
I když průměrné počty vajíček nakladených jednotlivými samicemi podle patogenů, parazitů a samicemi zdravými se lišily na lokalitě Pec pod Sněžkou (obr. 12), rozdíly nebyly signifikantní (tab. 7).



Obr. 14 Počty vajíček nakladených jednou samicí s patogeny a parazity na lokalitě Pec pod Sněžkou (Čtvereček...Průměr; krabice...±SD; svorky... Průměr±1,96*SD)

Na obr. 14 jsou graficky znázorněny počty vajíček nakladených jednou samicí s patogeny a parazity na lokalitě Pec pod Sněžkou. Průměrně kladly zdravé samice téměř 60 vajec na jednu samicu. Hlístovky střevní byly identifikovány na lokalitě v samicích s průměrným zjištěným počtem vajíček kolem 45. Tělní hlístovky byly nalezeny u samic, které nakladly v průměru necelých 50 vajíček. *C. diplogaster* se vyskytl u samic s průměrným počtem nakladených vajec přes 30. U samic, které nakladly v průměru kolem 60 vajíček, byl objeven patogen *G. typographi*. *T. seitneri* se vyskytla u samic, které nakladly v průměru 30 vajec. Samice, které nakladly průměrně přes 60 vajíček, byly napadeny patogenem *ItEPV*. Hlístovky tělní a hlístovky střevní se vyskytly u samic, které nakladly kolem 50 vajíček, naopak přes 50 vajíček bylo zjištěno u samic, které byly napadeny trofozoitem *G. typographi* a *C. diplogaster*. Hlístovky střevní a *G. typographi* byly nalezeny u samic, které nakladly zhruba 50 vajíček. Samice, které nakladly v průměru přes 40 vajíček, byly napadeny tělními

hlístovkami a *C. diplogaster*. Průměrně kolem třiceti vajíček na jednu samici bylo nakladeno brouky, kteří byli napadeni tělními hlístovkami, středními hlístovkami a *G. typographi*. Rozdíly nebyly signifikantní.



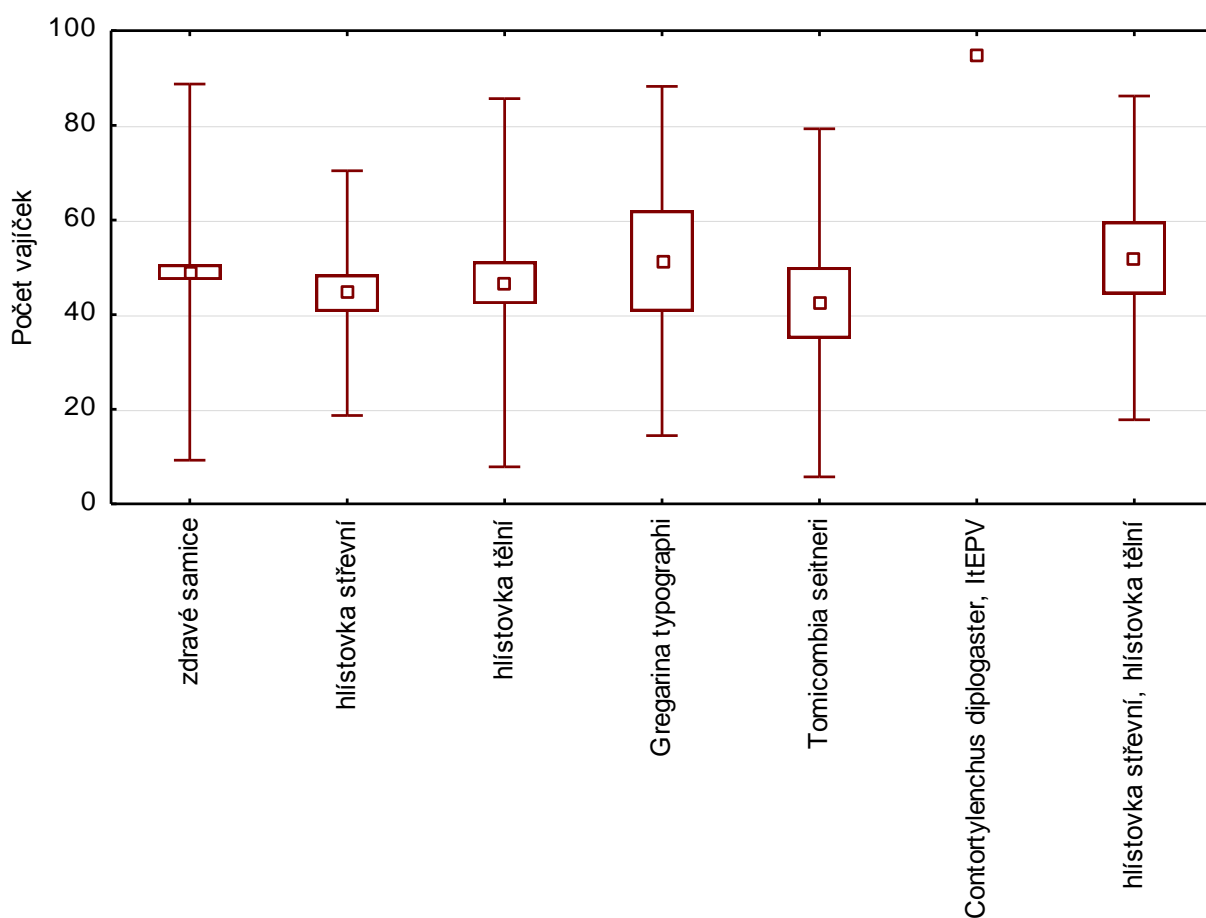
Obr. 15 Počty vajíček nakladených jednou samicí s patogeny a parazity na lokalitě Prášily (Čtvereček...Průměr; krabice...±SD; svorky... Průměr±1,96*SD)

Na obr. 15 vidíme průměrné počty vajíček nakladených samicemi zdravými, nebo napadenými patogeny, či parazity. Počty byly obdobné, jako na lokalitě Pec pod Sněžkou (obr. 14). Rozdíly tak nebyly signifikantní.

Tab. 8 Srovnání počtu vajíček nakladené jednou samicí *Ips typographus* s patogeny či parazity na lokalitě Prášily (Scheffeho test; $\alpha = 0,05$; $P\check{C} = 377,26$; $sv = 189,00$)

Napadení	Průměrný počet vajíček	
<i>Tomicobia seitneri</i>	42,5	****
<i>Chytridiopsis typographi</i>	43,5	****
hlístovky střevní	44,5	****
hlístovky tělní	46,7	****
zdravé samice	48,9	****
hlístovky tělní, hlístovky střevní	52,0	****
<i>Gregarina typographi</i>	67,0	****
<i>Contortylenchus diplogaster</i> , <i>ItEPV</i>	95,0	****

Průměrné počty vajíček nakladených jednotlivými samicemi podle patogenů, parazitů, či samic zdravých byly podobné na lokalitě Pec pod Sněžkou (obr. 12), rozdíly nebyly signifikantní (tab. 8).



Obr. 16 Počty vajíček nakladených jednou samicí na s patogeny a parazity na lokalitě Boletice (Čtvereček...Průměr; krabice... \pm SD; svorky... Průměr \pm 1,96*SD)

Průměrné počty vajíček nakladené na lokalitě Boletice samicemi napadenými patogeny či parazity, nebo zdravými samicemi byly obdobné, jako na lokalitě Pec pod Sněžkou (obr. 14). Rozdíly tak nebyly signifikantní, stejně jako tomu je na lokalitě Prášíly (obr. 15).

Tab. 9 Srovnání počtu vajíček nakladené jednou zdravou samicí a samicemi s různými parazity a patogeny na lokalitě Boletice (Scheffeho test; $\alpha = 0,05$; PČ = 236,45, sv = 164,00)

Napadení	Průměrný počet vajíček	1	2
<i>Chytridiopsis typographi</i>	6,0	****	****
hlístovky tělní, <i>Contortylenchus diplogaster</i>	19,0	****	****
<i>Mattesia schwenkei</i>	22,2	****	
<i>Tomicobia seitneri</i> , <i>ItEPV</i>	24,0	****	****
<i>Tomicobia seitneri</i>	25,5	****	
<i>ItEPV</i>	27,1	****	
hlístovky tělní, <i>Mattesia schwenkei</i>	32,0	****	****
hlístovky tělní	33,2	****	
<i>Contortylenchus diplogaster</i>	34,3	****	****
zdravé samice	57,5		****
hlístovky střevní	64,0	****	****

Průměrné počty vajíček nakladených jednotlivými samicemi podle patogenů a parazitů, či samic zdravých se výrazně lišily na lokalitě Boletice (obr. 13), rozdíly však nebyly signifikantní (tab. 9).

6. Diskuse

Nejvyšší počet vajíček nakladený jednou samicí *I. typographus* byl zjištěn v Peci pod Sněžkou (cca 58), výrazně nižší v Boleticích (cca 50) a nejméně u Prášil (téměř 30). Všechny tyto hodnoty se pohybují v intencích uváděných v literatuře (Pfeffer 1954, Martínek 1956, 1961, Thalenhorst 1958, Zumr 1995, Wermelinger 2004).

Rozdíly v plodnosti na jednotlivých lokalitách vycházejí pravděpodobně z populačních hustot v jednotlivých oblastech. Závislost počtu nakladených vajíček na populačních hustotách uvádí celá řada autorů. S vyššími populačními hustotami klesá průměrný počet nakladených vajíček (Bombosch 1954, Thalenhorst 1958, Mills 1986, Švihra 1973, Berryman 1974, Anderbrant 1990, Matoušek et al. 2012). Počtu vajíček odpovídá množství kůrovcového dříví evidovaného v jednotlivých okresech, kde leží lokality. Nejvyšší je u Prášil, kde jsou nejnižší počty nakladených vajíček jednou samicí a naopak nejnižší těžby v okolí Pece pod Sněžkou vedou k nejvyšší plodnosti.

Vyšší populační hustoty vedou k vyšší vnitrodruhové konkurenci. Vnitrodruhová konkurence je možná příčina nízkého počtu nakladených vajíček na jednu samici (Anderbrant 1990, Skuhřavý 2002). Pokud je populační hustota vysoká, přirozeně se zvyšuje i konkurence mezi larvami. Tím se snižuje jejich šance na plný vývin a přežití. To vysvětluje menší počet vajíček na jednu samici (Anderbrant 1990). Vnitrodruhová konkurence jako důsledek vysokých populačních hustot je tak považována za hlavní faktor ovlivňující mortalitu a plodnost (Mart et al. 1986, Anderbrant 1990, Wermelinger 2004, Faccoli, Bernardinelli 2011). Pokud je vyšší hustota populace, zkracuje se délka vývoje, ale larva musí dosáhnout minimální hmotnosti, připouštějící její následný vývoj (Mart et al. 1986). Z toho můžeme odvodit, že mortalita larev je způsobena vzájemnou konkurencí o prostor, i když je dokázáno, že se larvy v požercích snaží vzájemně vyhýbat (Mart et al. 1986). Z menších larev se vylíhnou menší dospělci s menší plodností.

Zjištěné druhy patogenů (*C. typographi*, *ItEPV*, a *G. typographi*), patří mezi nejrozšířenější patogeny u *I. typographus*, a jejich míra infekce může být často vysoká (Weiser et al. 2000, Weiser 2002, Wegensteiner 2004, Takov et al. 2010). Neogregarina *M. schwenkei*, která byla objevena ve střevech studovaných vzorků *I. typographus*, dlouhodobě napadá tukové tkáně brouků. I když nebyl dokázán negativní vliv neogregariny na plodnost *I. typographus*, bylo zjištěno, že infikovaní jedinci, mají sníženou letovou schopnost a neopouštění mateřský strom. Nemohou tak dále napadat další stromy a zakládat matečné chodby (Holuša J., Lukášová K. – pers com.).

Mezi kůrovci a jejich patogeny existuje řada vzájemných interakcí. Nejvíce časté jsou parazitismus a foresie (Massey 1974, Gaugler, Bilgrami 2004), u které dochází pouze k přenesení patogenu na těle hostitele (Nickle 1973). Naopak parazitické patogeny se vyskytují v dutinách napadeného jedince. Například ve střevech, v hemocelu nebo vzácně v Malpighických trubicích (Massey 1974, Gaugler, Bilgrami 2004, Serrão et al. 2008).

Mezi velmi časté patogeny u kůrovců patří bezesporu hlístice, které omezují jejich populace. (Ruhm 1956, Massey 1974, Thong, Webster 1975, Weiser, Mráček 1988). I když hlístice zpravidla nezabijí svého hostitele, mohou značnou mírou ovlivnit jeho plodnost, letovou činnost, nebo zpozdit rojení (Massey 1956, 1960, Hoffard, Coster 1976, Kaya 1984).

Vztahy mezi háďátky a hmyzem jsou například saprobiontismus (háďátka žijí v rozpadajícím se těle hostitele) a komenzálismus (kdy je vztah pro háďátka výhodný a pro hostitele neutrální). Tyto vztahy jsou podle Kaya a Stocka (1997) nejčastějšími vztahy mezi hlísticemi a hmyzem. Dalšími vztahy jsou semiparazitismus, kdy háďátka parazitují jak na mrtvém tak i na rozpadajícím se těle hostitele, ektoparazitismus, kdy háďátka žijí na povrchu těla hostitele a endoparazitismus, kdy žijí přímo v hostiteli (Weiser 1988). Některé druhy hlístic se vyskytují na končetinách, pod křídly, nebo na těle hostitelského hmyzu. Necháávají se tak přenést na jiná místa a tam se živí plísněmi a bakteriemi, nebo jinými mikroorganismy (Nickle 1973). Hlístice se objevují také na respiračním, reprodukčním nebo vylučovacím ústrojí lýkožroutů. Tyto endoparazitické druhy hlístic mohou trvale ovlivnit vývoj a životní cyklus hostitele (Weiser 1966, Nickle 1973, Weiser, Mráček 1988, Sonin Sharma 1990, Siddiqi 2000, Gaugler 2002, Hunt 2007). Hlístice parazitující na kůrovcích jsou často studovány s dalšími patogeny, které by mohli sloužit jako prostředky biologické ochrany. Informace o těchto hlísticích a patogenech jsou ale velmi omezené a neúplné (Weiser et al., 2006, 2011, Burjanadze, Goginashvili 2009, Kereselidze a kol. 2010). Vědci se však čím dál tím častěji zabývají účinky endoparazitických háďátek na populace *I. typographus*. Tato háďátka získávají živiny z tělních tekutin hostitele a v některých případech spotřebují všechny tuky v těle (Burjanadze, Goginashvili 2009). I když svého hostitele zřídka zabijí, někteří vědci považují hlístice za jedny z faktorů omezujících populace kůrovců (Massey 1974).

Ve studovaných vzorcích napadených parazitem *C. diplogaster*, jsme nenašli žádnou souvislost s parazitem a výši nakladených vajíček, i když Weiser (1966) uvádí, že brouci napadení tímto parazitem kladou o polovinu menší snůšky, avšak žijí stejně dlouho jako brouci zdraví.

7. Závěr

Nejvyšší počet vajíček nakladený jednou samicí *I. typographus* byl zjištěn v Peci pod Sněžkou (cca 58), o zhruba deset vajíček méně v Boleticích (cca 50) a nejméně u Prášil (téměř 30). Počty vajíček se signifikantně liší. Z tohoto počtu můžeme vyvodit závěr, pokud známe nejvíce napadené lokality- Šumavu, okolí Prášil, že na lokalitách, kde je denzita *I. typographus* nejvyšší, mají samice méně prostoru na kladení vajec a dochází ke konkurenci. Samice naklade prokazatelně méně vajec než na lokalitě, kde je denzita nižší a samice *I. typographus* má více prostoru na nakladení vajíček.

Na studovaných lokalitách byly u odebraných jedinců *I. typographus* nalezeny běžně se vyskytující patogeny a paraziti. Na lokalitě Pec pod Sněžkou se vyskytovaly patogeny a paraziti hlístovky tělní, hlístovky střevní, *G. typographi*, *T. seitneri*, *C. diplogaster*. Na lokalitě Prášily byly u samic identifikovány tyto patogeny a paraziti- *T. seitneri*, *CH. typographi*, hlístovky střevní a hlístovky tělní, *G. typographi*, *C. diplogaster* a *ItEPV*. Na námi poslední studované lokalitě Boletice byly objeveny patogeny a paraziti *M. schwenkei*, *T. seitneri*, *ItEPV*, *CH. typographi*, hlístovky tělní a *C. diplogaster*.

Ze studia a testů je patrné, že na žádné lokalitě nemají patogeny ani paraziti prokazatelný vliv na plodnost samic *I. typographus*.

8. Seznam obrázků a grafů

Obrázky

Obr. 1. Gametocysty <i>Gregarina typographi</i> v lumenu střeva <i>Ips typographus</i> (Lukášová, Holuša 2012).....	10
Obr. 2. Silnostěnné cysty <i>Chytridiopsis typographi</i> nalezené v mesenteronu <i>Ips typographus</i> (Lukášová, Holuša 2012).....	10
Obr. 3. Objem smrkového kůrovcového dříví v okrese Český Krumlov, Klatovy a Trutnov v letech 2003-2012.....	15
Obr. 4. Označení lokalit, kde byly provedeny odběry (1- Pec pod Sněžkou 2- Prášíly 3- Boletice).....	16
Obr. 5. Umístění lokality u Pece pod Sněžkou.....	17
Obr. 6. Umístění lokality u Prášil.....	17
Obr. 7. Umístění lokality Boletice.....	17
Obr. 8. Rozvinutý požerek <i>I. typographus</i> s prvními larvami L3 v okamžiku studia.....	18
Obr. 9. Jednoramenný požerek <i>I. typographus</i> s prvními larvami L3 v okamžiku studia....	18
Obr. 10. Počty vajíček nakladených jednou samicí na lokalitě Prášíly (K-S $d=0,09$, $p<0,15$; Lilliefors $p<0,01$; Shapiro-Wilk $W=0,88$; $p=0,00$).....	20
Obr. 11. Počty vajíček nakladených jednou samicí na lokalitě Boletice (K-S $d=0,066$, $p>0,20$; Lilliefors $p<0,01$; Shapiro-Wilk $W=0,97$, $p=0,008$).....	20
Obr. 12. Počty vajíček nakladených jednou samicí na lokalitě Pec pod Sněžkou (K-S $d=,09738$, $p>0,20$; Lilliefors $p<0,01$; Shapiro-Wilk $W=0,97$, $p=0,08$).....	21
Obr. 13. počty vajíček nakladených jednou samicí na studovaných lokalitách (Čtvereček...Průměr; krabice... \pm SD; svorky... Průměr \pm 1,96*SD).....	22
Obr. 14. Počty vajíček nakladených jednou samicí s patogeny a parazity na lokalitě Pec pod Sněžkou (Čtvereček...Průměr; krabice... \pm SD; svorky... Průměr \pm 1,96*SD).....	24
Obr. 15. Počty vajíček nakladených jednou samicí s patogeny a parazity na lokalitě Prášíly (Čtvereček...Průměr; krabice... \pm SD; svorky... Průměr \pm 1,96*SD).....	25
Obr. 16. Počty vajíček nakladených jednou samicí na s patogeny a parazity na lokalitě Boletice (Čtvereček...Průměr; krabice... \pm SD; svorky... Průměr \pm 1,96*SD).....	26

Grafy

Tab. 1. Přehled patogenů lýkožroutů rodu <i>Ips</i> (Lukášová, Holuša 2012).....	9
Tab. 2. Výskyt hlístovek pod krovkami, na křídlech, hrudníku a mezi tělesnými segmenty lýkožroutů rodu <i>Ips</i> ve střední Evropě (Grucmanová, Holuša 2013).....	13
Tab. 3. Výskyt patogenů v požercích lýkožroutů rodu <i>Ips</i> ve střední Evropě (Grucmanová, Holuša 2013).....	13
Tab. 4. Procentuální počet zastoupení různých druhů patogenu na třech zkoumaných.....	19
Tab. 5. Základní charakteristiky počtu vajíček na jednotlivých lokalitách.....	21
Tab. 6. Srovnání počtu vajíček nakladených jednou samicí na jednotlivých lokalitách (LSD test; $\alpha = 0,05$; $P\check{C} = 281,34$, $sv = 417,00$).....	23
Tab. 7. Srovnání počtu vajíček nakladené jednou samicí <i>Ips typographus</i> s patogeny či parazity na lokalitě Pec pod Sněžkou (Scheffeho test; $\alpha = 0,05$; $P\check{C} = 215,92$, $sv = 185,00$).....	23
Tab. 8. Srovnání počtu vajíček nakladené jednou samicí <i>Ips typographus</i> s patogeny či parazity na lokalitě Prášily (Scheffeho test; $\alpha = 0,05$; $P\check{C} = 377,26$; $sv = 189,00$).....	26
Tab. 9. Srovnání počtu vajíček nakladené jednou zdravou samicí a samicemi s různými parazity a patogeny na lokalitě Boletice (Scheffeho test; $\alpha = 0,05$; $P\check{C} = 236,45$, $sv = 164,00$).....	27

9. Literatura

- Anderbrant O. 1990. Gallery construction and oviposition of the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) at different breeding densities. *Ecological Entomology*, 15: 1-8.
- Anderbrant O., Schlyter F., Birgersson G. 1985. Intraspecific competition affecting parents and offspring in the bark beetle *Ips typographus*. *Oikos*, 45: 89-98.
- Andrassy I. 1983. A taxonomic review of the suborder Rhabditina (Nematoda: Secernentia). Paris (ORSTOM). 241 p.
- Balazy S. 1966. Living organisms regulate population density of bark beetles in spruce forests, with special reference to entomopathogenic fungi. – *Poznanskie Towarzystwo Przyjaciol Nauk Wydzial Nauk Rolniczych i Lesnych*, 21 (1): 3-48.
- Balazy S. 1968. Analysis of bark beetle mortality in spruce forests in Poland. – *Ekologia Polska Seria A*, 16 (33): 657–687.
- Berryman A. A. 1974. Dynamics of bark beetle populations: towards a general productivity model. *Environmental Entomology*, 4: 579-585.
- Bombosch S. 1954. Zur Epidemiologie des Buchdruckers (*Ips typographus* L.). In: Wellenstein G. (ed.): *Die Grosse Borkenkalamitat in Sudwestdeutschland 1944-1951*. Ringingen, Forstschutzstelle Sudwest: 239-283.
- Burjanadze M., Goginashvili N. 2009. Occurrence of pathogens and nematodes in the spruce bark beetles, *Ips typographus* (Col., Scolytidae) in Borjomi gorge. *Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences*, 3: 145-149.
- Cali A., Takvorian P. 1999. Developmental morphology and life cycles of the microsporidia. In: Wittner M., Weiss L. (eds.): *The microsporidia and microsporidiosis*. Washington DC, American Society of Microbiology: 85-128.
- Ceryngier P., Hodek I. 1996. Enemies of Coccinellidae. In: Hodek I., Honěk A. (eds.): *Ecology of Coccinellidae*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers: 319-350.
- Corradi N., Keeling P. J. 2009. Microsporidia: a journey through radical taxonomical revisions. *Fungal Biology Reviews*, 23: 1-8.
- Croll N. A. 1970. *The behavior of nematodes*. New York, St. Martin's Press: 117 s.
- DeJong M. C. M., Grijpma P. 1986. Competition between larvae of *Ips typographus*. *Entomologica Experimentalis et Applicata*, 41: 121-133.
- Draganova S., Takov D., Doychev D. 2007. Bioassays with isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Paecilomyces farinosus* (Holm.) Brown, Smith against *Ips sexdentatus* Boerner and *Ips acuminatus* Gyll. (Coleoptera: Scolytidae). *Plant Science*, 44: 24-28.

- Faccoli M., Bernardinelli I. 2011. Breeding performance of the second generation in some bivoltine populations of *Ips typographus* (Coleoptera Curculionidae) in the south-eastern Alps. *Journal of Pest Science*, 84:15–23.
- Forsse E. 1987. Flight duration in *Ips typographus* L.: insensitivity to nematode infection. *Journal of Applied Entomology*, 104: 326-328.
- 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.
- Gaugler R. 2002. *Entomopathogenic Nematology*. Wallingford, CABI Publishing: 372 s.
- Gaugler R., Kaya H. K. 1990. *Entomopathogenic nematodes in biological control*. Boca Raton, CRC Press: 365 s.
- Grégoire J. C., Evans H. F. 2004. Damage and control of BAWBILT organismus—an overview. In: Lieutier F., Day K. R., Battisti A., Grégoire J. C., Evans H. F. (eds): *Bark and wood boring insects in living trees in Europe, a synthesis*. Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, the Netherlands, 19–37.
- 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.
- Händel U., Wegensteiner R., Weiser J., Žižka Z. 2003. Occurrence of pathogens in associated living bark beetles (Col., Scolytidae) from different spruce stands in Austria. *Journal of Pest Science*, 76: 22-32.
- Hoffard W. H., J. E. Coster 1976. Endoparasitic Nematodes of *Ips* Bark Beetles in Eastern Texas. - *Environmental Entomology*, 5 (1): 128-132(5).
- Holuša J., Grucmanová Š. 2013. Nematodes Associated with Bark Beetles, with Focus on the Genus *Ips* (Coleoptera: Scolytinae) in Central Europe. *Acta Zoologica Bulgarica*, 65 (4), 2013: 547-556.
- Holuša J., Weiser J. 2005. Biologické postupy boje s lesními škůdci. *Zpravodaj ochrany lesa*, 11: 18-23.
- 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.
- Kaya H. K. 1984. Nematode parasites of bark beetles. In: Nickle W. R. (eds.): *Plant and insect nematodes*. New York, Marcel Dekker, Inc.: 727-754.

- Kaya H. K., Gaugler R. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology*, 38: 181-206.
- Kereselidze M., Wegensteiner R., Goginashvili N., Tvaradze M., Pilarska D. 2010. Further studies on the occurrence of natural enemies of *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Georgia. *Acta Zoologica Bulgarica*, 62: 131-139.
- 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.
- Kreutz J., Vaupel O., Zimmermann G. 2004. Efficiency of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the spruce bark beetle, *Ips typographus* L., in the laboratory under various conditions. *Journal of Applied Entomology*, 128: 384-389.
- Landa Z., Křenová Z., Vojtěch O. 2007. Využití houby *Beauveria bassiana* v ochraně proti lýkožroutu smrkovému. *Lesnická práce*, 86: 646-647.
- Lange C.E., Wittenstein E. 2002. The life cycle of *Gregarina ronderosi* n. sp. (Apicomplexa: Gregarinidae) in the Argentine grasshopper *Dichroplus elongatus* (Orthoptera: Acrididae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 79: 27-36.
- 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.
- Lipa J. J. 1967. Studies on gregarines (Gregarinomorpha) of arthropods in Poland. *Acta Protozoologica*, 5: 97-179.
- Locklin J. L., Vodopich D. S. 2010. Patterns of gregarine parasitism in dragonflies: host, habitat, and seasonality. *Parasitology Research*, 107: 75-87.
- Lukášová K., Holuša J. 2011. *Gregarina typographi* (Eugregarinorida: Gregarinidae) in the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae): changes in infection level in the breeding system. *Acta Protozoologica*, 50: 311-318.
- Lukášová K., Holuša J. 2012. Patogeny lýkožroutů rodu *Ips* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Zprávy lesnického výzkumu*, 57 (3): 230-240.
- Mart C. M., De Jong & Grijpma P., 1986: Competition between larvae of *Ips typographus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 41: 121-133.
- Martínek V. 1956. Příspěvek k osvětlení problému sesterského pokolení u kůrovce *Ips typographus* L. *Lesnictví*, 29: 615-643.
- Martínek V. 1961. Problém natality a gradace kůrovce *Ips typographus* L. ve střední Evropě. *Rozpravy ČSAV*, 71: 77 s.

- Massey C. L. 1956. Nematode parasites and associates of the Engelmann spruce beetle (*Dendroctonus engelmanni* Hopk.). - Proceedings of The Helmitological Society of Washington, 23 (1): 14-24.
- Massey C. L. 1960. Nematode parasites and associates of the California five-spined engraver, *Ips confusus* (Lec.). - Proceedings of The Helmitological Society of Washington, 27 (1): 42-44.
- Massey 1974: Biology and taxonomy of nematode parasites and associates of bark beetles in the United States. United States Department of Agriculture. Washington DC: US Government Printing office.
- Matoušek P., Modlinger R., Holuša J., Turčáni M. 2012. Počet vajíček nakladených lýkožroutem smrkovým *Ips typographus* (L.) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) na stromových lapácích: vliv vybraných faktorů. Zprávy lesnického výzkumu, 57, (2): 126-132.
- Nickle W. r. 1973. Identification of Insect Parasitic Nematodes- A review. – Experimental Parasitology, 33 (2): 303-317. Oldham J. n. 1930. On the infestation of elm bark beetle (Scolytidae) by a nematode, *Parasitylenchus scouti* n. sp. – Journal of Helmitology, 8 (4): 239-248.
- Michalková V., Krascenitsová E., Kozánek M. 2011. On the pathogens of the spruce bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytinae) in the Western Carpathians. Biologia, 67: 217-221.
- Mills N. J. 1986. A preliminary analysis of the dynamics of within tree population of *Ips typographus* (L.) (Coleoptera:Scolytidae). Journal of Applied Entomology, 102: 402-416.
- 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.
- Pfeffer A. 1954. Kůrovec lýkožrout smrkový a boj proti němu. Praha, SZN: 46 s.
- Pfeffer A., Knížek M. 1995. Expanze lýkožrouta *Ips duplicatus* (Sahlb.) ze severské tajgy. Zpravodaj ochrany lesa, 2: 8-11.
- Poinar G. O., Deschamps N. 1981. Susceptibility of *Scolytus multistriatus* to neoplectanid and heterorhabditid nematodes. Environmental Entomology, 10: 85-87.
- Purrini K. 1978. Protozoen als Krankheitserreger bei einigen Borkenkäferarten (Col., Scolytidae) im Königsee-Gebiet, Oberbayern. Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz, 51: 171-175.

- 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.
- Ramos-Rodríguez O., Campbell J. F., Ramaswamy S. B. 2006. Pathogenicity of three species of entomopathogenic nematodes to some major stored-product insect pests. *Journal of Stored Products Research*, 42: 241-252.
- Redhead S. A., Kirk P. M., Keeling P. J., Weiss L. M. 2009. Proposals to exclude the phylum Microsporidia from the Code. *Mycotaxon*, 108: 505-507.
- Ruhm W. 1956. The Nematodes of Bark Beetles. – *Parasitologische Schriftenreihe*, 6: 14-37.
- Ruhm W. 1960. A contribution to the nomenclature and systematics of some nematode species associate of the Scolytids.– *Zoologischer Anzeiger Leipzig*, 164 (5-6): 201-213.
- Serrão J. E.1, Rocha- Silva C., Zanuncio J. C., Viana-Bailez A. M. M. 2008: Occurrence of Nematodes Inside the Malpighian Tubules of *Hypocryphalus mangiferae* (Stebbing) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *The Coleopterists Bulletin* 62(2):344-348.
- Schawang J. E., Janovy J. Jr. 2001. The response of *Gregarina niphandrodes* (Apicomplexa: Eugregarinida: Septatina) to host starvation in *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) adults. *Journal of Parasitology*, 87: 600-605.
- Sienkiewicz P., Lipa J. 2008. *Gregarina vizri* Lipa, 1968 (Apicomplexa: Eugregarinida) recorded in Poland in an expansive plant pest the cereal ground beetle *Zabrus tenebrioides* (Goeze) (Coleoptera: Carabidae). *Journal of Plant Protection Research*, 48: 189-193.
- Simmons L. W. 1990. Post-copulatory guarding female choice and the levels of gregarine infections in the field cricket *Gryllus binzaculatus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 26: 403-407.
- Skuhřavý V. 2002: *Lýkožřout smrkový Ips typographus* (L.) a jeho kalamity (Der Buchdrucker *Ips typographus* L. und seine Kalamitäten. Spruce bark beetle *Ips typographus* and its outbreaks). 1.vyd. Praha, Agrospoj, 196 pp.
- Smith A.J., Cook T.J. 2008. Host specificity of five species of Eugregarinida among six species of cockroaches (Insecta: Blattodea). *Comparative Parasitology*, 75: 288-291.
- Smith A.J., Cook T.J., Lutterschmidt W.I. 2007. Effects of temperature on the development of *Gregarina cubensis* (Apicomplexa: Eugregarinida) parasitizing *Blaberus discoidalis* (Blattaria: Blaberidae). *Journal of Parasitology*, 93: 583-588.
- Švihra P. 1973. K populačnej dynamike lýkožřúta smrekového *Ips typographus* L. v oblasti Horehronia. *Vedecké práce VÚLH vo Zvolene*: 229-258.

- Takov D., Doychev D., Linde A., Draganova S., Pilarska D. 2011. Pathogens of bark beetles (Coleoptera: Curculionidae) in Bulgarian forests. *Phytoparasitica*, 39: 343-352.
- Takov D., Doychev D., Wegensteiner R., Pilarska D. 2007. Study on the pathogens of bark beetles (Coleoptera, Scolytidae) from different coniferous stands in Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica*, 59: 87-96.
- 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.
- Tanada Y., Kaya H. K. 1993. Protozoan infection: Apicomplexa, Microspora. In: *Insect Pathology*. San Diego, Academic Press: 414-458.
- Tenkacova I., J. Mituch 1986. A contribution to the knowledge of nematofauna of Scolytidae bark beetles in norway spruce in forest park in Košice. – *Lesnický časopis*, 32 (5): 381-387.
- Tenkacova I., J. Mituch 1987. Nematodes new for the fauna of the Czechoslovak Socialist republic with the affinity to scolytids (Coleoptera: Scolytidae). – *Helmintologia*, 24:281–291.
- Tenkacova I., J. Mituch 1991. Nematodes of bark beetles (Coleoptera:Scolytidae) from Tatra National Park. – *Zborník prác o Tatranskom národnom parku*, 31: 173–182.
- Thalenhorst W. 1958. Grundzüge der Populationsdynamik des großen Fichtenborkenkäfers *Ips typographus* L. Frankfurt, Sauerländer: 126 s.
- 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.
- Wainhouse D. 2005. *Ecological methods in forest pest management*. Oxford University Press: 228 s.
- Wegensteiner R. 1994. *Chytridiopsis typographi* (Protozoa, Microsporidia) and other pathogens in *Ips typographus* (Coleoptera, Scolytidae). *IOBC/WPRS Bulletin*, 17: 39-42.
- 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., Dedryver C.-A., Pierre J.-S. 2010. The comparative prevalence and demographic impact of two pathogens in swarming *Ips typographus* adults: a quantitative analysis of long term trapping data. *Agricultural and Forest Entomology*, 12: 49-57.
- Wegensteiner R., Weiser J. 1995. A new Entomopoxvirus in the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 65: 203-205.

- Wegensteiner R., Weiser J. 1996. Untersuchungen zum Auftreten von Pathogenen bei *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) aus einem Naturschutzgebiet in Schwarzwald (Baden-Württemberg). *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz*, 69, 162-167.
- 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.
- 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. *Journal of Pest Science*, 77: 221-228.
- Weiser J. 1954. Contributions to the knowledge of *Ips typographus* parasites, I. *Věstník Československé Zoologické společnosti*, 19: 217-224.
- Weiser J. 1966. *Nemoci hmyzu*. Praha, Academia: 556 s.
- Weiser J., Z. Mracek 1988. *Parasitic nematodes of the insects*. Prague, Czech Republic (Academia). 258 p.
- Weiser J. 2002. Patogenní organismy. In: Skuhřavý V. (ed.): *Lýkožrout smrkový (Ips typographus L.) a jeho kalamity*. Praha, Agrospoj: 97100.
- Weiser J., Pultar O., Žižka Z. 2000. Biological protection of forest against bark beetle outbreaks with poxvirus and other pathogens. *IUAPPA, Section B*, 12: 168-172.
- Weiser J., Wegensteiner R. 1994. A new Entomopoxvirus in the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera, Scolytidae) in Czechoslovakia. *Zeitschrift für angewandte Zoologie*, 80: 425-434.
- Weiser J., Wegensteiner R., Žižka Z. 1995. *Canningia spinidentis* gen. et sp. n. (Protista: Microspora), a new pathogen of the fir bark beetle *Pityokteines spinidens*. *Folia Parasitologica*, 42: 1-10.
- Weiser J., Wegensteiner R., Žižka Z. 1998. *Unikaryon montanum* sp.n., (Protista, Microspora), a new pathogen of the spruce bark beetle, *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae). *Folia Parasitologica*, 45: 191-195.
- 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.

- 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.
- Wittner M., Weiss L. M. 1999. *The microsporidia and microsporidiosis*. Washington DC, ASM Press: 553 s.
- Yaman M. 2002. *Gregarina phyllotretae* Hoshide 1953, a protozoan parasite of the flea beetles, *Phyllotreta undulata* and *P. atra* (Coleoptera: Chrysomelidae) in Turkey. *Applied Entomology and Zoology*, 37: 649-653.
- 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.
- Yaman M., Baki H. 2011. First record of Entomopoxvirus of *Ips typographus* (Linnaeus) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) for Turkey. *Acta Zoologica Bulgarica*, 63: 199-202.
- Zuk M. 1987. The effects of gregarine parasites, body size, and time of day on spermatophore production and sexual selection in field crickets. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 21: 65-72.
- Zumr V. 1995. *Lýkožrout smrkový – biologie prevence a metody boje*. Písek, Matice lesnická: 131 s.