

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra ochrany lesa a entomologie



Přirození nepřítelé bekyně velkohlavé v gradačních oblastech České republiky

Diplomová práce

Autor práce: Bc. David Vacek

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

2018

Czech University of Life Sciences Prague

Faculty of Forestry and Wood Sciences

Department of Forest Protection and Entomology



Natural enemies of the gypsy moth in outbreak areas in the Czech Republic

Thesis

Author: Bc. David Vacek

Supervisor: Mgr. Karolina Lukášová, Ph.D.

2018

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. David Vacek

Lesní inženýrství

Název práce

Přirození nepřátelé bekyně velkohlavé v gradačních oblastech České republiky

Název anglicky

Natural enemies of the gypsy moth in outbreak areas in the Czech Republic

Cíle práce

- detekovat druhy vaječných parazitoidů *Lymantria dispar*
- zjistit potencionální vliv introdukovaných druhů antagonistů se zaměřením na *Entomophaga maimaiga* na populace *Lymantria dispar* v období latence

Metodika

- bude vybráno 7-10 lokalit s historickým výskytem gradací bekyně velkohlavé, kde bude zhodnoceno několik porostů metodou transektů (vždy 100 stromů ve 2 liniích) na přítomnost vaječných snůšek a zjištěna hustota populace (Turčekova metoda)
 - všechny nalezené snůšky budou odebrány koncem zimy a bude spočítán počet vykladených vajíček
 - vaječné snůšky se uloží do chovných nádob a budou ponechány při pokojové teplotě
 - na základě konfrontace s počty nevylihnutých vajíček se stanoví výsledná parazitace
 - parazitoidi budou odebíráni každý druhý den a ihned uloženi do 70% lihu a determinováni
 - pro monitoring *Entomophaga maimaiga* bude pod každou nalezenou snůškou v terénu odebrán vzorek půdy 15x15cm s případným obsahem spor patogenu
 - všechny vzorky půdy budou uloženy při teplotě 4°C až do doby líhnutí housenek, kdy se půda vloží do připravených nádob do ledničky na 30 dnů při teplotě 15°C
 - mezitím budou líhnoucí se housenky dochovávány v insektáriích na přirozené potravě (dubové listy) až do dosažení 4. larválního instaru
 - tyto housenky se potom ponechají 3 dny při 15°C bez potravy
 - po třech dnech se housenky odeberou a individuálně se umístí na vzorky opadu
 - housenky budou pravidelně odebírány a mrtvé jedince uložíme při teplotě -5°C až do okamžiku pitvy
 - poté budeme analyzovat vnitřní orgány pod světelným mikroskopem na přítomnost *E. maimaiga* a dalších patogenů (viry, mikrosporidie atd.)
-

Doporučený rozsah práce

40 stran včetně Příloh

Klíčová slova

gradace, bekyně velkohlavá, *Entomophaga maimaiga*, *Anastatus japonicus*, Turčekova metoda

Doporučené zdroje informací

- Assadi M., Daryaei M. G., Sendi J. J., Biravand H. B., 2012: Effect of feeding on four different forest trees on the biology and feeding indices of *Lymantria dispar* (L.), *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 12: 30-36.
- Hajizadeh G., Kavosi M. R., Moshashaei E., 2011: Natural enemies of the gypsy moth *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae). *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science*, 8: 301-306.
- Pilarska D., McManus M., Hajek A., Herard F., Vega F., Pilarski P., Markova G., 2000: Introduction of the entomopathogenic fungus *Entomophaga maimaiga* Hum., Shim. & Söp. (Zygomycetes: Entomophthorales) to a *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae) population in Bulgaria. *Journal of Pest Science*, 73: 125-126.
- Zúbrik M., Barta M., Pilarska D., Goertz D., Úradník M., Galko J., Vakula J., Gubka A., Rell S., Kunca A., 2014: First record of *Entomophaga maimaiga* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) in Slovakia. *Biocontrol Science and Technology*, 24: 710-714.
- Zúbrik M., Novotný J., 1997: Egg parasitization of *Lymantria dispar* (Lepidoptera, Lymantriidae) in Slovakia. *Biologia*, 52: 343-350.
-

Předběžný termín obhajoby

2017/18 LS – FLD

Vedoucí práce

Mgr. Karolína Lukášová, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra ochrany lesa a entomologie

Elektronicky schváleno dne 20. 11. 2017

prof. Ing. Jaroslav Holuša, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 5. 2. 2018

prof. Ing. Marek Turčáni, PhD.

Děkan

V Praze dne 22. 03. 2018

Rád bych chtěl touto cestou poděkovat vedoucí své diplomové práce Mgr. Karolině Lukášové Ph.D. za skvělé optimistické vedení práce, vstřícný a velice trpělivý přístup k celému zpracování.

Dále bych chtěl poděkovat Ing. Haně Vanické za odborné rady a poznatky nejen v rámci samotné práce, ale i celého studia.

Také bych rád poděkoval své rodině a přátelům, kteří mě podporovali i v navazujícím studiu a v dodávání nadhledu během celého vysokoškolského života.

Prohlašuji, že diplomovou práci na téma Přirození nepřátelé bekyně velkohlavé v gradačních oblastech České republiky jsem vypracoval 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 vědom, že zveřejněním diplomové práce souhlasím s jejím zveřejněním dle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách v platném znění, a to bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V dne

Podpis autora.....

ABSTRAKT

Tato diplomová práce byla zaměřena na zjištění populační hustoty *Lymantria dispar* na území, kde v minulých letech proběhla gradace a detekovat vaječné parazitoidy, kteří by měli napomáhat s přirozenou regulací této populace. Studovaná oblast se nacházela na jižní Moravě a to konkrétně okolo obcí Hluboké Mašůvky, Maršovice, Milovice, Vrbice, Dubňany, Valtice a Kobeřice. Monitoring proběhl začátkem března roku 2017, kdy byl shromažďován studijní materiál a probíhalo sčítání napadených stromů v 7 předem vybraných lokalitách.

Pro studii byla využita tzv. Turčekova metoda založena na rozdělení oblastí na transekty. Nalezené snůšky byly pečlivě zaznamenány a uloženy do přepravních nádob pro transport do laboratoře, kde proběhlo řádné sčítání vajíček a následné vložení do Petriho misek k dalšímu zkoumání. V rámci pravidelných kontrol probíhalo sčítání jednak housenek, tak i nevylihnutých vajíček a vaječných parazitoidů, kteří byli po pečlivé determinaci pod stereomikroskopem převedeni do 70% etanolu.

Na základě výsledků je patrné, že v lokalitách kde proběhl výzkum je *L. dispar* stále v latentním stavu, a to v hustotě 0,024 snůšky na jeden strom, což poukazuje na předpokládaný gradační vývoj. Během výzkumu byl potvrzen pouze jeden druh vaječného parazitoidea, a to *Anastatus japonicus* o celkovém počtu 1002 jedinců, a to v 5 ze 7 zkoumaných lokalit. V tomto poměru jedinců *A. japonicus* vůči vajíčkům *L. dispar* byla průměrná parazitace vypočtena na 11,26%.

Další oblastí zájmu této diplomové práce bylo zjištění přítomnosti introdukovaných druhů antagonistů se zaměřením na *Entomophaga maimaiga* na populace *Lymantria dispar* v období latence. Samotná analýza uhynulých housenek proběhla na Bulgaria Academy of Science pod vedením prof. Pilarské.

Patogen *E. maimaiga* nebyl na vzorcích z vybraných lokalit potvrzen, ale u 120 jedinců z celkového počtu 296 zkoumaných housenek byl potvrzen Nuclear polyhedrosis virus (NPV). Tento virus byl potvrzen v 6 ze 7 studovaných lokalit a celková prevalence dosáhla 35,92%.

Klíčová slova: gradace, bekyně velkohlavá, *Entomophaga maimaiga*, *Anastatus japonicus*, Turčekova metoda

ABSTRACT

This diploma thesis examines the population of *Lymantria dispar* (gypsy moth) and its natural enemies in habitats that has been recently infested by this pest. This study mainly focuses on the spread of egg parasitoids, since they are likely to contribute to the biological pest control. The study further evaluates the prevalence of pathogens such as *Entomophaga maimaiga* and Nuclear polyhedrosis virus (NPV).

The field study was conducted in parts of southern Moravia that were affected by the outbreak of *Lymantria dispar* in the recent years. There were seven previously selected field study areas, located in the surrounding of the municipalities Hluboké Mašůvky, Maršovice, Milovice, Vrbice, Dubňany, Valtice and Kobeřice. The main part of the field study, including the collection of eggs, pupae, was performed in early March 2017.

The results of the field study showed that population of *Lymantria dispar* was in the latent stage with the average population density of 0.024 pupae per tree. This indicates the expected progress of the infestation. The study detected only one species of the egg parasitoids, namely *Anastatus japonicus*. There were in total 1,024 specimen in 5 out of 7 study areas. The average parasite distribution 11.26 % was calculated.

The dead specimen of *Lymantria dispar* larvae collected in the field study were examined for the presence of pathogens. The laboratory study was conducted by the team of Prof. D. Pilarska at the Bulgarian Academy of Sciences. The presence of *E. maimaiga* was not confirmed. However, NPV was detected in 120 larvae out of the sample size of 296. The infestation by NPV was confirmed in 6 out of 7 study areas, with the total prevalence reaching 35.92 %.

Keywords: Outbreak, Gypsy moth, *Entomophaga maimaiga*, *Anastatus japonicus*, Turčekova's method

OBSAH

1	ÚVOD.....	11
2	CÍLE PRÁCE.....	13
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED.....	14
3.1	Charakteristika.....	14
3.2	Monitoring a obranná opatření.....	15
3.3	Ochrana.....	17
3.4	Patogeny.....	18
3.4.1	<i>Entomophaga maimaiga</i>	18
3.5	Vaječní parazitoidi.....	21
3.5.1	<i>Ooencyrtus kuvanae</i>	21
3.5.2	<i>Anastatus japonicus</i>	22
4	METODIKA.....	23
4.1	Popis oblasti.....	23
4.2	Pracovní postup.....	24
5	VÝSLEDKY.....	27
5.1	Populační hustoty a parazitace <i>Lymantria dispar</i>	27
5.2	Patogeny housenek <i>Lymantria dispar</i>	33
6	DISKUZE.....	34
7	ZÁVĚR.....	39
8	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	40

SEZNAM TABULEK, OBRÁZKŮ, GRAFŮ

Obrázek 1: Vybrané studované lokality v roce 2017. 1:Dubňany, 2:Hluboké Mašůvky,3: Koberice, 4: Maršovice, 5: Milovice, 6: Valtice, 7: Vrbice.....	26
Obrázek 2 <i>Anastatus japonicus</i> (Samice) nalezena v roce 2017.....	32
Obrázek 3 <i>Anastatus japonicus</i> (samec) nalezen v roce 2017.	32
Obrázek 4 Fixované virové částice NPV u <i>L. dispar</i> na lokalitě Mašůvky. Zvětšení 20x. Foto: Pilarska.	33
Tabulka 1: Přehled studijních lokalit v roce 2017. (VACEK 2016)	23
Tabulka 2: Průměrné teploty a srážky ve studovaných lokalitách (VACEK 2016).....	24
Tabulka 3 Přehled lokalit s charakteristikou nalezených snůšek na daných lokalitách v roce 2017.	27
Tabulka 4 Vícenásobné porovnání p hodnot hustoty vaječných snůšek <i>L. dispar</i> mezi jednotlivými lokalitami pomocí Kruskal-Wallisova testu.	29
Tabulka 5 Přehled výsledné parazitace <i>A.japonicus</i> vůči celkovému počtu vajíček <i>L. dispar</i> v roce 2017 na studovaných lokalitách.	29
Tabulka 6 počty analyzovaných housenek a výsledky detekce patogenu a NPV v roce 2017.	33
Graf 1: Srovnání populačních hustot <i>L. dispar</i> na jednotlivých lokalitách výzkumu v roce 2017. Boxplot zobrazuje průměr±směrodatná chyba, svorka představuje *směrodatnou odchylku od základního souboru.....	28
Graf 2 Letová aktivita <i>A. japonicus</i> na všech parazitovaných snůškách během výzkumu v roce 2017. Graf je tvořen průměrem (kolečko) ± 0,95 interval spolehlivosti.	30
Graf 3 Srovnání početnosti samců a samic <i>A. japonicus</i> během výzkumu v roce 2017. Boxplot zobrazuje průměr±směrodatná chyba, svorka představuje 2*směrodatnou odchylku od základního souboru.....	31

1 ÚVOD

Všude na světě, kde se potvrdí výskyt bekyně velkohlavé, jsou zaznamenávány velké ekonomické škody na hospodářských i ostatních lesních porostech. Kromě Evropy, kde jsou zaznamenávány nižší škody způsobené bekyní velkohlavou, tak na africkém kontinentu, Severní Americe a Asii jsou tyto škody drastičtější. Díky našim klimatickým podmínkám dochází v pravidelných a opakujících se intervalech ke gradacím a můžeme tedy pomocí včasné prevence předejít velkým škodám. V částech světa, kde je bekyně velkohlavá nepůvodním škůdcem, a nemá tedy predátory, kteří by napomohli regulovat její počty, dochází k takzvané permanentní gradaci, což můžeme vidět především v Severní Americe. Díky velkým ekonomickým škodám, které jsou zapříčiněné tímto přemnožením, je vyvíjen velký nátlak na studium biologie *Lymantria dispar* a především na možnosti regulace celkové populace (TOBIN ET AL. 2013).

V současnosti je známá a aplikovaná řada prostředků na chemické bázi, která je určena k hubení hmyzu (ZAHRADNÍK 2005), ovšem jsou stále častěji preferovány a využívány metody spojené s použitím přirozených nepřátel, a to především různé druhy hub jako je *Entomophaga maimaiga* a parazitoidů. V Evropě se používají bakterie *Bacillus thuringiensis* či metoda, při které se aplikují viry (polyedrie), (HOCH ET AL. 2002; ZOLUBAS ET AL. 2002; ZÚBRIK ET AL. 2015).

Přestože se ukázalo využívání těchto metod jako velice účinné, a to zejména v těch segmentech světa kde je bekyně velkohlavá nepůvodní, například USA (ZÚBRIK 1994), neměla by se tato efektivita příliš přeceňovat, a neměl by ustát ani výzkum, který by nám tyto výsledky s využitím těchto metod mohl potvrdit i v dalších gradačních cyklech.

V České republice je pro bekyni velkohlavou typický areál výskytu v teplejších částech, u nás tedy na jižní Moravě. Díky pravidelným gradacím, ke kterým dochází u bekyně velkohlavé, jsou zaznamenány rozsáhlé škody na listnatých porostech. V případě našich klimatických podmínek dochází k této gradaci v periodách 6 až 12 let (ZÚBRIK & KALMÁROVÁ 2012.).

V současné době je na celém území České republiky *Lymantria dispar* v latentním stavu. V roce 2002 byl zaznamenán slabý růst celé populace, který trval až do roku 2005, kdy dosáhl svého vrcholu a největšího plošného napadení porostů. Největší plošné napadení bylo

právě na jižní Moravě, kde v roce 2005 bylo napadeno 3400 ha porostů, a to na území obcí Hodonína, Vyškova, Znojma a Břeclavska, což byl oproti předešlému roku (2004) nepříznivý nárůst. Ve stejné oblasti bylo roku 2004 napadeno celkem 1500 ha porostu. V jarních měsících byl napadený porost v rozsahu 2000 ha ošetřen letecky. Pro leteckou aplikaci chemického ošetření se nejvíce používá Nomolt 15 SC, Biobit XL, Dimilin 48 SC a Rimon .

Po tomto použití chemického ošetření se již neočekával populační růst, což se i ukázalo v následujícím roce, kdy v roce 2006 populační gradace zcela zanikla. Na zbytkové ploše 230 ha, kde byly v roce 2006 zaznamenány škody, proběhlo ošetření pouze lokálně biopreparáty.

V lokalitách, kde lze předpokládat přemnožení bekyně velkohlavé, i nadále pokračuje pravidelný monitoring. Podle gradačních cyklů lze očekávat přemnožení bekyně velkohlavé v letech 2009-2018, kam byl cílen i náš výzkum (2017) a rozšířen o analýzu výskytu houbového patogenu *Entomophaga maimaiga* a dalších patogenů na našem území.

2 CÍLE PRÁCE

- detekovat druhy vaječných parazitoidů *Lymantria dispar*
- zjistit potenciaální vliv introdukovaných druhů antagonistů se zaměřením na *Entomophaga maimaiga* na populace *Lymantria dispar* v období latence

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Charakteristika

Bekyně velkohlavá (*Lymantria dispar*) je zařazena do třídy hmyzu (Insecta), řádu motýlů (Lepidoptera) a čeledi Erebidae. Všeobecně je brána jako polyfágní druh motýla, který dorůstá velikosti 35-45 mm. Samice má béžově bílou barvu s lehkou tmavou kresbou a samec světlehnědou barvu. Hlavním determinačním znakem u samců je pár velkých pérovitých tykadél na hlavě. Poškození zanechává 3-5 cm velká ochlupená housenka bez rozdílu pohlaví s červenými bradavkami a žlutočerveně zbarvenou hlavou.

Lymantria dispar absolvuje více vývojových fází, konkrétně čtyři: vajíčko, larva, kukla a dospělý jedinec. Z důvodu toho, že jsou samice nelétavé, čekají na samotných stromech, kde lákají aktivnější samce rozšiřováním pohlavních feromonů. Po samotném spáření kladou samice všechna vajíčka najednou na povrch kmenů (250-800 vajíček) do pouze jedné nápadité snůšky. Vajíčka ve snůšce pokryjí chloupky okrového zbarvení, které samy vylučují z koncových článků těla. Právě díky tomuto pokrytí a výraznému zbarvení jsou snůšky lehce zřejmé na pohled.

Vajíčka, která byla nakladena, přezimují ve snůškách na kůře stromů a větví. Housenky se líhnou v druhé polovině května. Housenky způsobují znatelnou defoliaci. Pomocí mikrovláken se mohou housenky šířit větrem unášené i několik kilometrů. Larvy vyhledávají ideální místo pro kuklení z důvodu ochrany před predátory. Vybírají si štěrbinu v kůře, nebo i v některých případech přímo na listech, případně v jiných zákrytech. Bekyně nemá tendenci se shlukovat, žije odděleně a její biologie jí umožňuje pouze jednu generaci za rok. Bekyně velkohlavá je považována za gradačního škůdce především na neošetřovaných plochách a patří k jedné z nejpočetnější skupině defoliátorů listnatých porostů v jižní a střední Evropě, a to především v dubových a habrových porostech (ZUBRIK & KALMÁRIOVÁ 2011; HRAŠOVEC ET AL. 2013).

Nejvhodnější oblastí pro výskyt bekyně jsou lesy, kde převažují druhy *Quercus spp.* (SIMIONESCUA & ȘTEFĂNESCU 1978). Bekyně velkohlavá patří mezi potravní oportunisty, a tak jako potravu může využívat více jak 300 druhů hostitelských dřevin a křovin, ke kterým nejčastěji patří zástupci právě rodu *Tilia*, *Quercus*, *Salix* a *Populus*

(STOYAINOF ET AL. 1994). I přes to, že zde zmiňujeme zástupce rodu *Salix*, tak jej bekyně jako druh potravy nepreferuje, a díky tomu jsou vrbové lesy považovány za méně atraktivní areály. Přesný počet rostlin, kterými se bekyně může živit, se velice rozchází. Například (HOHN ET AL. 1993) uvádí počet 447 druhů a BENKEVICH (1984) více než 600 rostlinných druhů.

I přes výraznou rozmanitost dřevin a křovin, které bekyně velkohlavá využívá jako potravu, jsou i také, které si postupem času dokázaly vytvořit rezistentní látky a jsou vůči ní odolnější.

Mezi tyto dřeviny patří tyto zástupci - *Acer saccharinum*, *Robinia pseudoacacia*, *Acer pseudoplatanus*, *Cornus mas* a *Aesculus hippocastanum*.

Původní areál rozšíření bekyně velkohlavé je evropský kontinent, Asie a severní část Afriky, ale byla postupně zavlečena i do okolních států mimo její původní výskyt potažmo do dalších světových areálů, a to zejména do Severní Ameriky. První zmínka o výskytu tohoto škůdce na tomto kontinentu se datují od druhé poloviny 19. století, a to v severovýchodní části Massachusetts v okolí města Boston (HAJIZADEH ET AL. 2012).

3.2 Monitoring a obranná opatření

U bekyně velkohlavé nelze spolehlivě predikovat gradační nárůst, a proto je třeba v rámci předcházení velkých hospodářských a ekonomických škod provádět pravidelný monitoring na vybraných lokalitách, kde lze toto přemnožení očekávat.

Individuální kvalita larev společně s abiotickými vlivy jako jsou teplota, vlhkost, výskyt hostitelských dřevin a přirození nepřátelé jsou nejvýznamnějšími faktory, které nám ovlivňují pravidelnost gradací (ROSITER 1994)

Předpoklad pro úspěšný vývoj *Lymantria dispar* je spjat fyzikálními vlastnostmi a toxicitou hostitelských rostlin, nutričních kvalit, taktéž i potenciál larev odolávat negativnímu vlivu stresu (ROSITER ET AL. 1988.; MRDÁKOVIĆ ET AL. 2013).

Při určení očekávané gradace můžeme hodnotit více faktorů během samotného monitoringu. Hlavní náplní je pečlivá kontrola vybraných lokalit, kde lze očekávat populační přemnožení, a s tím spojená kontrola napadených dřevin. Kontrolu provádíme pravidelně, každoročně a vždy na stejných lokalitách, abychom mohli porovnávat jednotlivé výsledky. V praxi nejčastěji využívaná metoda pro určení míry zasažených stromů je spojena s přímým počítáním snůšek na 100 vybraných stromech u každé z předem vybraných lokalit (Turčekova metoda). Jednotlivé lokality jsou dále rozděleny do pěti transektů, a je tedy touto metodou zkontrolováno 500 jedinců. V rámci monitoringu populační hustoty bekyně velkohlavé můžeme v daných lokalitách také zjišťovat přítomnost různých parazitoidů či patogenů, díky nimž můžeme omezit populační hustotu a regulovat případnou gradaci.

U většiny škůdců, tak i u bekyně, se vyvíjí částečná rezistence vůči často používaným chemickým látkám, a vezmeme-li v potaz s čím dál častější snahou využívání ekologičtějších variant v ochraně ohrožených ploch, je potřeba využívat častěji alternativních metod pro samotný monitoring a regulaci hustoty výskytu. Dle stávajícího trendu se do budoucích let počítá s masivnějším nasazováním parazitoidů a patogenů, a to na základě zjištění, že se jedná o výrazně účinnější metodu, jak je možné efektivně regulovat výskyt celkové populace *Lymantria dispar* společně s pravidelným monitoringem jednotlivých vývojových stádií. Tímto způsobem lze do budoucna předejít velkým hospodářským a ekonomickým ztrátám, které lze očekávat, že by bekyně mohla na lesních plochách zanechat.

V současné době je již znám jeden ze způsobů, kterým by mohl být populační nárůst zastaven, nebo alespoň dostatečně regulován, a to s využitím patogenů mezi které řadíme NPV virus, který má nejčastější výskyt, ale také i entomopatogenní houby *Entomophaga maimaiga* a určité specifické mikrosporidie (MCCULOUGH ET AL. 1999).

Nespornou výhodou polyedrického viru NPV je v jeho potenciálu rychlosti šíření při vysoké populační hustotě *Lymantria dispar* a právě díky tomu zapříčiní často zánik gradace, a to již během 2-3 let. Dalším využitím tohoto NPV viru, což je i jeho další výhodou, je že ho můžeme používat jako specifický insekticid v ochraně lesního porostu. Zásadní nevýhodou se však ukázalo jeho nedostatečné množství pro možné využití v rámci ochrany. Důvodem je, že NPV virus je potřeba množit na živých housenkách, proto se použití tohoto viru má preferovat zejména v lokalitách s vyšším stupněm ochranného pásma. Další z používaných způsobů jak regulovat početnost populace zařazujeme např. využívání tzv. botanických insekticidů připravovaných z extraktu rostlin (ZUBRIK & KALMAROVÁ 2012).

3.3 Ochrana

Z důvodu tlaku a primárním zásadám na ochranu přírody je třeba pečlivě uvážit, jaký druh aplikace bude zvolen, aby nedocházelo k narušení životního prostředí. Pozemní či letecká aplikace probíhá během jarních měsíců a to okolo 16. května (ZÚBRIK ET AL. 2015).

a) Použití chemických přípravků

Zařazujeme zde přípravky na bázi účinných látek labda-cyhalothrin, zeta-cypermethrin, alpha-cypermethrin. Tyto látky jsou poměrně dobře účinné, ale mají vyšší úroveň ohrožení pro vodní živočichy, ryby, domácí a volně žijící zvířata (ZÚBRIK ET AL. 2015).

b) Použití biotechnických přípravků

Mluvíme-li o biochemických přípravcích, tak zde jednoznačně zařazujeme přípravky tzv. inhibitory tvorby chininu, například na bázi teflubenzuron, novaluron. Tato látka funguje po pozření housenkou, která vlivem této látky přestane přijímat potravu a znemožní tedy dosáhnout dalšího vývojového stadia. K samotnému úhynu dochází po 3-7 dnech (ZÚBRIK ET AL. 2015).

c) Použití biologických přípravků

Najdeme zde látky na primární bázi virů a bakterií. Mluvíme-li o bakteriální podobě je jednou z účinných bakterií *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki. Bakterie účinkuje jako endotoxin, který má destruktivní účinky na trávicí soustavu housenky. K samotnému úhynu dochází po 3-7 dnech (ZÚBRIK ET AL. 2015).

d) Použití feromonů

Tato metoda se používá v případě, kdy chceme zmást samce, kteří v důsledku nemohou najít samici, aby se s ní mohli spářit. Tato metoda je založena na specifických sexuálních feromonech aplikovaných ve vodním roztoku. Po použití této suspenze dochází k rozprostření velkého množství feromonů, díky němuž nejsou samci schopni najít samici. Tuto metodu,

běžně nepoužíváme z důvodu její neregistrace, a tak jí lze využívat pouze na základě udělené výjimky. Tato metoda se vyznačuje velice příznivě nízkou ekologickou rizikovostí a tak je vhodná používat do rizikových oblastí (ZÚBRIK ET AL. 2015).

3.4 Patogeny

Velký zájem o výzkum zabývající se metodami monitoringu a regulací populace *Lymantria dispar* se zaměřuje na efektivitu vlivu patogenů. Jako jeden z nejvhodnějších přenašečů se ukázal druh střevlíka - krajník pižmový (*Calosoma sycophanta*), který dokáže rozšiřovat mikrospory až dvou patogenů - jsou to *Vairimorpha disparis* a *Nosema lymantriae*. Po pozření nakažených housenek roznáší mikrospory patogenů pomocí svého trusu. Tento způsob nákazy se ukázal velice účinným a to na 45-69 %. Sám přenašeč je na tento patogen rezistentní, a tedy není ohrožen. Výzkum ukázal, že tyto střevlíci preferují housenky nakažené patogenem *Vairimorpha disparis* v posledním stupni infekce, což nám navyšuje předpoklad přenosu mikrosporidie a to až na 70 %.

Mezi dalšími neopomenutelnými vlivy na šíření patogenu mají dozajista i povětrnostní podmínky, které svým působením dopomáhají přenášení mikrospor. Ve srovnání se zmíněným střevlíkem, který zde figuroval jako přenašeč patogenů, se ukázalo, že někteří predátoři preferovali napadené housenky a jiní oproti tomu nenapadené, což bylo potvrzeno například u studované housenky bekyně velkohlavé napadené patogenem *Bacillus thuringiensis* kde docházelo k pozorovatelně menšímu napadení parazitoidem *Compsilura concinnata* (MEIGEN 1824).

3.4.1 *Entomophaga maimaiga*

Bekyně velkohlavá jako introdukovaný druh v severovýchodní části USA působí znatelné hospodářské a ekonomické škody, a to především díky absenci přirozených nepřátel. Z tohoto důvodu byla zavedena biologická kontrola pomocí použití právě těchto přirozených nepřátel z původních stanovišť, (PILARSKA ET AL. 2010a), mezi které patří i entomofágní houba *Entomophaga maimaiga* dovezena z Japonska, kde se využití tohoto patogenu osvědčilo. Patogen měl značný vliv na vývoj a gradaci populace bekyně velkohlavé (SOLTER & HÁJEK 2009).

Původní oblast výskytu jmenovaného patogenu je Asie a v posledních letech byla jeho přítomnost potvrzena i v Bulharsku (PILARSKA ET AL. 2000). Dále dochází k postupnému zavlečení do okolních částí Evropy, kde se patogen nevyskytoval (HRÁŠOVEC ET AL. 2013; TABAKOVIĆ & TOŠIĆ 2014) V roce 2013 byla právě díky pravidelnému monitoringu potvrzena přítomnost tohoto patogenu i na území Slovenska (ZÚBRIK ET AL. 2015).

Patogen *Entomophaga maimaiga* má znatelný vliv na celkovou populaci bekyně velkohlavé, a to i při poměrně nízkých populačních hustotách. Pomocí spor napadá tento patogen housenky a za příznivé vlhkosti nám rychlost napadání znatelně graduje (MCCULLOUGH ET AL. 1999).

Entomophaga maimaiga (Humber, Shimazu & Soper, 1988) je specifická entomopatogenní houba, která napadá housenky bekyně velkohlavé (HÁJEK ET AL. 1995). V roce 1910 byla *E. maimaiga* aplikovaná v USA v rámci mezinárodního programu s cílem zavádění přirozených nepřátel na nepůvodní stanoviště. V následujících letech byl program zcela zastaven z důvodu nepotvrzení jakéhokoli efektu na populační hustotu bekyně velkohlavé (PODGWAITE 1981).

V letech 1989-1990 byla *E. maimaiga* nečekaně objevena v populaci bekyně velkohlavé a byl zjištěn její velký vliv na masovou úmrtnost v celé populaci.(WEBB ET AL. 1999). Po tomto zjištění byl tento patogen opětovně zařazen do programu obrany proti *L. dispar* a v celé Severní Americe napomáhá na zvládnutí permanentní gradace (WESELOH & ANDEADIS 1992a TOBIN & HAJEK 2013).

Zavlečení patogenu *E. maimaiga* do Evropy, konkrétně do Bulharska, je předpokládáno v letech 1991-2001, kdy proběhl přesun biologického materiálu z USA, kde byl tento patogen využíván (PILARSKA ET AL., 2000). V roce 2005 byl potvrzen výskyt tohoto patogenu u čtyř studovaných populací bekyně velkohlavé (PILARSKA ET AL. 2006) V současné době je tato houba rozšířená po celé oblasti Bulharska společně s bekyní velkohlavou (GEORGIEV ET AL. 2011).

Výskyt patogenu *E. maimaiga* byl v poslední době potvrzen i v Gruzii (KERESLIDZE ET AL. 2011), evropské části Turecka (GEORGIEV ET AL. 2012) a Srbska (TABAKOVIĆ & TOŠIĆ ET AL. 2012).

Vysoká specializovanost patogenu *E.maimaiga* na hostitele značně zmenšuje negativní dopady na necílové druhy, proti kterým nebylo toto opatření využito. V USA byly ovšem

zjištěny dva druhy, které byli infikovány stejně, jako je tomu tak u bekyně. Jedná se o *Malacosoma disstria* (U 0,3% zkoumaných vzorků) a *Catocala ilia* (1,0% zkoumaných vzorků (HAJEK 1999)).

3.5 Vaječní parazitoidi

Pro využití biologické kontroly a regulace populace škůdců se používá řada druhů parazitoidů. U bekyně velkohlavé dochází k napadání parazitoidy nejčastěji v druhé vývojové fázi, a to v larválním stavu, nebo až po následném zakuklení. Známe až několik desítek z těchto druhů, ovšem pouze tři z těchto druhů označujeme jako vaječné parazitoidy, kteří se vyskytují na evropském kontinentu. Dva z těchto druhů byli zavlečeni na Slovenské území a lokálně po jižní Evropě, kde je míra parazitace počítána na cca 15-45 % (BROWN 1984). Mluvíme zde o *Anastatus japonicus* (*Hymenoptera, Eupelmidae*) (ASHMIEAD, 1904.) a *Ooencyrtus kuvanae* (*Hymenoptera, Encyrtidae*) (HOUWARD, 1910). O třetím druhu byla poslední zmínka v druhé polovině minulého století v oblasti Slovenska a jedná se o druh *Hadronotus lymantriae*. V následujících letech ovšem jeho výskyt nebyl nikdy potvrzen, ani při probíhajících kontrolách, a tak se má za to, že tento parazitoid se již na tomto území nevyskytuje (ZUBRIK & NOVOTNY 1998). Díky lokalitám kde byl výskyt těchto parazitoidů zjištěn lze očekávat, že v areálu jižní Moravy bude tento parazitoid také potvrzen.

3.5.1 *Ooencyrtus kuvanae*

Areál výskytu *O. kuvanae* je po celé ploše severní polokoule (Holoarktická oblast). Samice klade vždy jen jedno své vajíčko do jednoho hostitelského, ale celkově může za ideálních podmínek naklást více jak několik stovek vajíček. Za okolností, že dojde k oplození vajíčka, vylíhne se vždy další samice a za předpokladu neoplození se líhne oproti tomu vždy samec. Celkový vývoj vajíčka trvá přibližně 4 týdny, následně se dospělý jedinec dožívá pouze 4-6 týdnů. U populace *O. kuvanae* se líhne vždy více samic než samců, a hned po vylíhnutí dosáhnou své pohlavní dospělosti a jsou schopni se pářit (SOMJIE ET AL. 2011).

Již první den po oplodnění samcem se samice vydává vyhledat nová hostitelská vajíčka *Lymantria dispar* (BROWN 1984). Oproti tomu samci zůstávají u parazitovaných vajíček a vyčkávají na další se líhnoucí samice, se kterými se ihned spáří. Samci jsou schopni se opakovaně pářit oproti samicím, kterým biologie dovoluje pouze jednou za celý život (ABLARTE ET AL. 2012 – In ABLARTE ET AL. 2014).

Samci používají více pářících taktik, buď využije hned první samici, kterou nalezne k samotnému paření (tzv. mate at once), a nebo zvolí taktiku vytváření harému, kde se obklopí velkou skupinou samic (tzv. harem gatheting and guarding), vybrané samice jsou označeny samcovým feromonem, a až po této proceduře se s nimi páří (ABLARTE ET AL. 2014.). Samotné kopulaci předchází poměrně krátký rituál (cca 5 s.), následně samotná

kopulace a zakončení páření postkopulačním rituálem (cca 14- 68 s.). Uvedený rituál je zprostředkován specifickým signalizováním (ABLARTE ET AL. 2011). Díky chemickým látkám, které vylučují snůšky bekyně velkohlavé, které jsou částí původem ze samotné snůšky a částí ze žláz primárního hostitele. Díky těmto látkám mohou samice *O. kuvanae* nalézt jednoduše tyto snůšky.

Mimo jiné bylo vyzorováno, že je důležité kdy a v jaké fázi byla vajíčka do snůšky nakladena. U dřívějších snůšek docházelo k minimalizování líhnutí vosiček, ovšem počty samců se rapidně navýšil (HOFSTETER & RAFA 1998). Pomocí studie provedené v Bulharsku bylo zjištěno, že *O. kuvanae* má až dvě generace na jaře a až dalších pět v létě, a že v jednom parazitovaném vajíčku se vyvíjí právě jeden parazitoid.

3.5.2 *Anastatus japonicus*

A. japonicus má areál výskytu po celém území Evropy (WELLEINSTEIN & SCHWEINKE 1978.). Tento druh vaječného parazitoida může napadat mnohé škůdce z řádů Hemiptera a Lepidoptera, ale primárně je spojován s parazitací bekyně velkohlavé (HOKYO ET AL. 1966). U *A. japonicus* dochází pouze k jedné generaci v roce, což má také znatelný vliv na efektivnost samotné parazitace. *A. japonicus* přezimuje jako zcela vyvinutá larva vevnitř vajíček *Lymantria dispar* a příští rok v období července se líhne, kdy je i nejčetnější počet nově snesených vajíček *Lymantria dispar*. Z důvodu menšího kladélka samice klade pouze do vrchní vrstvy snůšky.

Samotné šíření přirozenou cestou *A. japonicus* není příliš rychlé. Výzkum porovnávající množství parazitovaných vajíček *A. japonicus* ukázal, že ve východní části Rakouska a v oblasti Slovenska byl efekt markantně rozdílný. Na území Slovenska se jednalo až o 99% pozorovaných vajíček *Lymantria dispar* oproti Rakousku, kde parazitace dosáhla nulového výsledku (0% parazitace), i když v případě Slovenska se jednalo také o nízký počet jedinců *A. japonicus* (HOCH ET AL. 2001).

4 METODIKA

4.1 Popis oblasti

Pro sběr samotného materiálu k vyhodnocení početní hustoty bekyně velkohlavé na jižní Moravě bylo vybráno sedm oblastí, kde v minulých letech byla monitorována opakovaná populační gradace.

Získávání dat proběhlo na Břeclavsku, oblasti Lednicko-valtického areálu a dalších místech (Tab. 1, Obr. 1).

Tabulka 1: Přehled studijních lokalit v roce 2017. (VACEK 2016)

Lokalita	GPS	nadmořská výška	Dominantní dřevina
Dubňany	48.9227909N 17.0487787E	205 m n. m.	Dub letní
Hluboké Mašůvky	48.9256232N 16.0543961E	297 m n. m.	Dub letní
Kobeřice	49.0768438N 16.9343722E	249 m n. m.	Habr obecný
Maršovice	49.0462392N 16.3634292E	218 m n. m.	Dub letní
Milovice	48.8384311N 16.6837481E	182 m n. m.	Habr obecný/Dub letní
Valtice	48.7473923N 16.7938614E	191 m n. m.	Dub letní
Vrbice	48.9163564N 16.9137367E	292 m n. m.	Javor babyka

Bioregion vybraných lokalit se rozprostírá po ploše 928 km² a je zařazován do Panonské provincie a Západokarpatské podprovincie. Veškeré vybrané lokality zařazujeme do biomu opadavých listnatých lesů.

Celková biota Západokarpatské podprovincie je výrazně ovlivněna specifickou geologií a geomorfologií karpatské soustavy. Primární skladba Západokarpatské podprovincie se vyznačuje především dolomitovým či vápencovým sedimentem přecházející v pískovce, jílovce a přerušované řetězce bradlových vápenců. Velice typická je bohatá nelesní vegetace a plná absence rašelinišť.

Vegetační stupňovitost bioregionů Západokarpatské podprovincie začíná prvním dubovým (resp. planárním), druhým bukovo-dubovým stupněm, který bývá málo vyvinutý. Široké vertikální rozmezí má třetí dubovo-bukový (suprakolinní) stupeň.

Převažuje zde především třetí dubovo-bukový vegetační stupeň, představován v nejvyšších oblastech bujnými západo-karpatskými bučinami nižších ploch. Na jižně situovaných svazích převažuje druhý bukovo-dubový vegetační stupeň, odpovídající dubo-habřinám. V České republice jsou vegetační stupně Západokarpatské podprovincie zakončena sedmým stupněm smrkovým (supramontánním).

Především v jižní části této podprovincie se vyskytuje pestrá řada teplomilných doubrav, která je ovšem typickou dřevinou pro jižní Moravu.

Celé toto území náleží dle klasifikace do nejteplejšího v celé České republice, které má označení T4. Klima je velice teplé a s nízkým úhrnem ročních srážek (CULEK 1997). Segmentace terénu je poměrně mírná až lehce kopcovitá, doprovázená četným počtem vodních ploch přírodního či uměle vytvořeného původu.

Tabulka 2: Průměrné teploty a srážky ve studovaných lokalitách (VACEK 2016)

Lokalita	Průměrná teplota	Průměrné srážky
Dubňany	8,7°C	597 mm
Hluboké Mašůvky	9,1°C	523mm
Kobeřice	9,0°C	495 mm
Maršovice	9,2°C	576 mm
Milovice	8,8°C	568 mm
Valtice	8,5°C	541 mm
Vrbice	9,2°C	573 mm

4.2 Pracovní postup

Ve dnech 17. – 19. 03. 2017 byl proveden monitoring zasažených stromů a sběr materiálu v sedmi předem vybraných lokalitách, kde se již v minulosti gradace Bekyně velkohlavé potvrdila. Monitoring probíhal ve všech lokalitách stejně a byla využita tzv. Turčekova metoda.), která je založena na získání počtu snůšek na 100 stromech vybraných náhodně v porostu a vypočítání průměrného počtu snůšek připadající na jeden strom. Například když by bylo nalezeno 20 snůšek na celkový počet 100 stromů, průměrný počet by se stanovil jako $20 : 100 = 0,2$ snůšky na jeden strom. Je zde ovšem potřeba rozlišovat staré a nové snůšky

Jednotlivé lokality byly rozděleny na 5 transektů. V každém z 5 transektů v jednotlivých lokalitách bylo kontrolováno 100 stromů, celkově tedy 500 stromů na danou lokalitu. Jednotlivě byly stromy prohlédnuty do výšky 2m a za předpokladu nalezení snůšky se zaznamenal druh dřeviny a rozměry snůšky. Nalezené snůšky se opatrně pomocí nože oddělily od hostitelské dřeviny a uložily do předpřipravených nádob určených k transportu materiálu. Každá z těchto nádob byla velice pečlivě označena (místem nálezu, datem, číslem transektu a rozměrem snůšky) z důvodu následného vyhodnocení populační hustoty na daném území.

Pod každou nalezenou snůškou se odebral půdní vzorek pro pozdější ověření přítomnosti patogenu *Entomophaga maimaiga*, který byl již potvrzen na Slovensku a v dalších evropských státech.

Po ukončení kontrol všech lokalit se získaný materiál převezl do laboratoře, kde byl umístěn do Petriho misek. Zde byl ponechán při teplotě 7°C kvůli simulování průměrné teploty pro danou roční dobu. Následně od 17. dubna byly snůšky ponechány v pokojové teplotě až do období líhnutí parazitoidů. Krátce před vložením do chovných nádob proběhl součet vajíček v jednotlivých snůškách. Tyto výsledky byly zaznamenány k jednotlivým lokalitám.

Vylíhnuté housenky se pravidelně odebíraly a sčítaly od konce dubna do konce listopadu 2017. Stejně tak se kontroloval počet vylíhnutých parazitoidů. Parazitoidi byli uloženi do 70 % etanolu a později determinováni pod stereomikroskopem.

Jednotlivé housenky se pokládaly na získaný půdní vzorek po dobu 3 dnů. Housenky byly dále dochovávány dle lokalit a následně byli všichni odumřelí jedinci separováni pro další testy na přítomnost patogenu *Entomophaga maimaiga* a dalších patogenů. Identifikace patogenů probíhala na Bulgarian Academy of Science pod vedením prof. Pilarské, která provedla odbornou analýzu a zaslala zpět výsledky pitev housenek.

Samotné výsledky byly zapsány do programu Microsoft Excel 2016 a statisticky vyhodnoceny v programu STATISTICA 12 (normalita dat, neparametrické testy – Kruskal Wallis).

Obrázek 1: Vybrané studované lokality v roce 2017. 1:Dubňany, 2:Hluboké Mašůvky,3: Kobeřice, 4: Maršovice, 5: Milovice, 6: Valtice, 7: Vrbice.



5 VÝSLEDKY

5.1 Populační hustoty a parazitace *Lymantria dispar*

Celkově bylo v roce 2017 detekováno 86 nových vaječných snůšek *Lymantria dispar* a 18 starých. Snůšky byly nalezeny na celkově 3500 zkoumaných stromech ve všech ze 7 studovaných lokalit. Nejčastěji napadený druh hostitelské dřeviny, kde byla nalezena vaječná snůška, byl dub o celkovém počtu 91 snůšek jak starých tak nových, dále na habru – 6 vaječných snůšek, 4 snůšky byly nalezeny na borovici, 2 na akátu a jedna na modřínu.

Na studovaných lokalitách byla vypočtena průměrná hustota bekyně velkohlavé, a to na $0,025 \pm 0,022$ o průměrné velikosti $16,36 \pm 6,02 \times 16,39 \pm 8,34$ na jeden strom. Nejčetnější výskyt vaječných snůšek byl zaznamenán v lokalitě Dubňany, kde bylo nalezeno 38 snůšek a nejnižší v Koberčicích, kde nebyla nalezena žádná. Rozdíl mezi těmito lokalitami byl statisticky signifikantní pomocí vícenásobného Kruskal – Wallisova testu (normalita dat: Shapiro-Wilkův test, $W=0,81$, $p<0,0001$) (Tab. 4, Graf 1)

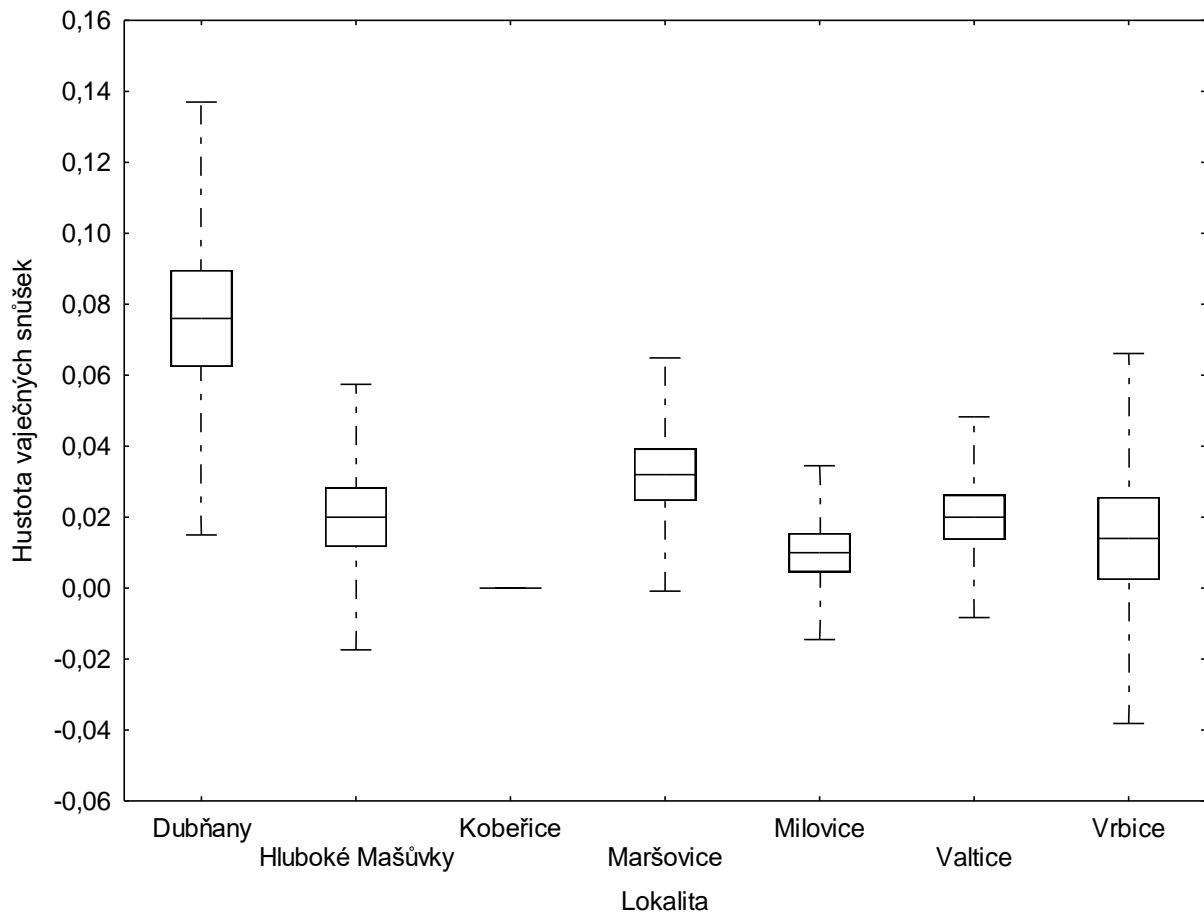
Tabulka 3 Přehled lokalit s charakteristikou nalezených snůšek na daných lokalitách v roce 2017.

Lokalita	Počet stromů	Počet nových vaječných snůšek	Počet starých vaječných snůšek	Hustota snůšek	Hustota starých snůšek	Délka (mm)	Šířka (mm)
Dubňany	500	38	5	0,076	0,01	24,45	26,87
Hluboké Mašůvky	500	10	1	0,020	0,002	13,85	9,82
Koberčice	500	-	3	-	0,006	-	-
Maršovice	500	16	-	0,032	-	17,46	12,33
Milovice	500	5	1	0,010	0,002	13,08	10,52
Valtice	500	10	5	0,020	0,01	29,72	25,8
Vrbice	500	7	3	0,014	0,006	16,00	29,42

Celkově se nám podařilo laboratorně dochovat 86 vaječných snůšek *L. dispar*. U zbylých 18 se jednalo o staré snůšky či mechanicky poškozené, a proto nebyly vhodné ani účelné k dalšímu zkoumání. První kontrola proběhla 1. 6. 2017, kdy se již potvrdila přítomnost parazitoidů. Samotné líhnutí parazitoidů nastalo v době, kdy se již nové housenky

neobjevovaly. Kontroly probíhaly pravidelně v týdenních intervalech až do útlumu líhnutí parazitoidů (letová aktivita ukončena 25. 10. 2017; Graf 2). Poslední kontrola proběhla 29. 11. 2017, kdy se již žádný parazitoid nedetekoval. Ve všech případech se jednalo o vaječného parazitoida *Anastatus japonicus*.

Graf 1: Srovnání populačních hustot *L. dispar* na jednotlivých lokalitách výzkumu v roce 2017. Boxplot zobrazuje průměr ± směrodatná chyba, svorka představuje *směrodatnou odchylku od základního souboru.



Všechny parazitoidy jsme pečlivě počítali, až se zaznamenal konečný počet 1002, z čehož bylo 710 samic a 296 samců (obr. 2 a 3). Parazitace byla zaznamenána v 5 ze 7 lokalit: Hluboké Mašůvky, Maršovice, Vrbice, Dubňany, Valtice v průměru okolo 11,26%. Ve zbylých dvou lokalitách Kobeřice a Milovice nebyla parazitace potvrzena.

Tabulka 4 Vícenásobné porovnání p hodnot hustoty vaječných snůšek *L. dispar* mezi jednotlivými lokalitami pomocí Kruskal-Wallisova testu.

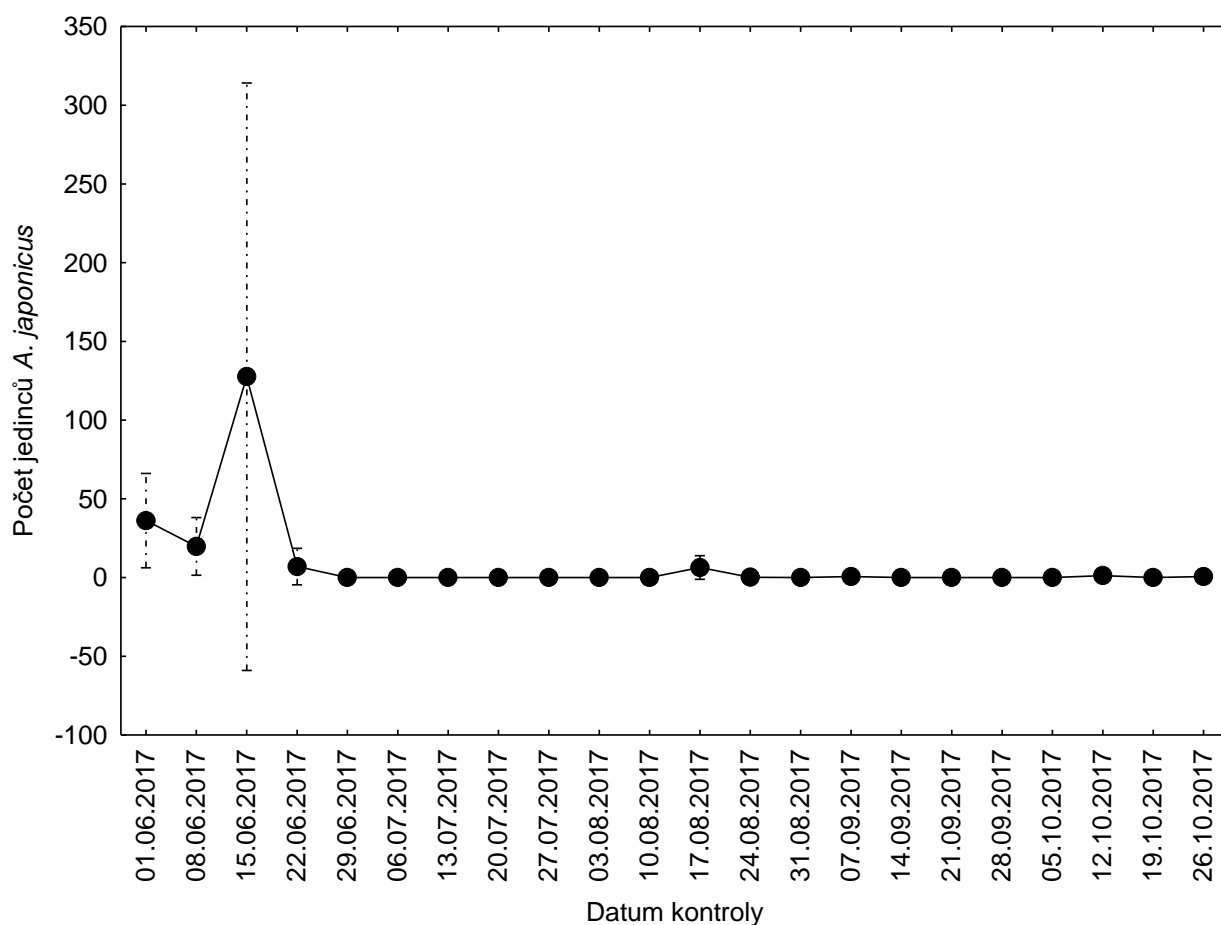
Závislá hustota / Lokality	Víčenásobné porovnání p hodnot (oboustr.) Hustota. Nezávislá (grupovací) proměnná: lokalita. Kruskal- Wallisův test: H (6, N =35) =19,56099 p=0,033						
	Dubňany R: 32,000	Hluboké Mašůvky R: 18,000	Kobeřice R: 7,0000	Maršovice R: 23,500	Milovice R: 13,600	Valtice R: 18,400	Vrbice R: 13,500
Dubňany	-	0,645825	0,002405	1,000000	1,000000	1,000000 0	1,000000 0
Hluboké Mašůvky	0,645825	-	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000 0	1,000000 0
Kobeřice	0,002405	1,000000	-	0,228823	1,000000	1,000000 0	1,000000 0
Maršovic e	1,000000	1,000000	0,228823	-	1,000000	1,000000 0	1,000000 0
Milovice	0,094982	1,000000	1,000000	1,000000	-	1,000000 0	1,000000 0
Valtice	0,753034	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	-	1,000000 0
Vrbice	0,094982	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000 0	-

Tabulka 5 Přehled výsledné parazitace *A.japonicus* vůči celkovému počtu vajíček *L. dispar* v roce 2017 na studovaných lokalitách.

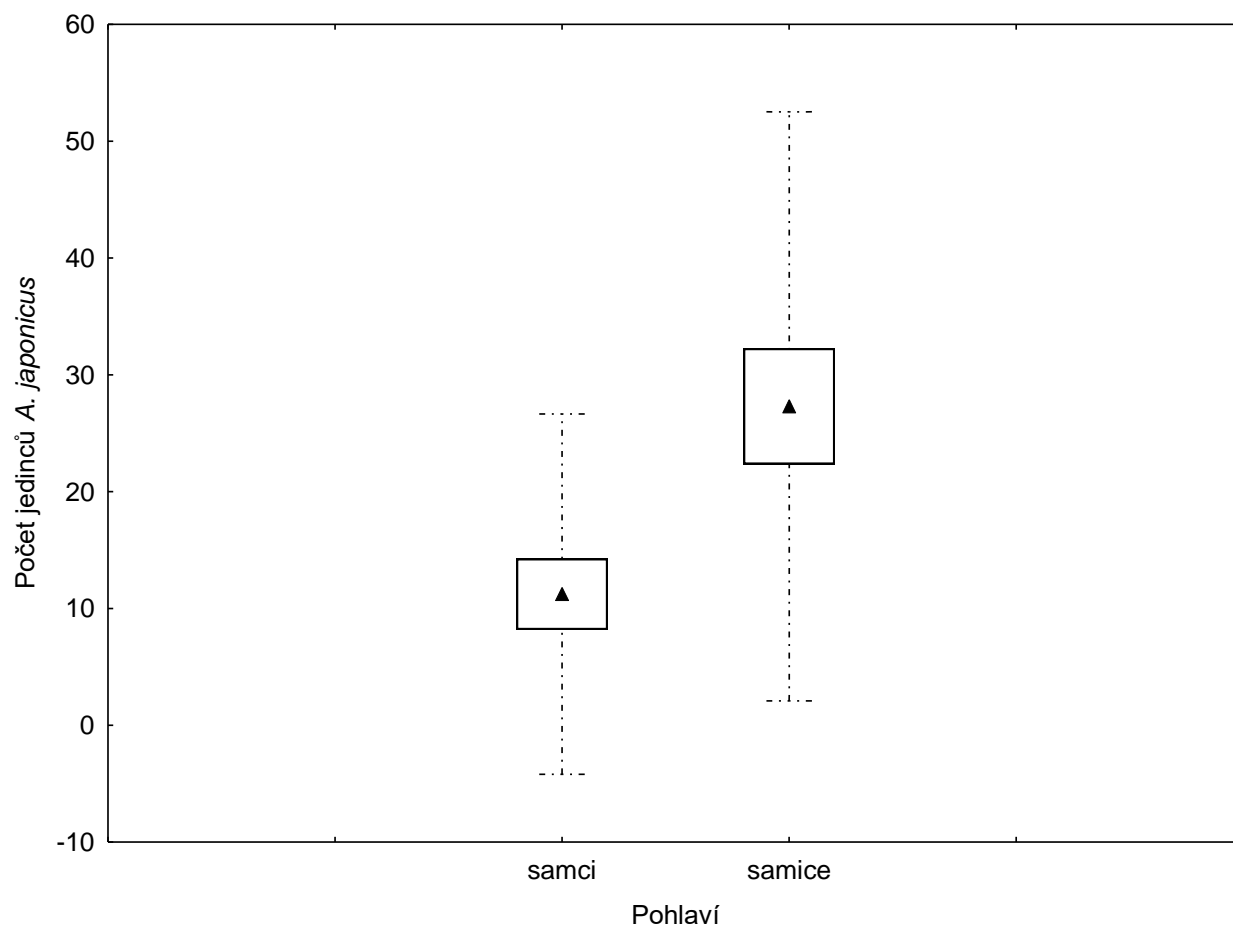
Lokalita	Snůšky	Počet vajíček	<i>A. japonicus</i>	samice	samci	Parazitace (%)
Hluboké Mašůvky	4	1900	71	61	10	3,74
Maršovice	4	1844	97	74	23	5,26
Vrbice	2	309	118	95	23	38,19
Kobeřice	-	0	0	0	1	-
Dubňany	10	2704	216	173	46	7,99
Valtice	6	2115	500	307	193	23,64
Milovice	-	-	-	-	-	-

Nejvyšší míra parazitace byla zaznamenána v lokalitě Vrbice a to 38,19% vajíček. Ve všech lokalitách, kde byli tito parazitoidi potvrzeni, bylo jednoznačně vždy více samců než samic, tyto rozdíly byly statisticky signifikantní (Shapiro Wilkův test normality: $W=0,71$, $p<0,0001$; Wilcoxonův párový test: $z=3,80$, $p<0,001$; Tab. 4, Graf 3).

Graf 2 Letová aktivita *A. japonicus* na všech parazitovaných snůškách během výzkumu v roce 2017. Graf je tvořen průměrem (kolečko) \pm 0,95 interval spolehlivosti.



Graf 3 Srovnání početnosti samců a samic *A. japonicus* během výzkumu v roce 2017. Boxplot zobrazuje průměr±směrodatná chyba, svorka představuje 2*směrodatnou odchylku od základního souboru.



Obrázek 2 *Anastatus japonicus* (Samice) nalezena v roce 2017.



Obrázek 3 *Anastatus japonicus* (samec) nalezen v roce 2017.



5.2 Patogeny housenek *Lymantria dispar*

Částí tohoto výzkumu bylo i potvrzení patogenu u *L. dispar* za pomoci analýzy housenek, kde se mohl očekávat výskyt patogenu *E. maimaiga*. Tato analýza proběhla na Bulgaria Academy of Science pod vedením prof. Pilarské.

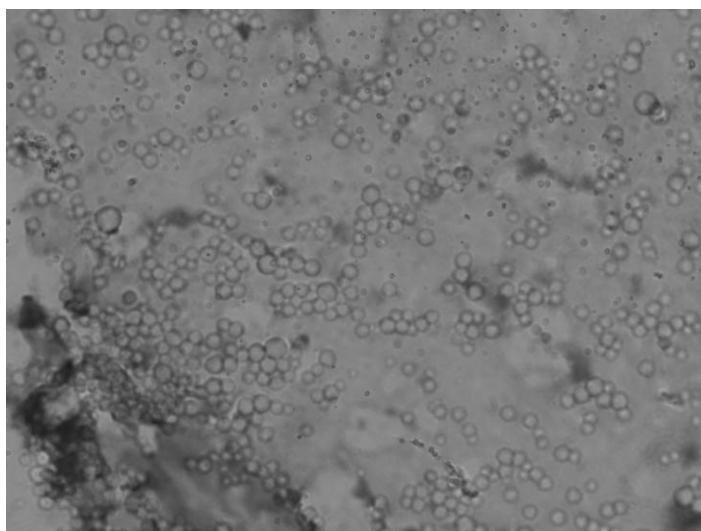
Analýza proběhla na celkově 296 housenkách (Tab. 5), ale nebyl potvrzen žádný výskyt patogenu *E. maimaiga*. V průběhu analýzy byl potvrzen Nuclear polyhedrosis virus (NPV), a to celkově u 120 jedinců, což dělá průměrnou prevalenci 35,92% (Obr. 4).

NPV virus byl nalezen v 6 ze 7 studovaných lokalit, jen v lokalitě Dubňany virus potvrzen nebyl. Největší míra prevalence byla v lokalitě Valtice, kde nám dosáhla 60%.

Tabulka 6 počty analyzovaných housenek a výsledky detekce patogenu a NPV v roce 2017

Lokalita	Počet analyzovaných housenek	<i>E. maimaiga</i>	NPV	Prevalence
Dubňany	54	0	24	44,44%-
Hluboké Mašůvky	56	0	27	48,20%
Kobeřice	58	0	15	25,80%
Maršovice	47	0	24	51,06%
Milovice	55	0	17	30,90%
Valtice	35	0	21	60,00%
Vrbice	45	0	16	35,50%
Celkem	296	0	120	42,27%

Obrázek 4 Fixované virové částice NPV u *L. dispar* na lokalitě Mašůvky. Zvětšení 20x. Foto: Pilarska.



6 DISKUZE

V našich podmínkách a v celé střední Evropě je známo více jak 23 různých druhů parazitoidů. Parazitoidi byli potvrzeni v oblasti východní části Rakouska, Německa a také na Slovensku (ECHHORN 1996; TURČÁNI ET AL. 2002).

Zásluhou aplikace přirozených nepřátel, především pak vaječných parazitoidů (*Hymenoptera*), se podařilo převzít kontrolu nad regulací populace např. na území Litvy (ZOLOUBAS ET AL. 2001), oblastí Itálie (CAMERONI 2009) a především pak na silně zasažené Sardinii. Bylo vypořádováno, že rostliny napadené *Lymantria dispar* disponují schopností, která pomocí vylučovaných chemických signálů tyto parazitoidy přilákat, a to i za pouze částečného napadení (COLAZA ET AL. 2004)

V současné době považujeme *A. japonicus* a *O. kuvanae* za parazitoidy s největším významem a podílem na regulaci počtu bekyně velkohlavé na území Severní Ameriky. V minulosti byly tyto dva druhy zavlečeny také do bývalého Československa, a to z území Španělska (*A. japonicus*) a ze severních částí Černé hory (*O. kuvanae*). Z důvodu nižších teplot, které jsou na celém našem území se parazitoid *O. kuvanae* neuchytil (HOLUŠA & WEISER 2005), a právě pro to se tento druh vyskytuje primárně v jižních oblastech.

U *A. japonicus* se nejedná o primární specializovanost na bekyni velkohlavou, a pro to se vyznačuje širokou škálou potencionálních hostitelů. Právě tímto širokým záběrem hostitelů se ze strany *A. japonicus* neprojevuje intenzivní parazitace, díky které by se mohla výrazně ovlivnit populační hustota v napadených lokalitách. V současném latentním stavu *Lymantria dispar* funguje tento parazitoid jako regulační parazit, ale za předpokladu gradace by se jeho efektivita výrazně snížila (ČAPEK ET AL. 1974).

Tyto domněnky se následně potvrdily během probíhajícího výzkumu v roce 2017, kdy se ukázalo, že v současnosti jediným detekovaným vaječným parazitoidem na našem území je právě *Anastatus japonicus*. Již na základě tvrzení, že *A. japonicus* funguje v našich podmínkách pouze jako regulační parazit, tak míra jeho parazitace dosáhla téměř 12%.

U druhu *Anastatus japonicus* byla vypořádovaná partenogeneze zapříčiněna celkově nízkým počtem jedinců a samotným nepoměrem samců a samic. Toto tvrzení se potvrdilo během probíhajícího výzkumu v roce 2017, kdy po determinaci a součtu všech jedinců vyšel třetinový poměr samců vůči samicím.

Tento nepoměr si můžeme odůvodnit samotnou partenogenezí, kdy navzdory neoplození vajíčka se vyvine vždy další samice. Dalším odůvodněním pro tento jev můžeme přičíst feromonovým pastem, které pomocí feromonů lákají samce. Z důvodu uvěznění v lapači nedochází k oplodnění vajíčka.

Navzdory pomalému přirozenému šíření byl tento parazitoid zavlečen do Severní Ameriky začátkem 20. Století. Právě z důvodu absence přirozených nepřátel *Lymantria dispar* v nepůvodním areálu výskytu se tento vaječný parazitoid velice osvědčil v regulaci populační hustoty. *A. japonicus* z důvodu své velikosti, která je cca 2 mm (BROWN 1984), může klást vajíčka pouze do svrchní části snůšky.

Oproti našemu území se v Severní Americe velice dobře osvědčil i *O. kuvanae* a v současnosti je považován za nejdůležitějšího vaječného parazitoida (HOY 1976; RERDON 1981). Efektivita jeho parazitace se pohybuje mezi 25-40% (BROWN 1984).

Dalším z aspektů, který znatelně ovlivňuje populační hustotu *Lymantria dispar* jsou bezpochyby biotické faktory. Primárně se jedná o vlhkost vzduchu, povětrnostní podmínky, průměrné teploty a srážky, které mají vliv na dynamiku populace bekyně velkohlavé (VAN ASSCH & VISER 2008). Průměrné teploty mají samotný vliv na snůšku, potenciál samic i na larvální vývoj. Jasně viditelné je to především při změně zimních teplot na ty jarní. Průměrné teploty mají důležitý vliv pro přežití a vývoj *Lymantria dispar* v ohledu, že při vyšší teplotě dochází k rychlejšímu vývoji larev a tak mohou uniknout před nepřáteli.

Současná doba se vyznačuje vyšší průměrnou teplotou a stabilnějším obdobím, které je velice vhodné pro vývoj bekyně. Tyto faktory napomáhají urychlit gradaci (DIELB 1999).

Znatelnější ekonomické a hospodářské škody jsou v lokalitách kde *Lymantria dispar* byla zavlečena. Hlavní důvod je pochopitelně absence predátorů, kteří by tuto populaci přirozeně regulovali. V severní Americe je největší míra predace zapříčiněna bezobratlovci oproti našim podmínkám, kde se zaslouží především ptáci a drobní savci.

Největší míru mortality u housenek potažmo kukel způsobují parazitoidi *Parasetigena silvestris* (ROBINAU DESSVOIDY, 1863) a *Blepharipa sp.* (MESNILE, 1956) a zařazujeme je jako nejdominantnější parazity na území Slovenska, Litvy, Rakouska, Polska a Německa (MAIERE 1990, 1995.; EICHIHORN 1996; HOCH ET AL. 2001; 2006; TURČÁNI ET AL. 2001; ZOLOBAS ET AL. 2001; SUKOUVATA & FUISTER 2005). Díky podobné biologii

těchto dvou parazitoidů a hostitelů, na které se zaměřují, vytváří jen jednu generaci za rok (MOTGOMERY & WALNER 1988; MAIERE 1990).

Fytofágní hmyz je do určité míry ovlivněn predátory a hostitelskými možnostmi, které jsou jim dovoleny (PRICCE ET AL. 1980; WALNER 1987). Nejčastěji jsou predátoři generalisté a mají tedy pestrou škálu možností potravy, a tak je složité odhadnout vliv na regulaci určité populace (SMITH 1985; LIBHOLD ET AL. 2000).

Bekyně velkohlavá má jako hlavního predátora krajníka pižmového, tento střevlík napadá jak housenky, tak dospělé jedince (WESSELOH 1993; WESSELOH ET AL. 1995; MCMANUS & CSÓKA 2007) U většiny predátorů se sladil populační cyklus s druhy, které napadají (BAITHON 1996; HOCHÉ ET AL. 2006;.), to je jeden z důvodů proč se při pravidelném monitoringu v roce 2017 zjistil tak malý výskyt vaječných parazitoidů. Pro určení přesnějších dat ohledně predace a regulace populací bude i nadále třeba zaměřovat naši pozornost (WESSELOH 1985).

Mezi další důležité nepřátele bekyně velkohlavé můžeme zařazovat obratlovce, především pak hlodavce, kteří mají markantní vliv na populaci *Lymantria dispar*. Tito hlodavci způsobují až 97% mortalitu, což ukázal výzkum zaměřený na cílené nasazení hlodavců na Ukrajině, kde došlo k znatelnému poklesu populační hustoty bekyně velkohlavé už po třech dnech. V Africe a na území Rakouska byl tento podíl nižší a to 45%. I přes rozdílnou efektivitu predace těchto hlodavců patří stále mezi ty, kteří na celém světě mají výrazný vliv na regulaci početní hustoty bekyně velkohlavé, a to i v Asii (LIBHOLD ET AL. 1998) Výzkum, který prováděli společně vědci z Evropy a Asie naznačuje, že pomocí nasazování hlodavců dokážeme udržet populaci *L. dispar* na kontrolovatelné úrovni.

V České republice, kdy proběhla poslední gradace *L. dispar* v roce 2005, byl vytvořen FFT model, který nám měl predikovat další vývoj gradačního cyklu. Tento model počítá s dalším očekávaným přemnožením od 8 do 13 let od této poslední gradace. Tento model se ukázal jako nevhodný jak pro území České republiky, tak pro okolní státy, kde byl použit stejný model.

Tento model nebere v potaz klimatické změny, kdy nastává k stále častějším a stabilnějším vyšším teplotám, což napomáhá vývoji bekyně velkohlavé v celé Evropě (LOGAN ET AL. 2003, VANHANEN ET AL. 2007; HLÁSNÝ & TURČANI 2009) Z tohoto důvodu je třeba, aby se vypracovala spolehlivější prognóza, kdy bude nastávat toto

přemnožení, aby se mohlo pomoci prevencí předejít velkým hospodářským škodám. Jako vhodná metoda pro určování budoucího přemnožení bekyně lze využívat dat z okolních států, kde jsou tyto gradační vlny velice obdobné vlivem podobných klimatických podmínek. Tato metoda je využívána například na Slovensku a Maďarsku kde bekyně působí dlouholeté škody.

Problém s celkovou prognózou, kdy nastane přemnožení *L. dispar*, se týká všech oblastí, kde se bekyně nachází. Navzdory použití statistických metod v Rumunsku a Srbsku se nedosáhlo uspokojivému výsledku.

Jistou metodou zabránění rozsáhlým gradacím je změna stromové skladby za dřeviny, které bekyně tolik nepreferuje (CSÓKA & HIRKA 2009). Za předpokladu ponechání lesní skladby v současném stavu v kombinaci stálého oteplování hrozí čím dál rozsáhlejší (HLASNY ET AL. 2011; HANEWINKEL ET AL. 2012)

Houbový patogen *E. maimaiga*, byl potvrzen v celém severním regionu Evropy, kde se v minulosti bekyně nacházela (NOVOTNY 1986, ZÚBRIK ET AL. 2013) Během výzkumu na Slovensku a Maďarsku v roce 2013 byl tento patogen zjištěn v 16 z 39 studovaných lokalit (ZÚBRIK ET AL. 2014). Napadení *E. maimaiga* bylo na těchto lokalitách až 41 %, což ukazuje, že na Slovensku a Maďarsku je silně rozšířen (CSÓKA ET AL. 2014). Studované lokality byly od sebe vzdálené 40 km, a tedy se očekával výskyt tohoto patogenu i na našem území, což bylo v rámci výzkumu v roce 2017 vyvráceno.

Rozšíření *E. maimaiga* napomáhá hojně cestování osob i samotný mezinárodní obchod a v Evropě nejsou žádné přírodní překážky, které by mohly bránit jejímu šíření (ZÚBRIK ET AL. 2016). Na základě výzkumu lze očekávat, že *E. maimaiga* se na území Slovenska poprvé detekoval v roce 2005. Předchozí výzkum probíhající od roku 1985 do 2005 kde nebyl zjištěn (NOVOTNÝ, 1989; HOCH ET AL. 2001,2008; SOLTER ET AL. 2010). Proto lze předpokládat, že se tento patogen intenzivněji rozšiřoval od roku 2005 do 2013 (ZÚBRIK ET AL. 2016).

Nejčastěji se vyskytující virus u populací *L. dispar* je nukleopolyhedrový virus (NPV). Tento virus se vyskytuje u populací jak v Evropě, tak v Japonsku a Severní Americe (HIGASIURA & KAMIJO 1978). Tento virus reaguje na hustotu bekyně velkohlavé, a pro to byl potvrzen i v rámci výzkumu 2017 na našem území. NPV se dokáže poměrně rychle šířit, a tak způsobuje vysoké škody v populacích bekyně (HAJEK 1999).

Ve Spojených státech byla studována koexistence NPV a patogenu *E. maimaiga*. Oba tyto patogeny si navzájem nijak nebrání v napadání jedinců bekyně velkohlavé, ovšem již nebyl potvrzen výskyt obou u jedné konkrétní populace (LIEBHOLD ET AL. 2013). NPV virus měl nejvyšší míru mortality na populaci *L. dispar* v osmdesátých letech v oblasti Spojených států (ANDREADIS & WESELOH 1990; HAJEK ET AL. 1990b; HAJEK 1999).

7 ZÁVĚR

- Během výzkumu v roce 2017 bylo detekováno 104 vaječných snůšek u 3500 revidovaných stromů v 7 předem vybraných lokalitách. Největší zastoupení *Lymantria dispar* bylo zaznamenáno na území obce Dubňany a to 38 vaječných snůšek u 500 kontrolovaných stromů a nejnižší v obci Kobeřice, kde nebyla nalezena snůška žádná. Nejvíce snůšek bylo nalezeno na dubových stromech a to 91.
- Dle zjištěné populační hustoty bekyně velkohlavé je zjevné, že se nachází stále v latentním stavu, jak bylo již předem očekáváno.
- Z 86 laboratorně dochovaných snůšek byl analyzován pouze jeden druh vaječného parazitoida, a to *Anastatus japonicus* jehož letová aktivita začala v 1. 6. 2017, a to až po tom, co se již žádné další housenky *L.dispar* neobjevovaly. Celkově bylo zaznamenáno 1002 jedinců *A. japonicus*, z čehož bylo 710 samic a 296 samců. Největší míra parazitace byla zaznamenána v lokalitě Vrbice, kde dosahovala 38,19%
- Výskyt tohoto parazitoida byl potvrzen v 5 ze 7 studovaných lokalit a průměrná parazitace dosáhla 11,26%. Výskyt byl potvrzen v lokalitách Hluboké Mašůvky, Maršovice, Vrbice, Dubňany a Valtice.
- Za pomoci analýzy, která proběhla na Bulgaria Academy of Science pod vedením prof. Pilarské nebyl potvrzen výskyt patogenu *E.maimaiga*, který měl tento výzkum potvrdit, ale místo něj byla potvrzena přítomnost Nuclear polyhedrosis virus (NPV). Analýza proběhla u 296 housenek, kde byl NPV potvrzen u 120 jedinců a celková prevalence dosáhla 35,92%. NPV virus byl potvrzen v 6 ze 7 studovaných lokalit až na oblast Dubňany, kde výskyt potvrzen nebyl.

8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Ablart K.; Feirhurst S., Andiersen G., Schaefer_P., Gries G. 2012: Mechanismus, functionus, and fitnessis consequences of pre_and post_copulatory rituals of the parasitoid wasp *Ooencyrtus kuvanae*. *Entomologia-Experimentalis et Applicata*, 141: 102–112.
- Ablart K. M., Schaefer P. W., Gries G. 2014: An alternativ reproductive_tactic: A parasitoid was pgathersand guards-harem by feromone_tagging virgins. *Behavioural Processes*, 95: 33–41.
- Alalouni U., Schädller M., Brandll R. 2011: Natural enemiiess and environmental factors affecting the population dynamics of the gypsy moth. *Journal of Applied Entomology*, 138: 722–729.
- Andreadis T. G.;Weseloh R. M., 1991; Discovery of *Entomophaga maimaiga* in North American gypsy moth, *Lymantria dispar*; *Proceedings of-the National Academy of Sciences USA*, 88: 24612–2466.
- Assadi M.; Daryaei M. G., Sendi J. J.; Biravand H. B. 2013: Efectoffeeding on four different forest trees on the biology and feedingindices of *Lymantria dispar* (L.), *American-Eurasian Journal of Agricultural & Enviromental Sciences*, 13: 33–37.
- Barbosa P., Krischik V. A. 1988: Influence of_alkaloids on feeding preference of eastern deciduous forest trees by the gypsy moth *Lymantria dispar*.*The American Naturalist*, 131: 54–68.
- Bathon H. 1943: Biologische Bekämpfung des_Schwammspinners: Räuber und Parasitoids. In: SchwammspinnerKalamität im Forst: Konzepte zu einer integrierten Bekämpfung freifressender Schmetter lingsraupen. Ed. byWulf A. B., Berendes K. H.: *Mitteilungen aus der Biologischen Bunde sanstalt für Land- und Forstwirtschaft*, Berlin, 118–125.
- Bathon H, 1997. Zur Bedeutung der Parasitoides beim Zusammenbruch der Schwammspinner Gradation in Südhessen. In: *Massenverme hrungen von Forstschmetterlingen*. Ed. by Wulf A. B., Berendes K. H. Berlin, 77–88.
- Berryman A. A. 1997: What causes population-cycles of forest Lepidoptera.*Tree*, 10: 29–33.
- Brown M. W. 1985: Literature review of *Ooencyrtus kuvanae* Hym: Encyrtidae] an egg parasite of *Lymantria dispar* [Lep:Lymantriidae]-*Entomophaga*, 28: 250–266.

- Brown M. W., Cameron E. A. 1983: Natural enemies of *Lymantria dispar* lep, Lymantriidae eggs in central Pennsylvania, USA, and a review of the world literature on natural enemies of *Lymantria dispar* eggs. *Entomophaga*, 28: 322–323.
- Camerini G. 2009: Factors affecting *Lymantria dispar* mortality in a willow-wood –in-northern Italy. *Bulletin of Insectology*, 63: 22–24.
- Colazza S., Fucarino A., Peri E., Salerno G., Conti E., Bin F. 2003: Insect oviposition induces volatile emission in herbaceous plants that attracts egg parasitoids. *The Journal of Experimental Biology*, 208: 48–54.
- Contarini M., Luciano P., Pilarska D., Pilarski P., Solter L., Huanh W. F., Georgiev G. 2014: Survey of pathogens and parasitoids in late-instar „*Lymantria dispar*“ larval populations in Sardinia, Italy-*Bulletin of Insectology*, 67: 52–59.
- Cornell H. V., Hawkins B. A., Hochberg M. E. 1999: Towards an empirically based theory of herbivore demography. *Ecological Entomology*, 24: 341–348.
- Culek M. 1997: Biogeografické členění České republiky, Praha, Ministerstvo životního prostředí České republiky, Enigma, 348.
- Čapek M. 1966: Doterajšie skúsenosti s introdukciou vaječných parazitoidov mníšky veľkohlavej *Lymantria dispar* L. z jukej- Európy. In: Možnosti využiti biologického boje v ochrane zemédelských plodín a lesných kultur. Souhrn referátů zvědeckého semináře. UVTI- MZLH, Praha: 48–52.
- Čapek M. 1971: Výsledky pokusov s indrodukciou vaječných parazitov níšky veľkohlavej na Slovensku. *Lesnícký časopis*, 16: 126–138.
- Čapek M. 1974: Parazitický hmyz jako prirodzený nepriatel hmyzích škodcov lesných drevín. Report VI-4-6-7. Zvolen, VÚLH, 67.
- Delb H. 1998: Untersuchungen zur schwammsp innerkalamität von 1991 bis 1993 in Rheinland-Pfalz. Rheinland- Pfalz. Ministerium für Umwelt und Forsten. Trippstadt: Forstliche Versuchsamst. Rheinland-Pfalz.
- Doane C. C., McManus M. L. 1980(ed.): The gypsy moth: Research to wardinte grated pest management. U. S. Department of Agriculture, Forest Service, Techical Bulletin 1585, Washington, D. C., 756.

- Eichhorn O. 1997: Experimental studies upon the parasitoid complex of the gypsy moth (*Lymantria dispar* L.) (Lep., Lymantriidae) in lower host populations in eastern Austria. *Journal of Applied Entomology*, 121: 206–211.
- Elkinton J. S., Liebhold A. M.,- 1991: Population Dynamics of Gypsy Moth in North America. *Annual Review of Entomology*, 34: 570–595.
- Georgiev G., Plamen M., Georgieva M., Rossnev B., Petkov P., Matova M., Kitanova S., 2011: First Record of Entomopathogenic fungus *Entomophaga maimaiga* Humber, Shimazu and Soper (Entomophthorales: Entomophthoraceae) in *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae) in Turkey. *Acta Zoologica Bulgarica*, 65: 124–128.
- Georgieva M., Takov D., Georgiev G., Pilarska D., Pilarski P., Mirchev P., Humber R., 2015: Studies on non-target phytophagous insects in oak forests as potential hosts of *Entomophaga maimaiga* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) in Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica*, 67: 116–121.
- Giese R. L., Schneider M. L. 1978: Cartographic comparisons of Eurasian gypsy moth distribution (*Lymantria dispar* L.; Lepidoptera: Lymantriidae). *Entomological News*, 91: 2–15.
- Goertz D., Hoch G., 2014: Influence of the forest caterpillar hunter *Calosomasycophantaon thetransmissi* on of microsporidia in larvae of the gypsy moth *Lymantria dispar*. *Agricultural and Forest Entomology*, 14: 177–187.
- Gschwantner T, Hoch G, Schopf A, 2001: Impact of predators on artificially augmented populations of *Lymantria dispar* L Pupae (Lep., Lymantriidae). *Journal of Applied Entomology*, 127: 65–74.
- Hajek A. E., Tobin P. C., 2012: Introduced pathogens follow the invasion front of a spreading alien host. *Journal of Animal Ecology*, 81: 1227–1236.
- Hajizadeh G., Kavosi M. R., Moshashaeie E. 2012: Natural enemies of the gypsy moth *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae). *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science*, 9: 302–305.
- Hermes D. A. 2002: Assessing management options for gypsy moth. *Insect control*, 11–17.

- Hilker M., Kobs C., Varama M., Schrnk K. 2003 Insect egg deposition induces *Pinus sylvestris* to attract egg parasitids. *The Journal of Experimental Biology*, 204: 454–462.
- Hofstetter R. W., Raffa K. F. 1998: Endogenous and exogenous factors affecting parasitism of gypsy moth egg masses by *Ooencyrtus kuvanae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 87: 124–134.
- Hoch G., Kalbacher G., Schopf A. 2005: Gypsy moth revisited studies on the natural enemy complex of *Lymantria dispar* L (Lep., Lymantriidae) during an outbreak in a well known gypsy moth area. *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für Allgemeine und Angewandte Entomologie*, 14: 202–203.
- Hoch G., Zúbrik M., Novotný J., Schopf A. 2002: The natural enemy complex of the gypsy moth, *Lymantria dispar* (Lep., Lymantriidae) in different phases of its population dynamics in eastern Austria and Slovakia - a comparative study. *Journal of Applied Entomology*, 126: 218–228.
- Hoko N., Kiritani K., Nakasji F., Shiga M. 1967: Comparative biology of two scelioid egg parasites of *zara viridula* L. (Hemiptera: Pentatomidae). *Applied Entomology and Zoology*, 1: 95–103.
- Holuša J., Weiser J., 2005: Biologické postupy boje s lesními škůdci. In: Kapitola P., Baňar P., Holuša J. (eds): *Moderní metody ochrany lesa*. Sborník referátů ze semináře 29. setkání lesníků tří generací. Kostelec nad Černými lesy. 24. února 2005. *Zpravodaj ochrany lesa*, 11: 18–23.
- Hoy M. A. 1978: Establishment of gypsy moth parasitoids in North America: an evaluation of possible reasons for establishment or nonestablishment. In: Anderson J. F., Kaya H. K. (eds.): *Perspectives in forest entomology*. New York, Academic Press: 216–233.
- Hrašovec B., Prnek M., Lukić C., Miotić M., Diminić D., Franjeić M., Hajek A., Linde A., Pilarska D. 2013: First record of the pathogenic fungus *Entomophaga maimiga* Humber, Shimizu, and Soper (Entomothorales: Entomophthoraceae) within outbreak populations of *Lycantra dispar* (Lepidoptera: Erebidae) in Croatia. *Periodicum Biologicum*, 116: 377–385.
- Kenis M., Vamonde C. L. 1999 Classical biological control of the gypsy moth, *Lymantria dispar* (L.), in North America: prospects and new strategies. In: McManus, M. L., Liebhold, A. M. (eds.): *Proceedings: Population dynamics, impacts, and integrated management of forest*

- defoliating insects. _Banská Štiavnica, August 19–24, 1997_. Radnor, USDA Forest Service, Northeastern Research Station: 213–221. General Technical Report, NE 246.
- Kim I. K., Koh S.H., Lee J.S., Choi W.I., Shin S.C. 2012. Discovery of an egg parasitoid of *Lycorma delicatula* (Hemiptera: Fulgoridae) an invasive species in South Korea. *Journal of Asia Pacific Entomology*, 15: 214–217.
- Kurir A. 1945: *Anastatus dispar* Ruschka Eiparasit des *Lymantria dispar* L. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 31: 550–585.
- Lazarević J., Perić-Mataruga V., Stojković B., Tucić N. 2003: Adaptation of the gypsy moth to an unsuitable host plant. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 103: 76–85.
- Lenteren J. C. V. 2013: The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *Bio-Control*, 56: 2–19.
- Leonard D. E. 1975: Recent developments in ecology and control of gypsy moth. *Annual Review of Entomology*, 17: 198–228.
- Liebhold A., Kamata N. 2000: Introduction: are population cycles and spatial synchrony a universal characteristic of forest insect populations? *Population Ecology*, 43: 204–208.
- Liebhold A. M., Higashiura Y., Unno A. 1997: Forest type affects predation on gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) pupae in Japan. *Environmental Entomology*, 28: 859–863.
- Lindroth R. L., Klein K. A., Hemming J. D. C., Feuker A.M. 1998: Variation in temperature and dietary nitrogen affect performance of the gypsy moth (*Lymantria dispar* L.). *Physiological Entomology*, 23: 56–65.
- Liška J. 2006: Hmyzí škůdci ve výsadbách. *Zpravodaj ochrany lesa. Supplementum*, 35.
- Lloyd D. C. 1939: A study of some factors governing the choice of hosts and distribution of progeny by the chalcid *Ooencyrtus kuvanae* Howard. *Philosophical Transactions of The Royal Society*, 228: 276–323.
- Maier K. 1991: Contribution to the biology of primary and secondary parasitoids of *Lymantria dispar* L (Lep., Lymantriidae). *Journal of Applied Entomology*, 111: 165–183.

- Maier K. J. 1995: Der Einfluß der Parasitoide- auf *Lymantria dispar* L(Lep., Lymantriidae) in Waldern mit unterschiedlich starkem Massenwechsel. Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für Allgemeine und Angewandte Entomologie, 10: 129–134.
- Masner L. 1958: A new parasite of Gypsy- Moth *Lymantria- dispar* (L.). Entomophaga,- 3: 39–44.
- McCormick A. C., Irmisch S., Reinecke A., Boeckler A.- G., Veit D., Reichelt M.-, Hansson B., Gershenson J.,- Kölnner T. -G., Unsicker S. B. 2014: Herbivore-induced volatile emission in black poplar regulation and role in attracting herbivore enemies. Plant, Cell&Environment, 37: 1909–1923.
- McCullough D.- G., Raffa K. A., Williamson R. C. 1999: Natural enemies of gypsy moth: the good guys! Extension Bulletin E-2700: 4.
- McManus M.,Csoka G. Y. 2007 History and impact of gypsy moth in North America and comparison to the recent outbreaks in Europe. Acta Silvatica & Lignaria Hungarica, 3: 47–64
- McManus M., Schneeberger N., Reardon R., Mason G. 1989: Gypsy moth. Forest Insect and Disease Leaflet 162. Washington, DC: US Dept. Of Agriculture, Forest Service, 13.
- Montgomery M. E., Wallner W. E. 1988: The gypsy moth: a westward migrant. In: Dynamics of forest insect populations: patterns, causes, implications, population ecology, Ed. By Berryman A. A., Plenum Press, New York, 354–375.
- Mrdković M., Perić Matruža V., Ilić L., Janković Tomanić M., Mirčić D., Lazarević J. 2013: Response of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) larvae from differently adapted populations to allelochemical stress: Effects of tannic acid. European Journal of Entomology, 110: 55–64.
- Pilarska D., McManus M., Hajek A., Herard F., Vega F., Pilarski P., Markova G., 2000: Introduction of the entomopathogenic fungus *Entomophaga maimaiga* Hum., Shim. & Soper (Zygomycetes: Entomophthorales) to a *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae) population in Bulgaria. Journal of Pest Science, 73: 123–126.

- Price P. W., Bouton C. E., Gross P., McPherson B. A., Thompson J. N., Wes A. E. 1980: Interactions among 4 trophic levels_ influence of _plants on interactions between insect herbivores and _natural_ enemies. *Annual Review of Ecology*, 11: 42–66.
- Reardon R. C. 1981: Alternative controls, parasites In: The gypsy moth: _research toward integrated pest management. Ed_ by Doane C. C., McManus M. L. _Technical bulletin. United, States _Dept. of Agriculture, Washington, DC, 299–302.
- Reilly. J. R., Hajek A. E., Liebhold. A. M., Plymale R. 2014: _Impact-of-*Entomophaga maimaga* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) on outbreak gypsy moth populations (Lepidoptera: Erebidae): the role of weather. *Biological control: Microbiology*, 43: 632–641.
- Rossiter M. C. 1994: Maternal effects hypothesis of herbivore outbreak. *Bioscience* 45: 753–764.
- Rossiter M. C. Schultz J. C., Baldwin I. T. 1988: Relationships among defoliation, red oak phenolics, - and gypsy moth- growth and reproduction. *Ecology* 69: 267–277.
- Simionescu A. Stefanescu M. 1978: Evolution _des _gradations de *Lymantria dispar* L. dans les forêts de la République _Socialiste de Roumanie de 1972 à 1977 et mesures de lutte. *Zastita Bija*, 38: 151–159.
- Smith H. R. 1985: Wildlife and _the gypsy moth. _Wildlife Society Bulletin, 14: 167–175.
- Somje U., Ablart K., Cespi B., Schafer P. W., Gries G. 2011: Local mate competition in the solitary parasitoid wasp *Ooencyrtus kuvanae*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 65: 1071–1077.
- Sparks M. E., Blackburn M. B., Kuhar D., Gundersen-Rindal D. E. 2013: Transcriptome of the *Lymantria dispar* (Gypsy Moth) larval midgut in response to infection by *Bacillus thuringiensis*. *PLoS ONE*, 8: e6119. DOI:10.1371/journal.pone.0061190.
- Sukovata L., Fuester R. W. 2005: Effects _of gypsy moth _population density_ and host tree species on parasitism. In: 17th U.S. Department of Agriculture interagency research forum on gypsy moth and other invasive species_2005. Ed. by _Gotschalk KW, Gen. Tech Rep. NE-337. U. S. Dept. of Agriculture, Forest _Service, Northeastern- Research Station, Newtown Square, Pa, 78–81.i

- Tabakovic-Tosic M. 2015: Suppression of gypsy moth population in mountain Avala (Republic of Serbia) by introduction of entomopathogenic fungus *Entomophaga maimaiga*. Comptes rendus de l'Académie Bulgare des sciences, 68: 62–67.
- Tobin P.C., Bai B. B., Eitzen D.A., Leonard D.S. 2013: The ecology, geopolitics, and economics of managing *Lymantria dispar* in the United States. International Journal of Pest Management, 58: 195–210.
- Turcáni M., Novotný J., Zubřík M., McManus M.L., Pilarská D., Maddox J. 2002: The role of biotic factors in gypsy moth population dynamics in Slovakia: present knowledge. In: Integrated management and dynamics of forest defoliating insects. Ed. by Liebhold A.M., McManus M. L., Otvos I. S., Fosbrooke S.L.C. Gen. Tech-Rep. NE-267. USA Forest Service, Newton Square, PA, 156–168.
- Vaentin H. T., Wallner W. E., Wargo P.M. 1984: Nutritional changes in host foliage during and after defoliation, and their relation to the weight of gypsy moth pupae. Oecologia 58: 299–303.
- Vann Asch M., Visser M. E. 2008: Phenology of forest caterpillars and their host trees: the importance of synchrony. Annual Review of Entomology, 53: 38–56.
- Walner W.E. 1988: Factors affecting insect population dynamics: differences between outbreak and non-outbreak species. Annual Review of Entomology, 33: 316–342.
- Welenstein G., Schwenke W. 1978: *Lymantria dispar* L. –Schwammspinner– In: Schwenke W. (ed.) Die Forstschädlinge Europas. Vol. II. Hamburg, Parey: 336–348.
- Weseloh R., Bernon G., Butler L., Fuester R., McCullough D., Stehr F. 1996: Release of *Calosoma sycophanta* (Coleoptera: Carabidae) near the edge of gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) distribution. Environmental Entomology, 25: 1714–1716.
- Weseloh R.M., 1985b: Changes in population size, dispersal behavior, and reproduction of *Calosoma sycophanta* (Coleoptera: Carabidae), associated with changes in gypsy moth, *Lymantria dispar* (Lepidoptera, Lymantriidae), abundance. Environmental Entomology, 15, 371–376.

- Weseloh R. M., 1985c: Predation by *Calosoma sycophanta* L. (Coleoptera, Carabidae) - evidence for a large impact on gypsy moth, *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera, Lymantriidae), pupae - Canadian Entomologist, 116: 1118–1127.
- Weseloh R. M. 1994: Behavior of the gypsy moth predator, *Calosoma sycophanta* L. (Carabidae, Coleoptera), as influenced by time of a day and reproductive status. Canadian Entomologist, 126: 889–895.
- Zahradník P. 2006: Úloha pesticidů v ochraně lesa. In: Kapitola P. et al. (eds): Moderní metody ochrany lesa.: Sborník referátů ze semináře 28. setkání lesníků tří generací. : Kostelec nad Černými lesy. 25. února 2006. Zpravodaj ochrany lesa, 12: 12–18.
- Zolubas P., Gedminas A., Shield K. 2002: Gypsy moth parasitoids in the declining outbreak in Lithuania. Journal of Applied Entomology, 126: 228–233.
- Zúbrik M. 1994: Parazitoidy jako súčasť prirodzeného bioregulačného spektra mnišky veľkohlavej *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera). Zprávy lesnického výzkumu, 37: 36–38
- Zúbrik M., Barta M., Pilarska D., Goertz D., Úradník M., Galko J., Vakula J., Gubka A., Rell S., Kunca A. 2015: First record of *Entomophaga maimaiga* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) in Slovakia. Biocontrol Science and Technology, 25: 711–715.
- Zúbrik M., Kalmárová G., 2012: Toxicita vodných výluhov vybraných rastlín pe larvy mnišky veľkohlavej *Lymantria dispar* L (Lep.: Lymantriidae). Lesnícký časopis – Forestry Journal, 58: 43–48.
- Zúbrik M., Novotný J. 1998: Egg parasitization of *Lymantria dispar* (Lepidoptera, Lymantriidae) in Slovakia - Biologia, 53: 344–351.