

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra ochrany lesa a entomologie



Srovnání infekčních hladin patogenů *Ips typographus* (Curculionidae: Scolytinae) v lapačích a lapácích

Diplomová práce

Autor: Bc. Tereza Zeunerová

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

Praha

2014

Czech University of Life Sciences Prague

Faculty of Forestry and Wood Sciences

Department of Forest Protection and Entomology



**Comparison of the pathogen infection levels of
Ips typographus (Curculionidae: Scolytinae) in
pheromone baited traps and trap trees**

Thesis

Author: Bc. Tereza Zeunerová

Supervisor: Mgr. Karolina Lukášová, Ph.D.

Prague

2014

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Katedra ochrany lesa a entomologie

Fakulta lesnická a dřevařská

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Zeunerová Tereza

Lesní inženýrství

Název práce

Srovnání infekčních hladin patogenů *Ips typographus* (Curculionidae: Scolytinae) v lapáčích a lapácích

Anglický název

Comparison of the pathogen infection levels of *Ips typographus* (Curculionidae: Scolytinae) in pheromone baited traps and trap trees

Cíle práce

Zjistit, jak se mění hladina infekce a druhové spektrum patogenů *Ips typographus* získaných pomocí různých odchytových metod (lapáky, lapače).

Metodika

- zpracování materiálu brouků získaného ze tří studijních ploch v České republice, který byl zmražen při teplotě -4°C a do každého vzorku přidán kousek navlhčené gázy proti vysychání tkání
- brouci získáni vždy ze 3 lapáků (*P. abies*) a 3 lapačů typu Theyson instalovaných střídavě v jedné řadě s 20m rozestupy (50-100 matečných brouků z každé připravené pasti)
- analyzovaný materiál - provést pitvu získaných jedinců do kapky vody a mikroskopicky vyšetřit vnitřní orgány
- provést analýzu zjištěných patogenů pod světelným mikroskopem
- statisticky vyhodnotit a graficky vyjádřit výsledky v programu Statistica 10

Harmonogram zpracování

- duben 2013: rešerše literatury
- první polovina května 2013: instalace linie 5 lapačů s odparníky Pheagr IT a 5 lapáků
- květen až červenec 2013: odběry brouků
- srpen-lístopad 2013: pitvy brouků a zpracování výsledků
- prosinec 2013: statistická analýza dat
- leden-duben 2014: příprava diplomové práce

Rozsah textové části

40 stran

Klíčová slova

lapače, lapáky, mikrosporidie, gregariny, virus, Ips typographus

Doporučené zdroje informací

- 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.
- 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.
- Lukášová K. & Holuša J. 2012: Patogeny lýkožroutů rodu *Ips* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae): review. *Zprávy lesnického výzkumu*, 3: 230-240.
- Takov D., Pilarska D., Wegensteiner R. 2010: List of protozoan and microsporidian pathogens of economically important bark beetle species (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Europe. *Acta Zoologica Bulgarica*, 62: 201-209.
- Wegensteiner R. 2004: Pathogens in bark beetles. In: Lieutier F., Day K.R., Battisti A., Grégoire J.C., Evans HF (eds): *Bark and wood boring insects in living trees in Europe, a synthesis*. Kluwer, Dordrecht, pp. 291-313.
- Wegensteiner R., Weiser J., Führer E. 1996: Observations on the occurrence of pathogens in the bark beetle *Ips typographus* L. (Col., Scolytidae). *Journal of Applied Entomology*, 120: 190-204.
- 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.
- 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.

Vedoucí práce

Lukášová Karolína, Mgr., Ph.D.

Konzultant práce

doc. Ing. Jaroslav Holuša, Ph.D.

Termín odevzdání

duben 2014



doc. Ing. Jaroslav Holuša, Ph.D.

Vedoucí katedry



prof. Ing. Marek Turčáni, Ph.D.

Děkan fakulty

V Praze dne 7.11.2013

Abstrakt

Diplomová práce hodnotí patogenní napadení vnitřních orgánů u *Ips typographus* (Curculionidae: Scolytinae) na základě výsledků terénních a laboratorních a vychází též z vědeckých publikovaných prací. Odběry brouků byly provedeny z lapačů a lapáků na třech lokalitách - Pec pod Sněžkou v NP KRNAP dne 26.6.2012, PR Smrk v Beskydech dne 31.5.2012 a Pustá Polom na Opavsku dne 5.8.2010.

V rámci studia bylo vypitváno a mikroskopicky analyzováno 3 098 jedinců lýkožrouta smrkového. Druhové spektrum patogenů *Ips typographus* v podmínkách České republiky na těchto třech lokalitách je velmi rozmanité. Obecně nalézáme druhy hlístic (Nematoda), mikrosporidie (Zygomycota, Microspora) jako např. *Chytridiopsis typographi*, virus *Entomopoxvirus* (ItEPV, Entomopoxviridae), hromadinku *Gregarina typographi* (Apicomplexa, Eugregarinida) a v poslední řadě schizogregarinu (Apicomplexa, Neogregarinida) *Mattesia schwenkei*.

Práce porovnává rozdíl v množství patogenů u *Ips typographus* chycených na lapačích či lapácích. Ze zjištěných výsledků vyplývá, že hladina infekce patogenů *Ips typographus* získaných pomocí lapáků či lapačů se liší. Infikovaní jedinci byli nalezeni více na lapácích, to je potvrditelné z výsledků na dvou lokalitách (Pec pod Sněžkou a Smrk). Naopak na lokalitě Pustá Polom byla nákaza větší na feromonových lapačích. Obecně platí, že množství patogenů ve střevě *Ips typographus* je vyšší ve vzorcích nasbíraných na lapácích, protože některé patogeny a další přirození nepřátelé jim zabrání v dalším letu, a tedy i možnosti chytit se do feromonového lapače.

Klíčová slova: *Ips typographus*, lapač, lapák, patogen, virus

Abstract

The thesis evaluates pathogen occurrence in the *Ips typographus* (Curculionidae; Scolytinae) beetles on the basis of terrain and laboratory testing and is based also on published scientific papers. Collection of beetles was realised from pheromone baited traps and trap trees on three locations - Pec pod Sněžkou in NP KRNAP on 2012-06-26, in NR Smrk in Beskydy on 2012-05-31, and in Pustá Polom in Opava region on 2010-08-05.

Overally 3,098 samples of European spruce bark beetle were dissected and microscopically analyzed within the study. The species spectrum of pathogens *Ips typographus* is greatly diverse in conditions of the Czech Republic above mentioned study sites. Generally we can find various kinds of nematodes (Nematoda), Microsporidia (Zygomycota, Microspora) like *Chytridiopsis typographi*, further we can find various viruses like Entomopoxvirus (ItEPV, Entomopoxviridae), *Gregarina typographi* (Apicomplexa, Eugregarinida), and last but not least schrizogregarine (Apicomplexa, Neogregarinida) *Mattesia schwenkei*.

The thesis compares the difference in pathogens trapped in pheromone baited traps and trap trees. The obtained results indicate that the infections level of pathogens by *Ips typographus* obtained from baited traps and trap trees differs. Infected subjects were found rather on trap trees than on pheromone baited trees - as indicated by two locations (Pec pod Sněžkou and Smrk). On the other hand the location Pustá Polom had higher infection level by pheromone baited traps. Generally, the amount of pathogens in guts of *Ips typographus* is higher by samples collected from trap trees, because some pathogens and other natural enemies prevents them from further flying and so also the possibility to be caught by the pheromone baited traps.

Keywords: *Ips typographus*, pheromone traps, trap trees, pathogen, virus

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Srovnání infekčních hladin patogenů *Ips typographus* (Curculionidae: Scolytinae) v lapačích a lapácích vypracovala samostatně pod vedením Mgr. Karoliny Lukášové, Ph.D. a použila jsem jen prameny, které uvádím v seznamu použitých zdrojů.

Jsem si vědoma, 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 Praze dne 23.4.2014

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucí diplomové práce Mgr. Karolině Lukášové, Ph.D., za odborné vedení, trpělivost, ochotu a věcné připomínky, které mi během zpracování diplomové práce věnovala.

Velké poděkování patří také celé mojí rodině za podporu nejen při zpracování této práce, ale i během celého studia.

Obsah

Abstrakt	5
Abstract	6
Úvod	10
Cíl práce	12
1. Literární přehled	13
1.1 Popis a bionomie <i>Ips typographus</i>	13
1.2 Kontrolní a monitorovací metody	16
1.2.1 Lapače	17
1.2.2 Lapáky	18
1.3 Patogenní organismy <i>Ips typographus</i>	20
1.3.1 Viry.....	20
1.3.2 Prvoci (Protozoa).....	21
1.3.3 Měňavky (Rhizopoda).....	21
1.3.4 Hromadinky (Apicomplexa)	22
1.3.5 Houby (Fungi)	23
1.3.6 Mikrosporidie (Zygomycetes: Microsporidia)	24
1.3.7 Hlístice (Nematoda)	26
2. Metodika	29
2.1 Studijní lokality	29
2.2 Sběr a zpracování vzorků	31
2.3 Analýza dat.....	31
3. Výsledky	32
3.1 Pec pod Sněžkou	32
3.2 Pustá Polom.....	36
3.3 Smrk	39
4. Diskuze	41
5. Závěr	44
6. Literární zdroje	46

Úvod

Lýkožrout smrkový *Ips typographus* (Linné, 1758) je nejvážnějším škůdcem napadající smrkové lesy v Eurasii (Christiansen & Bakke 1988). Již ze sedmnáctého století jsou zprávy o jeho kalamitních přemnoženích v původních lesích střední Evropy. Ve dvacátém století našel příhodné podmínky pro svůj vývoj zvláště ve smrkových monokulturách, jimiž byly nahrazeny či postupně změněny původní smíšené lesy. V dnešní době často dochází k přemnožení lýkožrouta smrkového v důsledku narušení rovnováhy v lesním ekosystému.

Počet prací, uveřejněných o lýkožroutu smrkovém a o jeho přemnoženích, je úměrný jeho ekonomickému významu (Wermelinger 2004). V obdobích zvýšeného nebo zvláště kalamitního výskytu počet studií prudce stoupá.

K podstatnému rozšíření poznatků o kalamitách lýkožrouta smrkového došlo po druhé polovině dvacátého století, kdy byly objeveny feromony, tj. látky, které lákají samce k samicím či hmyz k živné rostlině. Tyto látky, jež jsou používány jako kontrolní metoda, lákají jak samce lýkožrouta smrkového, tak i samice, a proto je lze použít nejen ke kontrole výskytu tohoto druhu, ale i k boji s ním, a to snižováním jeho populační hustoty v přírodě. Po objevu této možnosti se počet prací o lýkožroutu smrkovém nesmírně zvýšil (Skuhrový 2002).

V lesnickém managementu monitorujeme stavy lýkožroutů pouze pomocí klasických metod, jako jsou lapáky, otrávené lapáky, feromonové lapače či letecké snímkování. Nejúčinnější ochrana porostů zůstává díky včasné asanaci veškerého napadeného a pro kůrovce atraktivního dříví, které jim umožňuje dostatečný prostor pro rozmnožování a vývin nové generace (Wermelinger 2004).

Management v chráněných územích a národních parcích navíc doporučuje pouze používání metod šetrných k životnímu prostředí, zároveň se vyhýbá použití chemických ošetření, včetně feromonů. Procento populace, které je odchytáváno do feromonových lapačů je relativně nízké (Duelli et al. 1997). V situaci, která je momentálně například na Šumavě, není používání feromonových pastí mimo bezzásahových zón vhodné. Feromonové lapače představují silný zdroj atraktantů, které za určitých okolností způsobují rozsev lýkožrouta z oblastí s vysokou četností do oblastí s nižší četností. Tyto atraktanty ale mohou někdy pocházet i z nečekaných zdrojů, jako jsou repelenty proti zvěři (Bednarz et al. 2011).

I přes téměř dvacetiletý intenzivní výzkum patogenů lýkožroutů rodu *Ips* (Wegensteiner 2004; Takov et al. 2006; Burjanadze & Goginashvili 2009; Unal et al. 2009; Takov et al. 2010; Wegensteiner et al. 2010; Lukášová & Holuša 2011; Michalková et al. 2011; Takov et al. 2011;

Holuša et al. 2012) chybí stále řada informací o vlivu přítomnosti patogenů na fertilitu, vitalitu, přezimování či letovou aktivitu infikovaných škůdců. Nejasnosti se také objevují u přenosu nákazy mezi jednotlivci i generacemi. Vyřešena není ani otázka optimální velikosti vzorku hmyzu pro studium patogenů či sezónní změny v hladinách infekce.

Pro každý patogenní organismus stejně jako pro každého hmyzího hostitele je potřeba tyto vlastnosti analyzovat zvlášť, což otevírá nové možnosti studia patogenů lesních škůdců i dalších na ně vázaných organismů. Avšak z faunistického hlediska jsou patogeny popsány dobře (Wegensteiner 2004; Takov et al. 2010; Takov et al. 2011) a mnohdy je i úspěšně prostudována jejich ultrastruktura (Weiser & Wegensteiner 1994; Weiser et al. 1998; Weiser et al. 2003; Weiser et al. 2006) a životní cyklus (Purrini & Žižka 1983; Holuša et al. 2007; Tonka et al. 2010).

V této práci jsem se zaměřila na další neprozkoumaný aspekt patologie kůrovců, kterým jsou rozdíly v infekčních hladinách patogenů při použití různých odchyťových metod na lýkožrouta smrkového.

Cíl práce

1. Zjistit, jak se liší hladina infekce patogenů *Ips typographus* získaných pomocí různých odchyťových metod (lapáky, lapače).
2. Určit druhové spektrum patogenů *Ips typographus* v podmínkách České republiky na třech lokalitách - Pec pod Sněžkou, Smrk a Pustá Polom.
3. Definovat morfometrii vybraných patogenů *Ips typographus* použitím fotografií a změření velikosti spor.

1. Literární přehled

1.1 Popis a bionomie *Ips typographus*

Lýkožrouti rodu *Ips* patří mezi významné škůdce jehličnatých porostů v Evropě (Pfeffer & Knížek 1995; CABI/EPPO 1997; Grodzki 1997; Grodzki 2003; Holuša et al. 2003; OEPP/EPPO 2005; Mazur et al. 2006; Wermelinger et al. 2008).

Lýkožrout smrkový, latinsky *Ips typographus*, byl popsán Linéem v roce 1758. Je náš nejznámější a nejrozšířenější sekundární monofágní škůdce starších horských dřevin, který nadělá každým rokem nemalé škody díky rychlému vývoji. Radíme ho do třídy Hmyz (Insecta), do řádu Brouci (Coleoptera), čeleď Nosatcovití (Curculionidae), rod *Ips* (De Geer, 1775), druh lýkožrout smrkový *Ips typographus* (Forst et al. 1985).

Ips typographus je jedním ze šesti zástupců rodu *Ips* u nás, nejpodobnější morfologicky jsou lýkožrout severský *Ips duplicatus* (C.R. Sahlberg, 1836), lýkožrout menší *Ips amitinus* (Eichhoff, 1871) a lýkožrout modřínový *Ips cembrae* (Heer, 1836). Tyto druhy tvoří skupinu vyznačující se čtyřmi páry zoubků na konci krovek. Podle počtu zoubků je *Ips typographus* v německém názvosloví nazýván osmizubým kůrovcem, běžnější je však název „Der Buchdrucker“, v angličtině je nazýván „The spruce bark beetle“ (Skuhřavý 2002).

Kromě mnoha jiných znaků rozlišení od jednotlivých druhů jsou nejvýznamnějším rozlišovacím znakem od všech zástupců této skupiny hladká netečkovaná mezirýží a typické žluté ochlupení. Matná část zkosené zadní části krovek s nevýrazným hrbolkem uprostřed čela je odlišuje od všech zástupců rodu *Ips*. Ostatní druhy mají tuto část lesklou (Pfeffer 1989).

Lýkožrout smrkový je malý nenápadný brouk, lesklý, černohnědé barvy, se světle žlutými chloupky. Dosahuje délky 4,8 - 5,5 mm, široký je 1,9 mm. Má paličkovitá tykadla s lomeným švem. V přední části těla má štít hrbolkatý, v zadní části jemně tečkovaný. Mezi řádkami teček jsou hladké mezery. Zád' je vroubená, na každé straně se čtyřmi zuby, z nichž třetí odshora je největší (Pfeffer 1993).

Vajíčko lýkožrouta je eliptické, nepatrné velikosti o rozměrech pouze 0,6 x 0,9 mm, bílé barvy. Larva je dlouhá 4 - 5 mm, je také bílé barvy, beznohá, s hnědavou hlavovou schránkou. Kukla měří asi 4 mm a je mléčně bílé barvy. Zřetelně se na ni rýsují tykadla, nohy a křídla. Vývoj je tedy dokonalý. Samice lýkožrouta se od samce liší větší hustotou chloupků na přední části pronota a rýhami pod ústním ústrojím.

Daleko méně vhodné k odlišení pohlaví jsou podle Schlytera a Cederholma (1981) další znaky, například výraznější hrbolek na horní části hlavy nad mandibulami u samců či třetí zub na zadní části krovek, který má být u samců větší než u samic. Tyto znaky se překrývají u 22% až 84% jedinců (Skuhrový 2002).

Vyskytuje se v polohách nad 600 m.n.m. Napadá především šedesátileté a starší smrčiny, výjimečně borovici a modřín, hlavně silné kmeny nad 10 centimetrů tloušťky, i pokácené. Výskyt přednostně na rozhraní zelených a suchých větví, směr šíření je nahoru i dolů, na porostních stěnách jižní až jihozápadní expozice, místa s nižším zakmeněním, zlomy a vývraty. Při přemnožení napadá i neosluněné zdravé porosty, popř. modřín a borovici a stává se primárním škůdcem. Dospělci se začínají objevovat zhruba od konce dubna do začátku května na svém zimovišti, tj. na stromě, kde se vyvinuli. Začínají se rojit, dospělci vylétí a napadají poražené, poškozené či chřadnoucí stromy, vyhledávají vhodné hostitelské stromy (často stresované václavkou smrkovou) (Holuša & Liška 2002).

Po nalezení hostitelské dřeviny vylučují brouci agregační feromon, který láká samce i samice stejného druhu za účelem překonání obranných mechanismů stromu k páření. Samci lýkožroutů si konkurují o bezpečný prostor pro páření a kladení vajíček. Po dobu svého života žijí zavrtaní pod kůrou stromů, kde se živí lýkem, čili transportním pletivem stromů a tím poškodí celý strom, který začne usychat a uhyne. Hostitelská dřevina má mnoho možností obrany proti tomuto škůdci. Ve chvíli, kdy se lýkožrout zavrtá do kůry a naruší pryskyřičné kanálky, začne se na něj valit míza, která ho doslova přilepí a vetřelec tak zahyne. Zdravé stromy dokáží takto odolat náletu mnoho kůrovců. Jakmile nastane kalamita a na strom zaútočí i několik tisíc jedinců, ani ten nejstatnější strom se neubrání (Skuhrový 2002).

Pod kůrou si brouci hloubí tzv. „snubní komůrku“. Potom začne samec vylučovat sexuální atraktant, což je výměšek trávicího ústrojí. Na tento atraktant přiletí přilákané samice, většinou dvě a vyhloubí si „matečnou chodbu“, do které postupně kladou vajíčka (Holuša et al. 2003; Wermelinger 2004). Mateční chodba je rovná a samice střídavě, vodorovně s lýkovými vlákny vyhloubávají jamky, do nichž nakladou po 1 vajíčku, které obkládají drtí. Jedna samice může naklást až 60 vajíček. Po naklazení vajíček samice prodlužuje matečnou chodbu (Wermelinger 2004).

Za 2 až 3 týdny po základním rojení zakládá 10 až 90 procent samiček sesterské pokolení, kde je již počet vajíček nižší.

Děje se tak po úživném žíru, tj. prodloužení mateřské chodby, kdy klade bez nové kopulace další vajíčka do nového požerku na stejný, nebo jiný strom. Tento požerek nemá snubní komůrku, ale po kopulaci s dalším samcem se v nové snubní komůrce může vytvořit normální požerek (Forst et al. 1997).

Vylíhlé larvy vyhlodávají kolmo na mateční chodbu svou chodbu, tzv. larvovou. Na konci této chodby se nachází kukelná kolébka, ve které se zakuklí. Vývoj za normálních podmínek trvá asi 10 týdnů. Stádium vajíčka trvá asi 12 dní, stádium larvy 24 dní, stádium kukly 12 dní a dospívání 24 dní. Larva, kukla i dospělec přezimují v hrabance i pod kůrou smrku. Požerek lýkožrouta je jedno až tři ramenný, 6 - 12 cm dlouhý, svislý a má větrací otvory, kterými dospělec vylétá (Skuhřavý 2002).

1.2 Kontrolní a monitorovací metody

Při základním stavu (latenci) se výskyt lýkožrouta smrkového kontroluje při pochůzkách. Doplňkové kontroly jsou pomocí lapáků a lapačů obdobně jako při zvýšeném stavu. Při tomto zvýšeném stavu se výskyt lýkožrouta kontroluje pomocí lapáků a lapačů ve všech porostech starších 60 let (při kalamitním přemnožení podle potřeby i v porostech mladších) se zastoupením smrku nejméně 20%. Lapače i lapáky se v porostu instalují na nejohroženější místa. Jeden lapák či lapač se instaluje na 5 ha porostu. V tomto případě plní kontrola částečně i funkci obrannou. Při zjištění náhlých skutečností, např. nárůst napadených stromů, zvýšení odchytů apod., je potřeba přijmou náhlá a rázná obranná opatření vedoucí k zastavení dalšího nárůstu populace škůdce (Zahradník 2006).

Účinná obranná opatření proti *Ips typographus* jsou postavena na třech hlavních principech. Zahrnují preventivní opatření i kurativní zásahy. Zaprvé jde o včasné (před začátkem rojení) zpracování veškerého dříví vhodného pro namnožení a vývoj lýkožrouta (např. větrné polomy apod.). Za druhé včasná asanace či odstranění veškerého materiálu napadeného lýkožroutem před dokončením vývoje, nejlépe ve stádiu larev. A za třetí jde o soustředění a hubení lýkožrouta v ohniscích žíru, např. lapáky, feromonovými lapači, otrávenými lapáky apod. (Zahradník 2006).

Kontrolní metodou výskytu lýkožrouta smrkového je použití lapáků, lapačů a otrávených lapáků. Kromě funkce kontrolní a monitorační zastávají i funkci hubící či obrannou. Obě metody se umísťují na jaře a v létě v počtu minimálně jeden kus na každých pět hektarů lesního porostu nad 60 let věku se zastoupením smrku nad dvacet procent. Současně se celoročně sleduje výskyt tzv. kůrovcových stromů, tedy stromů napadených lýkožroutem, a zabezpečuje se jejich včasná asanace. Využití lapáků a feromonových lapačů v obraně proti lýkožroutu smrkovému lze chápat jen jako doplňkové metody, umožňující dočist'ovat jednotlivá ohniska žíru, případně v latenci napomáhat snižování již tak nízké populační hustoty (Zahradník 2006).

Obecně jsou účinná obranná opatření proti lýkožroutu smrkovému založena na preventivních a supresivních zásazích, jejichž použití zabezpečuje úspěšné zamezení nástupu nebo potlačení gradace.

Zejména jde o včasné zpracování veškerého dříví vhodného pro vývoj a namnožení lýkožrouta, například sněhové a větrné polomy, před začátkem jeho rojení, bezodkladné odstranění (nebo asanace) veškerého dříví napadeného lýkožroutem před jeho vyrojením,

hubení a soustředění jedinců v ohniscích žíru pomocí lapáků a feromonových lapačů, včasné odstranění veškerého vytěženého dříví, oslabených stromů a polomů, a to před začátkem jeho rojení.

K supresivním opatřením jsou využívány feromonové lapače, lapáky, otrávené lapáky a další méně tradiční metody. Otrávený lapák je skácený odvětvený smrk nebo jeho část optimální délky 4 metry, který je celopovrchově ošetřený vhodným insekticidem těsně před předpokládaným začátkem rojení lýkožrouta a opatřený feromonovou návnadou. Použit se mohou i čerstvá jednometrová polena sestavená do trojnožek s odparníkem umístěným pod vrcholem (Lubojacký & Holuša 2011). K netradičním způsobům ochrany patří také metoda usměrňování náletu kůrovců na okraje smrkových porostů. Používá se v porostech, kde je v běžném roce plánovaná obnovní těžba, v porostech s kalamitním stavem napadení lýkožroutem, kde by s nejvyšší pravděpodobností i při uplatnění klasických metod došlo k napadení porostních stěn, dále v porostech s rozsáhlou živelnou kalamitou pro usnadnění náletu v souladu s postupem těžebních prací. Princip metody spočívá v tom, že se v určených porostech na první řadu stromů navěsí feromonové odparníky v počtu 3 až 5 na každé uměle zřízované ohnisko (Skuhřavý 2002).

1.2.1 Lapače

Feromonové lapače se objevily v ochraně lesa proti lýkožroutu smrkovému na přelomu 70. a 80. let 19. století poté, co byly identifikovány a synteticky vyrobeny agregační feromony lýkožrouta smrkového (Vité et al. 1972; Bakke 1968; Bakke 1976). Velmi rychle se začaly používat v ochraně lesa a úspěšně se například podílely na likvidaci kalamity ve Švédsku (Bakke et al. 1983), v České republice a Německu.

Feromonové lapače se kontrolují pravidelně v intervalu 7 až 10 dní. Při vrcholu rojení a při vysokých odchycích se doporučuje intervaly zkrátit. S feromonovými lapači se současně kontroluje i případný výskyt lýkožrouta smrkového na okolních stromech (Zahradník 2006).

Za slabý stupeň odchytu lze považovat množství do 1000 jedinců. V tomto případě se mohou lapače zrušit nebo přemístit na vhodnější lokalitu. Při středním stupni odchytu, tj. 1000 až 4000 jedinců, by počet lapačů měl zůstat stejný.

Při silném odchytu nad 4000 jedinců se doporučuje počet lapačů zvýšit přiměřeně. Lapače se instalují 14 dní před předpokládaným rojením, feromonová návnada se vyvěšuje až těsně před počátkem rojení. Feromon láká obě pohlaví (Zahradník 2006).

Vývoj feromonových lapačů i feromonových odparníků prodělal značný vývoj, který do určité míry probíhá stále. Zatímco ve Skandinávii se ustálilo používání trubicových přistávacích lapačů (Bakke et al. 1983), ve střední Evropě většinou používáme bariérové nárazové lapače (Niemeyer 1985a, 1985b, 1987b; Novák 1985; Zahradník et al. 1991).

Podle údajů různých autorů není možné vycytat více než 10 - 30% lokální populace, s přihlédnutím k počtu lapačů a vzdálenosti feromonových lapačů od místa výletu brouků do 100 - 500 metrů (Helland et al. 1984). Při těchto experimentech byly využívány již prolétání jedinci, přičemž Duelli et al. (1997) prokázali rozdíly v odchycích do feromonových lapačů u prolétaných a neprolétaných jedinců. To potvrzuje i model Gries (1985), kdy po vylétnutí pouze 26% jedinců je schopno reagovat okamžitě na feromony a nalétává tak bezprostředně na stromy v okruhu do 500 metrů. Zbývající část populace, tj. 74%, musí napřed během letu snížit objem tukového tělesa. Nalétá tak 20 km a průměrná letová vzdálenost je zde asi 7 km (Skuhřavý 2002).

Značný význam má i „čistota porostu“, tzn. přítomnost přirozených zdrojů agregačních feromonů lýkožrouta smrkového (Zahradník et al. 1991). V porostu bez přirozených zdrojů agregačních feromonů bylo zachyceno sedmkrát více lýkožroutů než v porostech s přirozenými zdroji agregačních feromonů. Lapače by měly být od nejbližšího smrku staršího 40 let nebo od porostní stěny vzdáleny v rozmezí 10 až 25 metrů, mimo dosah buřeně, nejméně 20 metrů od sebe. Úspěšnost odchytu je okolo 10%. Poměr pohlaví (sexuální index) je 1 samec : 2 samicím. V přírodě v populaci poletujících brouků připadá přibližně jeden samec na jednu samici, tedy poměr pohlaví 1:1. Naproti tomu na stromech je poměr samců k samicím 1:2 až 1:3 (Skuhřavý 2002).

1.2.2 Lapáky

Lapáky jsou zdravé, skácené a odvětvené smrky nebo jejich části o výčetní tloušťce nejméně 20 centimetrů, které jsou atraktivní pro lýkožrouta smrkového. Zakrývají se po celé délce větvemi, a tak se chrání proti předčasnému vysychání. Lapáky jsou používány již od dob Ratzeburga, tj. první polovina 19. století (Skuhřavý 2002).

Lapáky využívají tzv. primární atraktanta, neboli uhlovodíkové terpeny, které se uvolňují z vadnoucích stromů. Lapáky první série se připravují nejpozději v březnu k zachycení první generace a přerojujících se imág sesterské generace. Umisťují se na okraj porostů, dvě třetiny z počtu na výsluní a jedna třetina do polostínu.

Lapáky druhé série se připravují nejpozději týden před předpokládaným letním rojením druhé generace. Umisťují se do polostínu, celé se zakrývají větvemi pro atraktivnost a podkládají se pro zvětšení účinné plochy. Vybírají se zdravé stromy, nejlépe se šupinatou borkou bez prosmolů (Skuhravý 2002).

Při zvýšeném a kalamitním stavu se pokládají další lapáky, nebo se instalují lapače a to v poměru 1:8, tj. 1 lapák (lapač) na 8 včas zpracovaných lapáků a v poměru 1 až 2:1 k počtu nezpracovaných lapáků nebo kůrovcových stromů opuštěných lýkožroutem v loňském roce. Lapáky se kácí v tzv. sériích dle postupu jejich napadení, u lapačů se v závislosti na výši odchyť lýkožroutů přidávají další lapače (Skuhravý 2002).

Lapáky se také pravidelně kontrolují v intervalu 7 až 10 dní. Za slabý stupeň odchyty lze považovat množství do 1000 kusů v jarním rojení a do 500 kusů v letním rojení. V tomto případě se mohou lapáky přemístit na vhodnější lokalitu. Při středním stupni odchyty, tj. 1000 až 4000 jedinců v jarním rojení a 500 až 1500 kusů v letním rojení, zůstává počet lapáků stejný. Při silném odchyty nad 4000 jedinců v jarním rojení a nad 1500 kusů v letním rojení, se doporučuje počet lapačů zvýšit přiměřeně. Stupně napadení lapáku jsou slabý do 0,5 závrtu na 1 dm², střední od 0,5 do 1 závrtu na 1 dm² a silný při více než 1 závrtu na 1 dm² (Zahradník 2006).

1.3 Patogenní organismy *Ips typographus*

V současné době je známo několik desítek druhů patogenních organismů a hlístic u rodu *Ips*, z nichž je deset popsáno u lýkožrouta smrkového *Ips typographus* (Wegensteiner 2004; Takov et al. 2010). První popisy jsou známy z počátku 20. století (Fuchs 1915), další až z poloviny 20. století. Intenzivně jsou však nemoci studovány od poloviny 90. let (Wegensteiner 2004). V té době bylo objeveno nejvíce druhů, naposledy v roce 2006 (Weiser et al. 2006). Přehled všech nemocí byl zpracován Takovem et al. (2010).

U většiny patogenů jsou jen zřídka k dispozici informace o vlivu na jedince či populace, většina experimentů probíhá pouze v laboratorních podmínkách a terénní studie prakticky chybí (Wegensteiner 2004). Ve většině případů známe však jen ultrastrukturu nemocí a výši infekčních nákaz různých populací bez vztahu k početnosti hostitele. Neznáme u většiny druhů také vývojové cykly nebo probíhá v současné době jejich výzkum. Ještě slabší jsou informace o hlísticích, všechny druhy vázané na rod *Ips* byly zpracovány v monografii Rühma (1956) a práci Grucmanová & Holuša (2013). Poslední shrnutí na téma znalostí o patogenech u *Ips typographus* se objevilo v práci Weisera (2002) a Wegensteiner (2004).

1.3.1 Viry

Virová onemocnění jsou velmi specifická a selektivní, způsobují rozpad hostitelských tkání v kalnou tekutinu. Bílkovinné polyedry způsobují mléčné zbarvení. Tyto polyedry se vyskytují před úhynem jedince v tukovém tělese. Nejčastějším hostitelem je housenka motýlů. Vnější příznakem patogenu je masové hynutí larválních instarů na vrcholcích listů či větví (Weiser 1966). Kultivace virů se provádí laboratorně, protože vyžaduje přesné technologické postupy.

Jediným virem známým u *Ips typographus* a dalších jedinců rodu *Ips* je *Entomopoxvirus typographi* (ItEPV). Projevuje se tvorbou bílkovinných světlolomných inkluzí ve stěně střeva dospělců, jiné orgány nenapadá (Weiser & Wegensteiner 1994; Wegensteiner & Weiser 1995). Čočkovité inkluze obsahují větší množství hranatých virových částic (sendvičovitého tvaru), postupně vyplňují střevní epitel a uvolňují se s výkaly (Wegensteiner 2004). Může dojít k perforaci střeva či k úmrtí hostitele. V České republice je tento virus zaznamenán na Šumavě (Weiser et al. 2000; Weiser 2002), přenáší se trusem a předává se během úživného žíru. Aplikace infekce byla dosažena ošetřenými poleny lapáku (rozdrcení nakažení jedinci) (Pultar & Weiser 2004).

I další práce studují efektivitu těchto přenosů a vlivu na dospělé, nepřinesly však uspokojivé výsledky (Holuša et al. 2004).

Svémi vlastnostmi (účinnost, selektivita) patří viry mezi nejvhodnější potenciální prostředky biologického boje s lesními i zemědělskými škůdci. Výsledky terénních pokusů však nejsou momentálně uspokojivé, předběžné výsledky naznačují, že viry nebudou efektivní v boji proti *Ips typographus*, jejich aplikace naráží na obtížnou izolaci a komplikaci při výrobě (Holuša et al. 2004).

1.3.2 Prvoci (*Protozoa*)

Mezi závažné patogeny lesních a zemědělských škůdců řadíme také prvoky, především hromadinky, měňavky a kokcidie (Weiser 1966). Jejich význam v biologickém boji proti škůdcům je však omezený. Některé druhy, například gregariny, jsou někdy označovány jako komenzální organismy a neogregariny, napadající tukové těleso. Velmi špatně se šíří (prakticky dojde k předání nákazy až po uhynutí a rozkladu hostitelských částí). S druhem *Malamoeba scolyti* (Purrini 1978) a *Menzbieria chalcographi* (Weiser 1955) byly provedeny jedny z prvních infekčních pokusů u kůrovce *Pityogenes chalcographus* (L., 1761) (Purrini & Führer 1979). Kokcidie se u rodu *Ips* nevyskytují (Holuša et al. 2012).

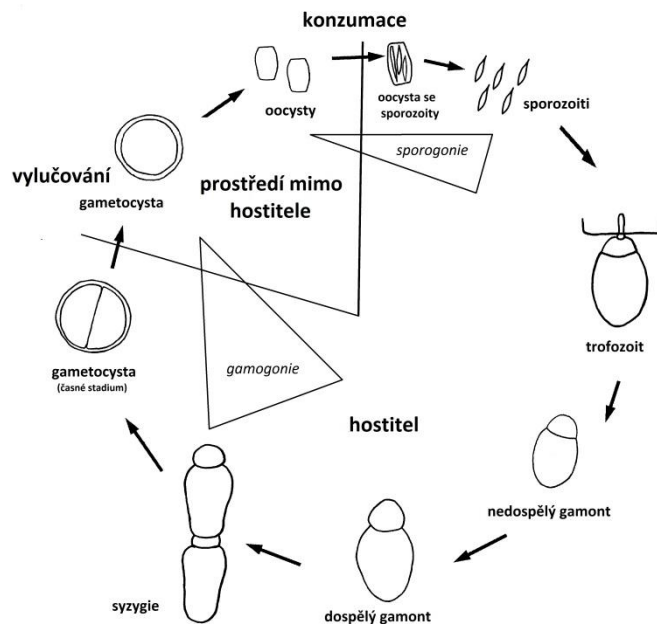
1.3.3 Měňavky (*Rhizopoda*)

Měňavky rodu *Malamoeba* se usazují v Malphigických trubicích a střevě, u *Ips typographus* se jedná o druh *Malamoeba scolyti* (Rhizopoda, Amoebidae) popsáný poprvé u druhu *Dryocoetes autographus* (Ratzeburg, 1837). Potvrzen byl nález u dvou druhů lýkožroutů: u *Ips typographus* ve střevě (Wegensteiner 1994; Wegensteiner et al. 1996; Händel et al. 2001) a také u *Ips acuminatus* (Zitterer 2002). Životní cyklus *Malamoeba scolyti* u *Dryocoetes autographus* popsali Purrini & Žižka (1983). Tento nejběžnější patogen se vyznačuje vejčitými velkými cystami, které odcházejí z těla hostitele přes zadní střevo spolu s trusem. Může dojít k ucpaní trubice, pokud se namnoží. Tím je znemožněno vyměšování odpadních látek z těla (Weiser 2002). Byla dokonce provedena experimentální infekce dalších kůrovců, včetně zástupců rodu *Ips* (*Ips typographus*, *Ips acuminatus*, *Ips sexdentatus*) a na rozdíl od kontrolních jedinců došlo ke zkrácení délky života jednotlivce zhruba na polovinu (Kirchhoff & Führer 1990).

1.3.4 Hromadinky (*Apicomplexa*)

Hromadinky jsou obligátní parazité bezobratlých (Théodoridés 1984). Nové druhy řádu Eugregarin jsou obecně popisovány na základě určitých kritérií jako je obecná morfologie, morfometrie, tvar epimeritu, velikost, tvar a načasování spojení gamontů (Smith & Cook 2008). Dnes je popsáno více než 1 700 druhů gregarin a zhruba 3 200 hostitelských druhů (Clopton 2000). Zástupci těchto parazitů se 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 celé řady zástupců podčeledi Scolytinae (Takov et al. 2007, 2010; Yaman 2007, 2008; Holuša et al. 2009; Kereselidze et al. 2010). Gregariny mají několik vzhledově odlišných stádií, mají přímý vývojový cyklus (Obr. 1), nemají žádného mezihostitele nebo vektor přenosu (Clopton & Gold 1996). Kůrovci se infikují z nakaženého trusu, požitím oocyst, ze zbytků těla uhynulých jedinců a kanibalismem při tvorbě požerku a při zralostním žíru. Po požití oocyst je aktivována excystace ve střevním epitelu, uvolnění sporozoiti v trávicí soustavě prodělávají vnitrobuněčný vývoj mezi mikrovily střevního epitelu (Tronchin & Schrével 1977) a dorůstají do tzv. trofozoitů. Trofozoiti jsou se střevním epitelem spojeni pomocí epimeritu (Omoto et al. 2004; Smith et al. 2007; Valigurová et al. 2009) a prodělávají extracelulární růst. V pohlavní fázi se vždy dva trofozoiti spojí do dvojic jako haploidní gamonti, tento proces je nazýván syzygie a je zakončen vznikem reproduktivní gametocysty. Tato gametocysta vychází z těla hostitele spolu s trusem. Ve vnějším prostředí probíhá poté mixie a sporogonie. Gametocysty po uzrání praskají a celý cyklus začíná znovu (Clopton & Gold 1996; Omoto et al. 2004; Toso & Omoto 2007). *Gregarina typographi* není pravděpodobně velmi virulentní patogen podle současných studií (Yaman 2007; Wegensteiner et al. 2010). Gregariny obecně způsobují fyziologická a mechanická poškození střevního epitelu, ovlivňují vylučování metabolitů a toxinů během procesu pinocytózy. Vývoj trofozoitů poškozuje buňky ve střevním epitelu a tím poskytuje vstupní bránu do tělní dutiny pro další patogeny (Lipa 1967; Tanada & Kaya 1993). Při vysokém počtu trofozoitů může jedinec zemřít na ucpání střeva (Ceryngier & Hodek 1996).



Obr.1 Životní cyklus *Gregarina typographyi* (autor schéma: J. Holuša).

Tukové těleso hostitelských druhů hmyzu je napadáno a ničeno také schizogregarinami (Apicomplexa, Neogregarinida). Během merogonie a sporogonie patogenu způsobuje toto onemocnění lýzi buněk tukového tělesa (Perkins 2000), čímž zřejmě zvyšuje úmrtnost přezimujících jedinců.

Menzbieria chalcographi sporuluje v kulovitých cystách s třiceti sporami. V nakaženém jedinci se cysty rozpadají na protáhlé vejčité až člunkovité spory, jejich počet dosahuje až sto tisíc. Uvolní se až po uhynutí hostitele. Po úživném žíru nakažení jedinci obvykle nevlétávají a zůstávají v chodbičkách, k přenosu tak dochází až po rozložení jedince (Weiser et al. 2000). Obecně jde o poměrně vzácný patogen u rodu *Ips* (Wegensteiner & Weiser 2004; Holuša et al. 2009). Uměle lze nákazu rozšířit postříkem suspenze nakažených jedinců na povrch lapáku (Holuša & Weiser 2005).

1.3.5 Houby (*Fungi*)

Houbové onemocnění je spíše sekundárním faktorem objevujícím se až po úhynu jedince způsobeným jiným faktorem, např. poškození či přehřátí. Mezi hlavní houbová onemocnění patří *Beauveria bassiana* (Bals.) a *Beauveria brongniartii* (Sac.), které pokrývají tělo hostitele hustým bílým povlakem mycelií a konidii (tzv. bílé muskardiny). *Beauveria bassiana* byla popsána jako patogen vyskytující se u více než sto druhů hmyzu (Hájek & St. Leger 1994).

Beauveria bassiana je potencionálním nástrojem biologické kontroly pro mnoho hospodářských škůdců a je také hodnocena jako náhrada za běžně užívané chemické pesticidy (Roberts & Hájek 1992). Objevuje se v lesních biotopech průkazně více, zatímco houba *Metarhizium anisopliae* (Metch.) více v zemědělských biotopech (Vanninen 1996; Bidochka et al. 2002).

V České republice byl registrován biopreparát Boverol, který obsahuje prášek s konidii entomopatogenní houby *Beauveria bassiana*. Tento preparát byl primárně určen k likvidaci mandelinky bramborové, ale je účinný i proti dalším škůdcům, např. housenicím pilatek, obalečům, ponravám chroustů (školky i koruny stromů), a larvám v půdě (klikoroh, ponravy) (Weiser 1966). Využívání tohoto preparátu na obranu proti *Ips typographus* je rozšířeno zejména v Německu, Švýcarsku a Rakousku, na úrovni experimentální je tato houba zkoušena i v dalších zemích, jako např. v USA, Austrálii, Finsku či Polsku. Nejčastěji je aplikována pomocí vodní suspenze spor na povrch napadených stromů nebo stromových lapáků (Weiser 1966).

Mezi další houbové entomopatogeny řadíme kvasinku *Metschnikowia typographi* (Ascomycota: Metschnikowiaceae), jedná se o příležitostní patogen v hemolymfě a střevním epitelu kůrovců (Weiser et al. 2003).

1.3.6 Mikrosporidie (*Zygomycetes: Microsporidia*)

Jedná se o skupinu striktně intracelulárních parazitů, která byla dříve řazena k prvokům, ale dnes je považována za primární houby (Corradi & Keeling 2009; Redhead et al. 2009). Jedná se o 1 300 druhů oficiálně popsaných, což je rovno 160 rodům (Wittner & Weiss 1999). Mikrosporidie se nejčastěji vyskytují u lesních a zemědělských hmyzích škůdců, vyvíjejí se ve všech tkáních a vývojových stádiích hostitele. Pozřením nakažené potravy dochází k infekci nejčastěji (Holuša & Weiser 2005). V případě velmi silné infekce mohou mikrosporidie napadnout vaječníky a objevuje se transovariální přenos (Weiser et al. 2000; Phelps & Goldwin 2008).

Mikrosporidie mají uniformní životní cyklus (Cali & Takvorian 1999). Zralá spora obsahuje vystřelovací aparát, který je typický.

Jeho hlavní složkou je v klidovém stádiu spirálně svinutá pólová trubice, posteriorní vakuola a polaroblast, tj. systém membrán ohraničený dutinami v přední části spory,

většinou objemná struktura obklopující rovnou část pólového vlákna a končící na úrovni prvního závitů vlákna (Franzen 2004, 2005; Xu & Weiss 2005; Delbac & Polonais 2008).

Klíčící spora vstříkne svůj obsah ve formě malé buňky do cytoplasmu hostitelské buňky, sporoplasma roste a dělí se pomocí merogonie na buňky zvané merogonti, které se dále dělí a vyplňují cytoplasmu hostitelské buňky. Na základě neznámého signálu je spuštěna syntéza bílkovin, které tvoří stěny spory, buněčnou stěnu obsahující chitin a specifické proteiny mikrosporidií (Bohne et al. 2000; Hayman et al. 2001; Brosson et al. 2005; Peuvrel - Fanget et al. 2006), jež jsou postupně ukládány na plasmatické membráně stádia sporontů. Sporonti se mohou na chvíli ještě rozdělit pomocí procesu sporogonie, ale nakonec každá sporontní buňka dává vzniknout komplexnímu složení spory včetně vystřelovacího aparátu. Výsledkem vnitřní diferenciací jediné buňky je spora, která se jako jediná fáze objevuje volně a je to stadium, které je zodpovědné za šíření patogenu (Vávra & Larsson 1999).

U kůrovců je známo několik druhů mikrosporidií, které napadají střevní epitel středního střeva, dostávají se do vaječnic a jsou předávány larvám (Weiser et al. 1998; Weiser 2002; Wegensteiner 2004). Mortalita a výskyt onemocnění se neprojevuje u larev. Hodnotu infekční hladiny nad 30% u viru a mikrosporidií považuje Weiser (2002) bez hlubšího výzkumu za příznak nastupujícího zániku ohniska přemnožení jedinců pomocí přirozené regulace populace.

Zástupce *Unikaryon montanum* (Weiser, Wegensteiner & Žižka 1998) je nalézán v tukové tkáni, Malphigických trubicích a vaječnicích u *Ips typographus* (Wegensteiner & Weiser 2004).

Nosema typographi (Weiser, 1955) je lokalizován v ovariích, tukové tkáni a Malphigických trubicích. Dvoujaderné spory odcházejí trusem (Purrini 1978; Wegensteiner & Weiser 1996b). V populacích *Ips typographus* je přemnožení velmi nízké okolo 2% i méně (Wegensteiner & Weiser 1996b, Händel et al. 2003).

Chytridiopsis typographi (původně *Haplosporidium typographi*) je nejběžnější mikrosporidie a vyznačuje se tvorbou odolných silnostěnných cyst se 16 až 32 kulovitými sporami, které jsou infekční agens, a absencí polaroplastu nahrazeného polárními vlákny v trvalém polárním vaku (Wegensteiner 2004; Takov et al. 2010, 2011; Tonka et al. 2011; Wegensteiner et al. 2010; Michálková et al. 2011).

Chytridiopsis typographi vytváří ohniska, která jsou vředovitá a dochází zde k porušení střeva. Vyznačuje se dvěma typy spor. První jsou tenkostěnné a na vnější prostředí méně odolné, druhé jsou silnostěnné.

Tenkostěnné spory, tvořící se v tenkostěnných dočasných sporoforních váčcích, šíří infekci uvnitř hostitele tím, že vstříknou sporoplasmu do epitelových buněk střeva původního hostitele. Silnostěnná spora, umístěná v trvalém sporoforním vaku, připomínajícím cystu, neuvolňuje spory v původním hostiteli, ale je vylučován trusem. Tyto spory jsou infekční po dobu několika měsíců ve vnějším prostředí a slouží pro horizontální přenos patogena. *Chytridiopsis typographi* má kromě toho rané vývojové stádium s vícejadernými mateřskými buňkami, z nichž každá vytváří jeden pupen v epitelu středního střeva. Tento kulovitý pupen je spojen límcem s mateřskou buňkou a buněčné složky jsou tlačeny ke vzdálenému konci pupenu. Pupen i obě mateřské buňky pokračují ve vývoji, pupen se poté oddělí od mateřské buňky, roste a produkuje buňky stejného typu. Obě buňky pak pokračují ve sporogonálním vývoji a také vytváří cysty s výtrusy. U jiných mikrosporidií nemá obdobu proces, kdy jedna mateřská buňka produkuje jediný pupen rostoucí do stejného strukturovaného a velkého stádia (Tonka et al. 2010). *Chytridiopsis typographi* je obecně nespecifický patogen napadající pouze epitel střeva u řady zástupců podčeledi Scolytinae (Wegensteiner 2004). Infekční hladina varuje v řádech desítek procent (Weiser 2002; Wegensteiner 2004; Holuša et al. 2009; Wegensteiner et al. 2010).

Mikrosporidie vytváří chronická onemocnění se zřetelnou mortalitou, např. u housenek bekyně nebo u housenic pilatek hlavně v kombinaci s virózou (Holuša & Weiser 2005). Tyto patogeny jsou specifické pro určité hostitele, namnožení je možné v laboratorních podmínkách, avšak přípravek na bázi mikrosporidií proti kůrovcům není k dispozici na trhu insekticidů (Wegensteiner 2004). Hlavním důvodem je obtížná masová kultivace s nutností namnožení v živých hostitelích, což je obtížně praktikovatelné vzhledem ke kryptickému způsobu života *Ips typographus* a jejich izolovanému vývinu jednotlivých stádií v prostoru (Wegensteiner 2004).

1.3.7 Hlístice (*Nematoda*)

Entomopatogenní hlístice (Nematoda: Heterorhabditidae, Mermithidae, Steinernematidae), letální endoparazité hmyzu, jsou běžně užívány v biologickém boji proti druhům hmyzu, které žijí kryptickým způsobem života (Ramos - Rodríguez et al. 2006),

nejběžněji ve vlhkém a půdním prostředí (Kaya & Gaugler 1993). Jejich výhodou je i nízká patogenita pro obratlovce (Kaya & Gaugler 1993; Bathon 1996).

Hlístice se do tělní dutiny hostitelů dostávají tělními otvory (stigmata, ústní otvor, kutikula - u rodu *Heterorhabditis*). Pomocí symbiotických bakterií rodu *Xenorhabdus* a *Photorhabdus* (Forst et al. 1997) po vniknutí do hostitele vypouštějí endotoxiny, kterými hostitele zabijí. Po usmrcení hostitele slouží jeho tělo jako dále spolu s bakteriemi jako živná půda pro vývoj hlístic. Po dvou až třech týdnech opouští infekční juvenilní stádia (desítky až stovky tisíc) usmrceného hostitele a aktivně, pachově, pomocí hlavových papil a amphid, vyhledávají nového živého jedince hmyzu ke kolonizaci (Croll 1970).

Hlístice využívají *Ips typographus* k přesunu na nová stanoviště (tzv. forézie) nebo je potřebují k dokončení svého vývojového cyklu (tzv. parazitace). Hlístice s vazbou na kůrovce patří především to řádů Tylenchida a Rhabditida. Většina hlístic asociovaných s *Ips typographus* jedince negativně neovlivňuje, ale existují i parazitické druhy (Rühm 1956). Jsou lokalizovány v těle kůrovce buď v hemolymfě volně - rody *Contortylenchus* a *Parasitylenchus*, nebo v Malphigických trubicích - rod *Cryptaphelenchus*, i ve střevě - rody *Aphelenchoides* a *Parasitorhabditi* (Rühm 1956). Střevní nákaza hlísticemi se u kůrovců pohybuje okolo 50% (Burnajadze & Goginashvili 2009; Kereselidze et al. 2010). Parazitické hlístice podle některých studií zabíjejí své hostitele, způsobují ucpání střeva a jeho perforaci, redukují také životnost a plodnost, například zmenšením oocystů napadených samic lýkožrouta smrkového (Kaya 1984). Vliv přítomnosti běžných endoparazitických hlístic na letovou aktivitu u *Ips typographus* nebyl prokázán (Forsse 1987).

Determinace druhů hlístic je obtížná, protože se uvnitř těla lýkožroutů objevují často jen juvenilní jedinci a je nutné je dochovávat, například larvy rodu *Parasitorhabditis* nelze od sebe rozeznat vůbec (Rühm 1956). Pod krovkami jedinců, na křídlech či v prostorech mezi tělními články se nachází hlavně foretické druhy hlístic (např. rody *Diplogasteroides*, *Ditylenchus*, *Ektaphelenchus*) a prozatím nebyl prokázán žádný vliv na jedince *Ips typographus* (Rühm 1956).

U *Ips typographus* byly nalezeny druhy hlístic pod krovkami, na křídlech, na hrudníku a mezi tělesnými segmenty. Jedná se o druhy *Bursaphelenchus eidmanni* (Rühm, 1956) z čeledi Parasitaphelenchidae, *Cryptaphelenchus macrogaster macrogaster* (Fuchs, 1937) z čeledi Aphelenchoididae, *Ektaphelenchus typographi* (Fuchs, 1930) z čeledi Ektaphelenchidae, *Fuchsnema halleri* (Fuchs, 1915) z čeledi Diplogasteroididae, *Micoletzkyia buetschlii* (Fuchs,

1915) z čeledi Neodiplogastridae, *Neoditylenchus major* (Fuchs, 1915) z čeledi Neotylenchidae syn. Sychnotylenchidae (Tab. 1).

Jejich výskyt byl zaznamenán hlavně v Německu a na Slovensku, ale například *Micoletzky buetschlii* byla zaznamenána v České republice (Grucmanová & Holuša 2013).

Tab. 1 Hlístice nalezeny pod krovkami, na křídlech, na hrudníku a mezi tělesnými segmenty u *Ips typographus* (Grucmanová & Holuša 2013).

Druh hlístice	Čeď
<i>Bursaphelenchus eidmanni</i> (Rühm, 1956)	Parasitaphelenchidae
<i>Cryptaphelenchus macrogaster macrogaster</i> (Fuchs, 1937)	Aphelenchoididae
<i>Ektaphelenchus typographi</i> (Fuchs, 1930)	Ektaphelenchidae
<i>Fuchsnema halleri</i> (Fuchs, 1915)	Diplogasteroididae
<i>Micoletzky buetschlii</i> (Fuchs, 1915)	Neodiplogastridae
<i>Neoditylenchus major</i> (Fuchs, 1915)	Neotylenchidae syn. Sychnotylenchidae

Tab. 2 Endoparazitické hlístice u druhu *Ips typographus* (Grucmanová & Holuša 2013).

Druh hlístice	Zařazení	Napadá
<i>Contortylenchus diplogaster</i> (Linstow, 1890)	Allantonematidae	Hemocel
<i>Cryptaphelenchus macrogaster macrogaster</i> (Fuchs, 1937)	Aphelenchoididae	Malphigické trubice
<i>Ektaphelenchus typographi</i> (Fuchs, 1930)	Ektaphelenchidae	Larvy
<i>Parasitorhabditis obtusa</i> (Fuchs, 1915)	Rhabditidae	Intestinum
<i>Parasitylenchus dispar</i> (Fuchs, 1915)	Parasitylenchidae	Hemocel

Endoparazitické hlístice, vyskytující se u *Ips typographus* jsou *Contortylenchus diplogaster* (Linstow, 1890) z čeledi Allantonematidae, která napadá hemocel, *Cryptaphelenchus macrogaster macrogaster* (Fuchs, 1937) z čeledi Aphelenchoididae, napadající Malphigické trubice, *Ektaphelenchus typographi* (Fuchs, 1930) z čeledi Ektaphelenchidae, napadající larvy, *Parasitorhabditis obtusa* (Fuchs, 1915) z čeledi Rhabditidae, napadající instenium a *Parasitylenchus dispar* (Fuchs, 1915) z čeledi Parasitylenchidae, napadající hemocel (Tab. 2).

Výskyt těchto hlístic je hlavně v Německu, České republice, Polsku, Slovensku (Grucmanová & Holuša 2013).

2. Metodika

2.1 Studijní lokality

Odběry brouků byly provedeny z lapačů a lapáků na třech lokalitách - Pec pod Sněžkou v NP KRNAP dne 26.6.2012, PR Smrk v Beskydech dne 31.5.2012 a Pustá Polom na Opavsku 5.8.2010 (Obr. 2). Starší materiál z oblasti Pustá Polom (rok 2010) byl uložen v mrazu a v roce 2012 byly přidány dvě nové lokality - Krkonoše a Smrk (Tab. 3).

Pec pod Sněžkou je město v Královéhradeckém kraji na severovýchodě Čech v pohoří Krkonoš, na řece Úpě a Zeleném potoku v nadmořské výšce 769 m.n.m. Město zaujímá plochu 52,14 km² a má 703 obyvatel. Průměrná roční teplota činí cca 7°C, roční srážky dosahují zhruba 802 mm. Největší množství srážek je v Peci pod Sněžkou v srpnu ve výši cca 88 mm, nejméně srážek v únoru ve výši cca 46 mm. Nejteplejším měsícem je červenec, nejchladnějším leden. Krkonoše leží na česko-polském pomezí v délce 36 km. Jsou nejvyšším horským celkem Sudetského pohoří, s nespornou geografickou výjimečností. Krkonošské klima patří mezi nejchladnější, největrnější a srážkově nejbohatší ve střední Evropě. Průměrná roční teplota vzduchu na vrcholu Sněžky je pouhých 0,2°C. V celém pohoří převládá vlhké a studené proudění vzduchu od Severního moře a Atlantiku. Zejména v podzimních a zimních měsících jsou častým klimatickým jevem krkonošské inverzní situace, při kterých je na horách teplo a jasno a údolí je zalito neprůniknutelnou mlhou (www.krnep.cz).

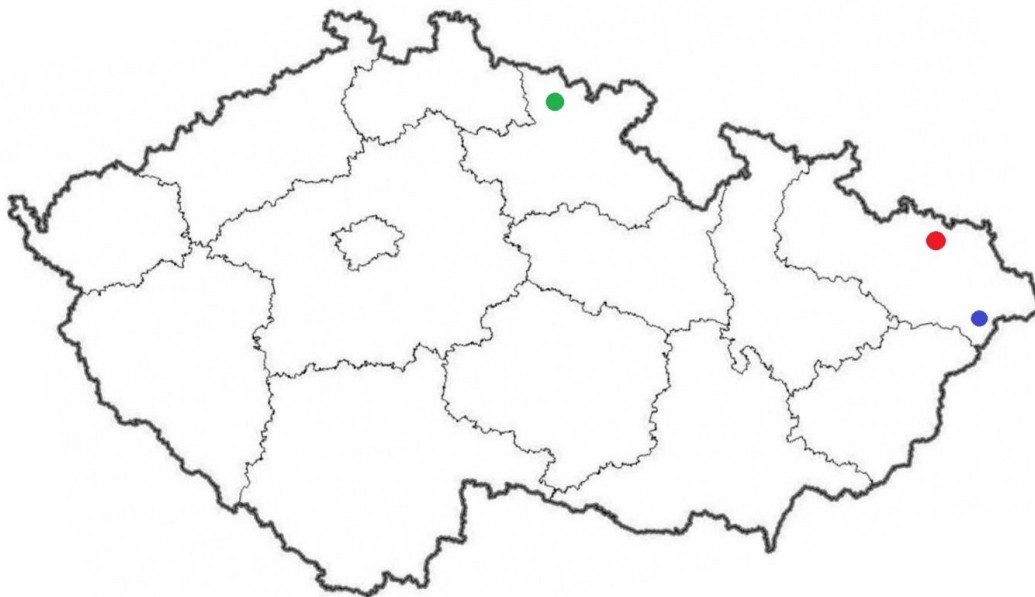
Obec Pustá Polom se nachází v okrese Opava, kraj Moravskoslezský v nadmořské výšce 434 m.n.m. Obec má rozlohu 16,57 km² a žije zde 1 433 obyvatel. Pustá Polom se nachází téměř na nejvyšším místě Polomské plošiny Nízkého Jeseníku asi 15 km jihovýchodně od Opavy, obklopena rozsáhlými lesy. Průměrná roční teplota je 5,4°C a průměrné roční srážky činí 1 122 mm. (<http://www.pustapolom.cz/>).

Beskydský bioregion má hornatý terén vyznačující s charakteristickou nadmořskou výškou 500 – 1 200 m n.m. Klima je převážně chladné a bohaté na srážky.

Moravskoslezské Beskydy jsou chráněny ve stejnojmenné CHKO, která je svou rozlohou 1 160 km² největší v ČR. Předmětem ochrany jsou převážně zachovalé lesní porosty a typická luční společenstva, navíc je tu 25 maloplošných chráněných území. Původní jedlobukové porosty se zachovaly jen ojediněle, dnes jsou lesy tvořeny druhotnými smrčínami. Lesnatost je vysoká, přesahuje až 70%.

Přírodní rezervaci Smrk reprezentují pralesovité porosty bukových smrčín. Studijní lokalita umístěná do centra rezervace (Tab. 1). Průměrná teplota za rok 2009 byla 4 až 5°C a celkové roční srážky 1 400 mm.

Jedná se o chráněné území a provádí se zde pouze omezený lesnický management reprezentovaný omezenými kůrovcovými těžbami, dovozem lapáků a odchytom brouků do feromonových lapačů (www.beskydy-info.cz).



Obr. 2 Oblasti odběru (Pec pod Sněžkou barvou zeleně, Smrk barvou červeně, Pustá Polom barvou modře).

Tab. 3 Popis studijních lokalit.

Oblast	<i>Pec pod Sněžkou</i>	<i>Smrk</i>	<i>Pustá Polom</i>
Datum odběru	26.6.2012	31.5.2012	5.8.2010
Počet lapáků	3	5	5
Počet lapačů	5	5	5
Nadmořská výška	850 m n.m.	1180 m n. m.	434 m n.m.
GPS souřadnice	50°42'27"N, 15°47'48"E	49°30'02"N, 18°22'02"E	49°52'03"N, 18°00'22"E

2.2 Sběr a zpracování vzorků

Z každé lokality byly vzorky odebrány pomocí exhaustoru ze tří až pěti lapáků *Picea abies*. Stáří stromů bylo 80 až 100 let, byly pokáceny na jarní (Pec pod Sněžkou, Smrk) resp. letní (Pustá Polom) rojení.

Kmeny byly odkorněny nožem a sekerou (rozměr 50x20 cm) ve fázi larev třetího instaru na třech místech lapáku. Z každé takové sekce bylo odebráno maximum matečných brouků z požerků

Na každé lokalitě bylo v těsné blízkosti lapáků umístěno 3 až 5 lapačů typu Theyson (navnazených feromonovým odparníkem IT Ecolure - Fytofarm CZ, s.r.o. Mělník.), střídavě v jedné řadě s rozstupem 20 metrů. Z každé pasti bylo odebráno na další analýzu 50 až 100 matečných brouků.

Získaný materiál dospělých brouků byl ihned zmrazen při teplotě -5°C a do každého vzorku byl přidán kousek navlhčené gázy (tj. proti vysychání tkání). Poté byl vzorek uschován v plastových nádobách typu 2 cm³ Eppendorf a uložen do chladu.

Na uchovaném materiálu byla provedena pitva jednotlivých brouků v kapce vody s použitím chirurgických pinzet, podložního a krycího sklíčka. Byly vyšetřeny vnitřní orgány a provedli jsme analýzu zjištěných patogenů pod světelným mikroskopem typu SZS 1002 ZOOM od firmy Arsenal při zvětšení 100x - 400x postupně během tří měsíců od sběru.

Poté byly vzorky sledovány pod světelným stereomikroskopem typu Nikon corporation, model Eclipse. Patogeny byly vyfotografovány a změřeny rozměry spor. Inspekce se nejvíce zaměřila na trávicí soustavu, gonády a tukové těleso, které nejvíce podléhá patogenním nákazám. Výsledky pitvy se pečlivě vedly u každého vzorku do připraveného formuláře, vedl se záznam o stavu početnosti infekce ve vnitřních orgánech. Zájem zkoumání byl věnován hlavně mikrosporidiím, virům, prvokům, endoparazitům a hlísticím.

2.3 Analýza dat

Získaná data byla dána do tabulkového softwaru Microsoft Excel 2007 a poté graficky a statisticky zpracována v programu Statistica 12. Snímky patogenů byly pořízeny v programu NIS Elements, kde byly zároveň změřeny i rozměry jednotlivých spor.

3. Výsledky

3.1 Pec pod Sněžkou

Tab. 4 Výskyt patogenních organismů u *I. typographus* na lokalitě Pec pod Sněžkou v roce 2012 (vysvětlivky zkratk: C. sp. - *Contortylenchus* sp., G. t. - *Gregarina typographi*, Ch. t. - *Chytridiopsis typographi*, M. s. - *Mattesia schwenkei*, N - počet vypitvaných jedinců).

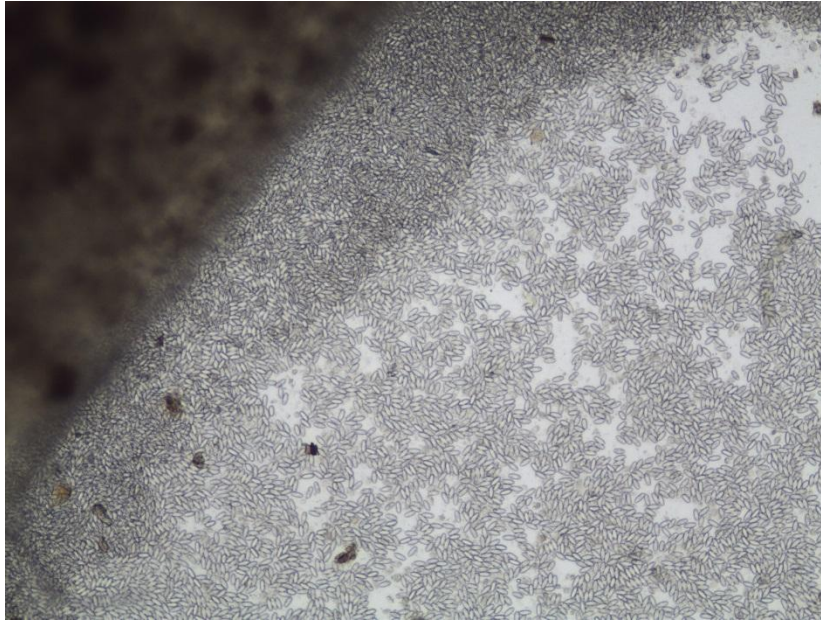
Metoda	Střevní hlístice	Hlístice mimostřevní	C. sp.	G.t.	Ch.t.	Parazitoidi	ItEPV	M.s.	N
Lapáky	49	202	22	1	4	1	9	96	774
Lapače	79	66	12	4	0	0	7	0	405

Na lokalitě Pec pod Sněžkou byly zaznamenány celkem 4 patogeny: *ItEPV*, *Mattesia schwenkei*, *Gregarina typographi* a *Chytridiopsis typographi* (Tab. 4). Dále byly zjištěny také larvy endoparazitoida *Tomicobia seitneri* a přítomnost střevních i mimostřevních hlístic (Tab. 2).

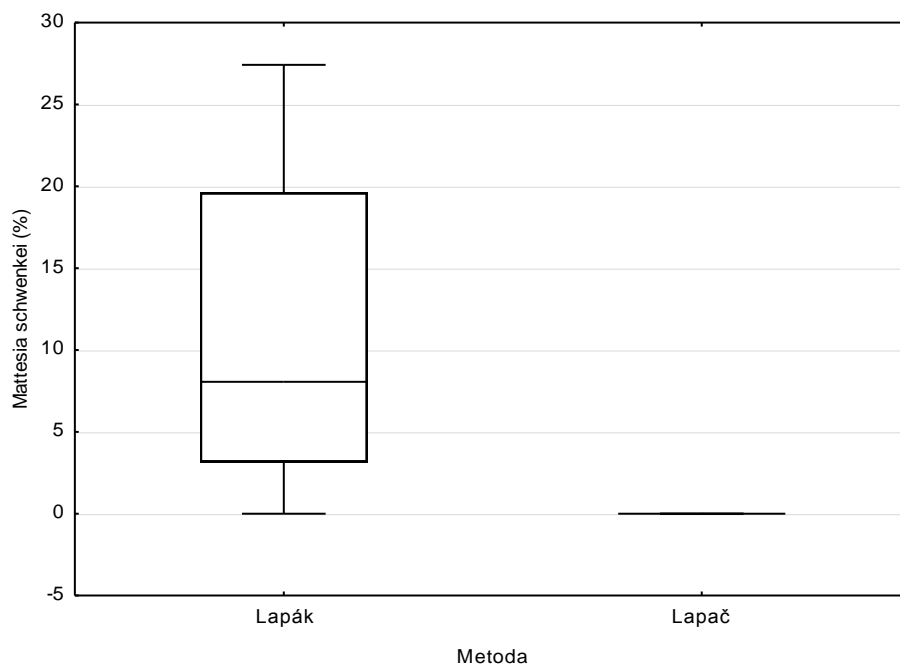
Mattesia schwenkei se vyskytovala vždy jen na lapácích s průměrnou nákazou 12,4%. Statistickou analýzou bylo prokázáno, že hladina infekce tímto patogenem je průkazně vyšší na stromových lapácích než na feromonových lapačích (Shapiro-Wilk test: $W=0,60343$, $p=0,00003$; Kruskal-Wallis test: $H(1;15) = 6,6667$, $p = 0,0098$; Graf 1).

Na Obr. 3 vidíme nákazu *Mattesia schwenkei* v hemolymfě *Ips typographus* na lokalitě Pec pod Sněžkou v roce 2012. Rozměry spor byly $16,31 \pm 2,17$ ($n=80$). Změřili jsme 80 spor celkem při zvětšení 100x.

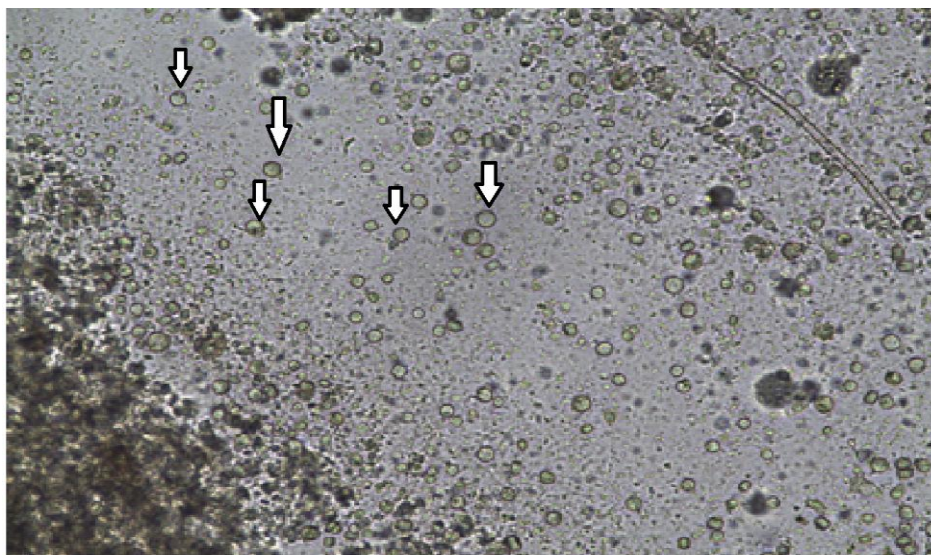
Infekční nákaza *ItEPV* byla poměrně nízká (průměrně 1,4%), navíc byla srovnatelná v jedincích získaných oběma odchyťovými metodami (Shapiro-Wilk test: $W=0,83080$, $p=0,00939$; Kruskal-Wallis test: $H(1;15) = 0,2667$; $p = 0,6056$). Na Obr. 4 je patrná infekční nákaza viru *ItEPV* ve stěně střeva *I. typographus* na lokalitě Pec pod Sněžkou v roce 2012. Zvětšení je 100x.



Obr. 3 *Mattesia schwenkei* v hemolymfě *I. typographus* na lokalitě Pec pod Sněžkou v roce 2012 (zvětšení 100x). Rozměry spor $16,31 \pm 2,17$ (n=80).



Graf 1 Infekční hladina *Mattesia schwenkei* v lapačích a lapácích na lokalitě Pec pod Sněžkou v roce 2012.

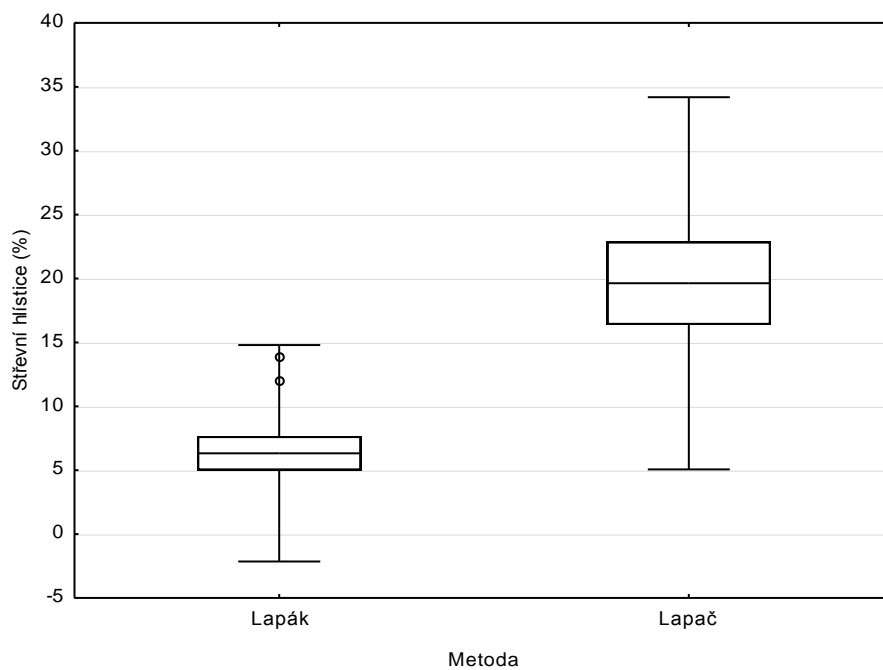


Obr. 4 Infekční nákaza ItEPV ve stěně střeva *I. typographus* na lokalitě Pec pod Sněžkou v roce 2012 (zvětšení 100x).

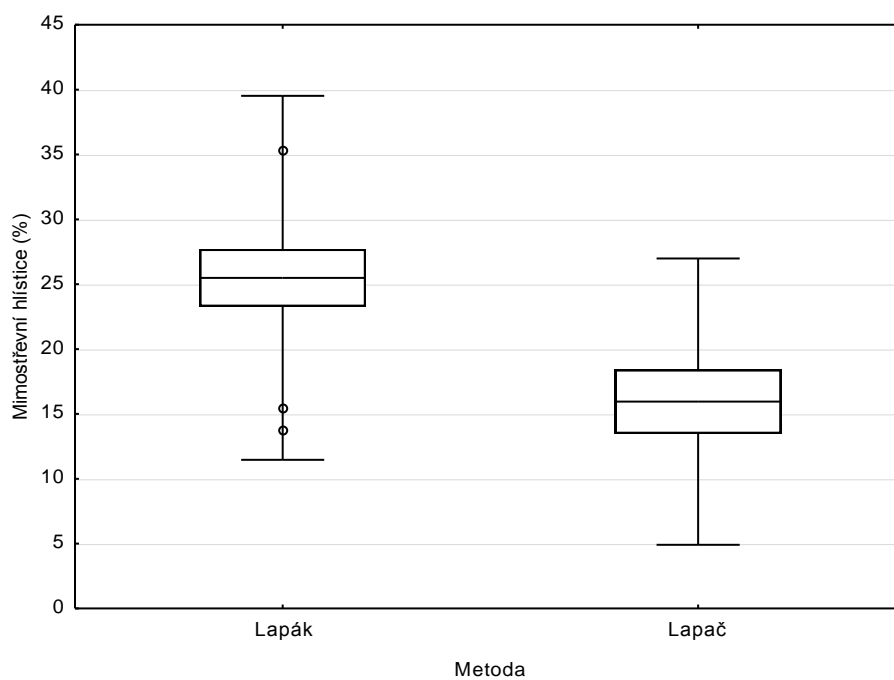
Žádné rozdíly nebyly rovněž zaznamenány u dalších dvou patogenů *Ch. typographi* (Shapiro-Wilk test: $W=0,53609$, $p=0,00001$; Kruskal-Wallis test: $H(1;15) = 1,7245$; $p = 0,1891$; průměrná infekční hladina 0,52%) a *G. typographi* (Shapiro-Wilk test: $W=0,52666$, $p=0,00001$; Kruskal-Wallis test: $H(1;15) = 2,215$; $p = 0,1367$; průměrná infekční hladina 0,42%).

Larva endoparazitoidů se vyskytovala pouze v jednom případě na lapácích.

Invazní larvy hlístic se objevovaly jak ve střevě (10,9%), tak v hemolymfě (22,7%). V případě střevních hlístic bylo více infikovaných jedinců v lapačích (Shapiro-Wilk test: $W=0,88174$, $p=0,05038$; ANOVA: $F(1;13) = 20,5366$; $p = 0,0006$; Graf 2), naopak tomu bylo u mimostřevních, kde se vyskytovaly více u jedinců odebraných z lapáků (Shapiro-Wilk test: $W=0,98422$, $p=0,99042$; ANOVA: $F(1;13) = 6,9923$; $p = 0,0200$; Graf 3).



Graf 2 Infekční hladina střevních hlístic v lapačích a lapácích na lokalitě Pec pod Sněžkou v roce 2012.



Graf 3 Infekční hladina mimosřevních hlístic v lapačích a lapácích na lokalitě Pec pod Sněžkou v roce 2012.

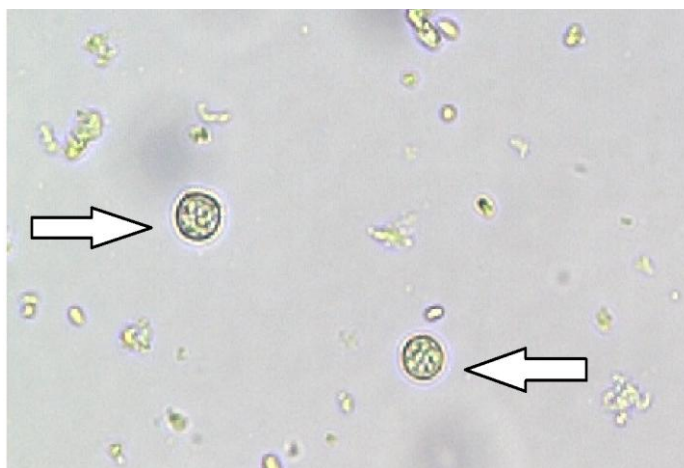
3.2 Pustá Polom

Tab. 5 Výskyt patogenních organismů u *I. typographus* na lokalitě Pustá Polom v roce 2010.

Metoda	Střevní hlístice	Hlístice mimostřevní	<i>Chytridiopsis typographi</i>	Parazitoidi	N
Lapáky	84	22	26	3	355
Lapače	141	35	1	0	350

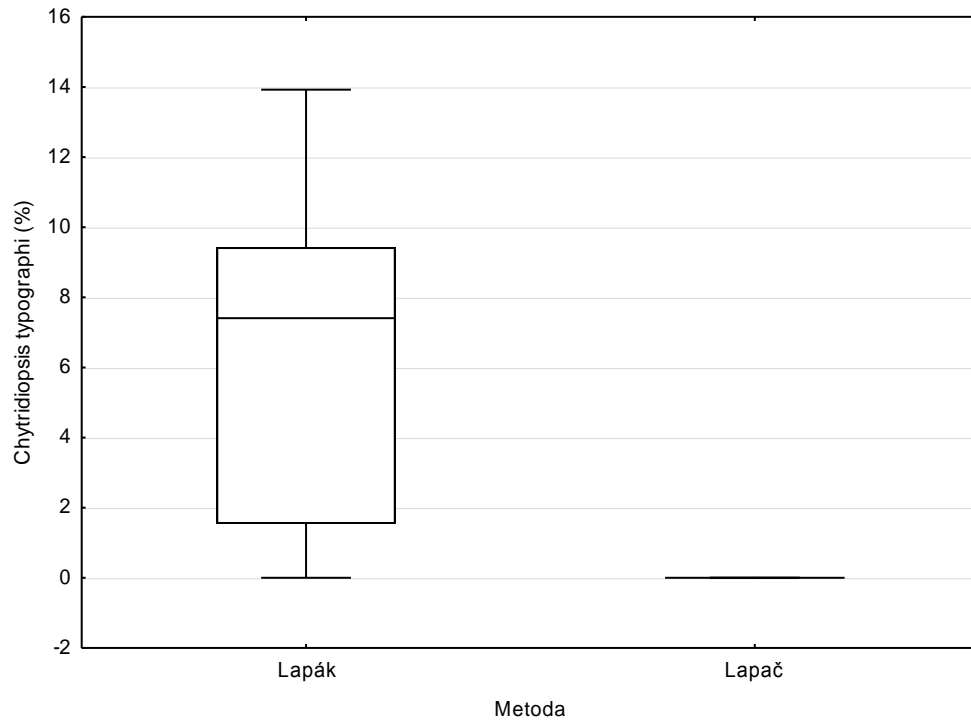
Na lokalitě Pustá Polom jsme zjistili pouze jeden druh mikrosporidie *Ch. typographi* (průměrně 3,83%), přítomnost hlístic (průměrně 31,9% střevních a 8,1% mimostřevních) a parazitoidů (průměrně 0,43%) (Tab. 5). Srovnání infekční hladiny hlístic na lapačích a lapácích nebyly zjištěny statisticky signifikantní rozdíly (střevní hlístice: Shapiro-Wilk test: $W=0,90962$, $p=0,27837$; ANOVA: $F(1;8) = 4,0914$; $p = 0,0777$; mimostřevní hlístice: Shapiro-Wilk test: $W=0,68565$, $p=0,00059$; Kruskal-Wallis test: $H(1;10) = 0,2727$; $p = 0,6015$).

Na Obr. 5 je patrná nákaza *Chytridiopsis typographi* ve střevě *I. typographus* na lokalitě Pustá Polom v roce 2010 při zvětšení 100x. Rozměry spor $8,24 \pm 0,88$. Celkem bylo změřeno 20 spor.

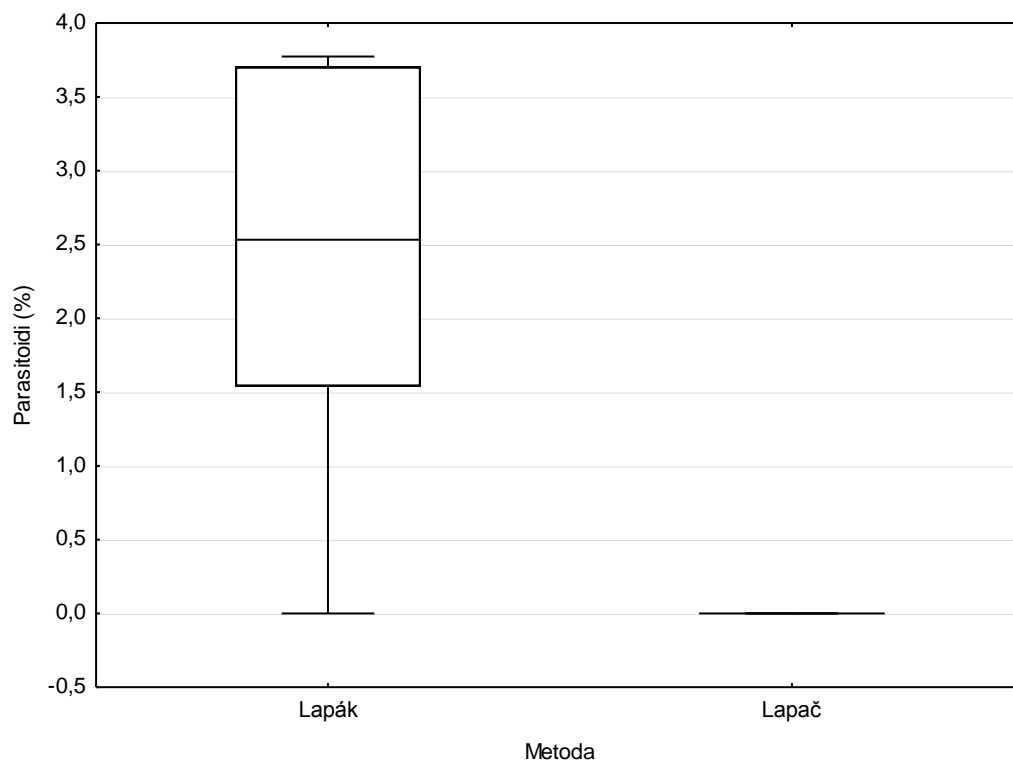


Obr. 5 *Chytridiopsis typographi* ve střevě *I. typographus* na lokalitě Pustá Polom v roce 2010 (zvětšení 100x). Rozměry spor $8,24 \pm 0,88$ (n=20).

Infekční hladina *Ch. typographi* (Shapiro-Wilk test: $W=0,2692$, $p=0,00187$; Kruskal-Wallis test: $H(1;10) = 4,4814$; $p = 0,0343$; Graf 4) i endoparazitoidů (Shapiro-Wilk test: $W=0,72364$, $p=0,00171$; Kruskal-Wallis test: $H(1;10) = 5,5385$; $p = 0,0186$; Graf 5) byla v obou případech průkazně vyšší na lapácích.



Graf 4 Infekční hladina *Chytridiopsis typographi* v lapačích a lapácích na lokalitě Pustá Polom v roce 2010.



Graf 5 Infekční hladina parazitoidů v lapačích a lapácích na lokalitě Pustá Polom v roce 2010.

3.3 Smrk

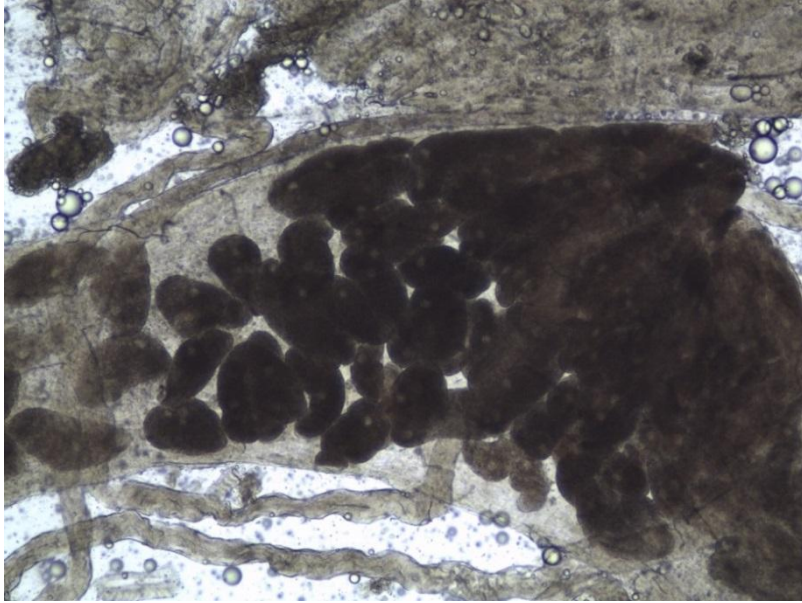
Tab. 6 Výskyt patogenních organismů u *I. typographus* na lokalitě Smrk v roce 2012.

Metoda	Střevní hlístice	Hlístice mimostřevní	<i>Mattesia schwenkei</i>	<i>Gregarina typographi</i>	<i>Chytridiopsis typographi</i>	N
Lapáky	103	195	6	59	2	855
Lapače	33	108	3	7	0	359

Na lokalitě Smrk jsme zjistili pouze dva druhy prvoků: *G. typographi* (průměrně 5,4%) a *M. schwenkei* (průměrně 0,74%). Zaznamenány byly dále také hlístice (průměrně 11,2% střevních a 25% mimostřevních) a *Chytridiopsis typographi* (průměrně 0,16%) (Tab. 6).

Ve všech případech byly hladiny infekce získané pitvou lýkožrouta smrkového srovnatelné a rozdíly statisticky neprůkazné (střevní hlístice: Shapiro-Wilk test: $W=0,92116$, $p=0,08036$; ANOVA: $F(1;20) = 0,0434$; $p = 0,8371$; mimostřevní hlístice: Shapiro-Wilk test: $W=0,97438$, $p=0,80956$; ANOVA: $F(1;20) = 2,5539$; $p = 0,1257$, *Gregarina typographi*: Shapiro-Wilk test: $W=0,85819$, $p=0,00476$; Kruskal-Wallis test: $H(1;22) = 1,603$; $p = 0,2055$; *Mattesia schwenkei*: Shapiro-Wilk test: $W=0,45738$, $p=0,000001$; Kruskal-Wallis test: $H(1;22) = 1,3554$; $p = 0,2443$).

Na Obr. 6 je výrazně patrná nákaza *Gregarina typographi* ve střední části střeva ve stádiu trofozoitů *I. typographus* na lokalitě Smrk v roce 2012 při zvětšení 100x. Délka trofozoitů byla $152,6 \pm 42,88$, změřeno bylo celkem 50 jedinců.



Obr. 6 *Gregarina typographi* ve střední části střeva *I. typographus* na lokalitě Smrk v roce 2012 (zvětšení 100x). Délka trofozoitů $152,6 \pm 42,88$ (n=50).

4. Diskuze

V současné době bylo popsáno méně než 20 druhů patogenů u brouků podčeledi Scolytinae (Wegensteiner 1994; Weiser & Wegensteiner 1994; Wegensteiner & Weiser 1995; Wegensteiner & Weiser 1996; Weiser et al. 1997; Händel et al. 2001; Händel et al. 2003; Wegensteiner & Weiser 2004; Takov et al. 2006; Takov et al. 2007). Většina autorů se jimi zabývala především z faunistického hlediska (Weiser et al. 1998; Wegensteiner 2004; Kereselidze & Wegensteiner 2007; Takov et al. 2007). Nejpodrobněji popsané druhové složení patogenů má lýkožrout smrkový *I. typographus*. V Evropě bylo zjištěno 9 onemocnění tohoto druhu (Wegensteiner et al. 1996; Weiser 2002; Wegensteiner 2004; Holuša et al. 2009).

Největší pozornost byla věnována mikrosporidiím (Zygomycota, Microspora) jako je *Chytridiopsis typographi*, *Unikaryon montanum*, *Nosema typographi* (Weiser & Wegensteiner 1994). *Chytridiopsis typographi* se podle našich výsledků vyskytovala pouze na lapácích, domníváme se, že poškozením letové aktivity *Ips typographus* nedojde k dolétnutí na feromonový lapač. Podle Wegensteiner 2004; Weiser 2004; Holuša et al. 2009; Wegensteiner et al. 2010 infekční nákaza varuje v desítkách procent, v našem testu se nákaza *Chytridiopsis typographi* vyskytla v průměru 1,5%.

Jediný zjištěný virus *Entomopoxvirus* (ItEPV, Entomopoxviridae) napadá a ničí buňky střevního epitelu. Destičkovité inkluze s virovými tělísky odcházejí z těla brouků s trusem a infikují další jedince při úživném žíru (Weiser & Wegensteiner 1994; Wegensteiner & Weiser 1995). Z našich výsledků vyplývá, že se virus ItEPV vyskytuje pouze v oblasti Pec pod Sněžkou, více jedinců je opět nalezeno na lapácích, i když rozdíl nákazy na lapacích a lapačích zde není tak markantní, jako tomu bylo při nákaze *Ch. typographi*. V České republice je tento virus zaznamenán hlavně na Šumavě (Weiser et al. 2000; Weiser 2002), avšak zaznamenali jsme ho i v oblasti Krkonoš na první zkusné ploše Pec pod Sněžkou.

Hromadinka *Gregarina typographi* (Apicomplexa, Eugregarinida) působí pouze slabé poškození střevního epitelu, které se navíc částečně regeneruje (Tanada & Kaya 1993). *Gregarina typographi*, což je běžný patogen vyskytující se po celé České republice často společně s mikrosporidií *Ch. typographi* (Wegensteiner et al. 1996; Wegensteiner & Weiser 2004), která se v našem výzkumu v nízkém procentu nákazy také objevuje (viz. výše).

Vyznačuje se několika vzhledově odlišnými stádii. Stádium oocysty setrvává v prostředí, dokud není požřeno hostitelem a nepronikne do jeho trávicí soustavy (Harry 1971). Následuje aktivace excitace a uvolnění sporozoitů (Clopton & Gold 1995). Během intracelulárního vývoje vyrostou sporozoiti do větších trofozoitů (Desportes 1969), kteří již mají vývoj extracelulární a se střevním epitelem jsou spojeni pomocí epimeritu (Smith et al. 2007; Valigurová et al. 2009). Pohlavní stádium začíná spojením 2 trofozoitů (gamontů) během syzygie. Dochází k encistaci a vzniku gametocyty. Gametocysty odcházejí z těla hostitele společně s trusem a ve vnějším prostředí se rozpadají na oocysty (Omoto et al. 2004; Toso & Omoto 2007). Většina prací studujících patogeny u kůrovců zaznamenává pouze stádium trofozoitů, gamontů a gametocyt nebo tato stádia vůbec nerozlišuje (Händel et al. 2003; Wegensteiner & Weiser 2004; Yaman 2007). V lapačích jsou brouci stresováni po několik dnů a dochází k vysoké úmrtnosti, živí brouci požírají zbytky tkání mrtvých infikovaných jedinců, které obsahují stádia oocyst vznikající rozpadem gametocyt po opuštění těla hostitele. I přes tento fakt byla hladina infekce v lapačích a lapácích srovnatelná, což vysvětluje fakt, že brouci nebyli ve feromonových lapačích ponecháni dlouho a analyzováni byli pouze prokazatelně živí jedinci, kteří se nemohli stihnout nakazit od rozpadlých nakažených jedinců, kteří nalétli do pasti jako první. Dále to potvrzuje teorii, že gregariny nejsou primárně parazité (Lukášová & Holuša 2012) a jejich vliv bude minimálně na letovou aktivitu kůrovců neutrální.

Někteří autoři dokonce spekulují, že riziko přenosu gregarin je zřejmě vyšší pro samce než pro samice *I. typographus*, protože v odebraných vzorcích bylo nakaženo více samců (Wegensteiner & Weiser 1996; Wegensteiner et al. 1996). Platí to však pouze pro některé sezóny a pro vzorky s nízkou početností. Obecně je riziko nákazy procentuálně stejné (Lukášová & Holuša 2011).

Jedinci nakažení schizogregarinami (Apicomplexa, Neogregarinida) *Menzbieri chalcographi* a *Mattesia schwenkei* mají postižené tukové těleso, plné člunkovitých spor a umírají pod kůrou stromu. Infekce *Mattesia schwenkei*, napadající tukové těleso, se vyznačuje velkým množstvím lodičkovitých spor, které se uvolňují až po smrti hostitele (Weiser et al. 2000). Tento patogen jsme prokázali až na jedinou výjimku pouze ve vzorcích z lapáků, což potvrzuje hypotézy o negativním vlivu na letové schopnosti infikovaných brouků, kteří nejsou schopni opouštět při silné nákaze rodinné požerky (Weiser et al. 2000). Nákaza byla nejvíce zaznamenána na lapáku v oblasti Pec pod Sněžkou, slabě také v oblasti Smrk.

Domníváme se, že v oblastech Pustá Polom a Smrk se nákaza *Mattesia schwenkei* nerozvíjí díky odstranění stromů, které jsou silně napadeny kůrovci. To zabraňuje patogenům v nahromadění pomocí horizontálního přenosu mezi jedinci stejné generace.

V České republice řada lesnických opatření vede k výraznému snížení početnosti některých druhů patogenních organismů jako *N. typographi* a *M. chalcographi* (Holuša et al. 2007).

Nezanedbatelnou skupinou patogenů rodu *Ips* jsou hlístice (Nematoda), způsobují ucpání střeva a perforaci. Jejich determinace je obtížná, protože se uvnitř těla lýkožroutů objevují často pouze juvenilní jedinci a je nutné je dochovávat. Nejčastěji se vyskytují zástupci rodu *Contortylenchus* a *Cryptaphelenchus* (Rühm 1956). Na našich zkusných plochách byl výskyt hlístic (střevních i mimostřevních) poměrně vysoký. Opět se více nákaza vyskytovala na lapácích než lapačích. Z důvodu, že se na lokalitě Smrk uskutečňuje pouze omezený lesnický management, dovoluje to patogenům se v populaci více namnožit (Wegensteiner et al. 2010). Proto byla nákaza hlísticemi zde vysoká (přes 400 případů nákazy střevními i mimostřevními hlísticemi). Dle morfometrie analyzovaných tří druhů patogen se shodujeme s dalšími pracemi a jedná se tedy zřejmě o identické druhy (Wegensteiner 2004; Lukášová & Holuša 2011, 2012).

Nákaza patogeny na sledovaných územích byla obecně poměrně vysoká. V některých částech České republiky se uskutečňuje omezený lesnický management, což dovoluje patogenům se v populaci namnožit (Wegensteiner et al. 2010). Také odstranění stromů silně napadených kůrovci zabraňuje patogenům v nahromadění pomocí horizontálního přenosu mezi jedinci stejné generace. To vedlo v České republice k výraznému snížení početnosti některých druhů patogenních organismů. Letové schopnosti budou nejvíce ovlivňovat patogeny napadající tukové těleso nebo vyplňující celou tělní dutinu (endoparazitoidi), nemoci lokalizované ve střevě kůrovců mají evidentně minimální význam.

5. Závěr

1. Rozdíl v hladině infekce patogenů *Ips typographus* na lapácích a lapačích.

Hladina infekce patogenů *Ips typographus* získaných pomocí lapáků či lapačů se liší. Infikovaní jedinci byli nalezeni více na lapácích, to potvrditelné z výsledků na dvou lokalitách (Pec pod Sněžkou a Smrk). Naopak na lokalitě Pustá Polom byla nákaza větší na feromonových lapačích, což je dáno druhovým spektrem patogenů.

2. Druhové spektrum patogenů na třech lokalitách.

Druhové spektrum patogenů *Ips typographus* v podmínkách České republiky na třech lokalitách (Pec pod Sněžkou, Pustá Polom, Smrk) je velmi rozmanité. Obecně nalézáme druhy hlístic (Nematoda), mikrosporidie (Zygomycota, Microspora) jako např. *Chytridiopsis typographi*, virus *Entomopoxvirus* (ItEPV, Entomopoxviridae), hromadinku *Gregarina typographi* (Apicomplexa, Eugregarinida) a v neposlední řadě schizogregarinu (Apicomplexa, Neogregarinida) *Mattesia schwenkei*.

Na lokalitě Pec pod Sněžkou (Krkonoše) z roku 2012 jsme pracovali se 774 kusy *Ips typographus* na lapácích a se 405 kusy na lapačích. Celkem bylo vypreparováno 1 179 kusů z této lokality. Bylo zjištěno, že se zde objevují celkem 4 patogeny: *ItEPV*, *Mattesia schwenkei*, *Gregarina typographi* a *Chytridiopsis typographi* (Tab. 4).

Na lokalitě Pustá Polom (Nížký Jeseník) z roku 2010 jsme zjistili 4 druhy nákaz - střevní Nematoda, mimostřevní Nematoda, *Chytridiopsis typographi* a endoparazitoidi. Vypreparováno bylo celkem 705 kusů, z toho na lapácích 355 kusů, na lapačích 350 kusů.

Na poslední lokalitě Smrk (Moravskoslezské Beskydy) z roku 2012 jsme zjistili celkem 5 nákaz - Nematoda střevní i mimostřevní, *Chytridiopsis typographi* a dva prvoky *Gregarina typographi* a *Mattesia schwenkei*. Vypreparováno bylo 1 214 kusů, z toho na lapácích 855 kusů a na lapačích 359 kusů.

Celkem bylo vypreparováno 3 098 kusů *Ips typographus*.

3. Morfometrie vybraných patogenů s použitím fotografií a změření velikosti spor.

Vybrala jsem si a vyfotografovala jsem 4 druhy patogenů *Ips typographus*.

Mattesia schwenkei nacházející se v hemolymfě má tvar rýžového zrna. Podle naší studie byla prokazatelná na lokalitě Pec pod Sněžkou v roce 2012. Změřili jsme 80 spor při zvětšení 100x, rozměry spor $16,31 \pm 2,17$ (Obr. 3).

Infekční nákaza ItEPV nacházející se ve stěně střeva se projevuje tvorbou bílkovinných světlolomných inkluzí ve stěně střeva dospělců. Tyto inkluze jsou čočkovité a obsahují větší množství hranatých virových částic sendvičovitého tvaru (Obr. 4).

Chytridiopsis typographi opět ve střevě byla prokazatelná na lokalitě Pustá Polom v roce 2010. Změřili jsme 20 spor při zvětšení 100x, rozměry spor $8,24 \pm 0,88$. Vyznačuje se tvorbou odolných silnostěnných cyst se 16 až 32 kulovitými sporami, které jsou infekční agens, a absencí polaroplastu nahrazeného polárními vlákny v trvalém polárním vaku. *Ch. typographi* vytváří ohniska, která jsou vředovitá a dochází zde k porušení střeva. Vyznačuje se dvěma typy spor. První jsou tenkostěnné a na vnější prostředí méně odolné, druhé jsou silnostěnné (Obr. 5).

Gregarina typographi nacházející se ve střední části střeva *I. typographus* na lokalitě Smrk v roce 2012. Změřili jsme 50 trofozoitů, jejich celková délka se pohybovala kolem $152,6 \pm 42,88$. Vyznačuje se podlouhlými silnými útvary, které jsou hodně patrné pod mikroskopem, nákaza na Obr. 6 je zjevná, střevo je plné nákazou této gregariny (Obr. 6).

6. Literární zdroje

- BAKKE, A. Ecological studies on bark beetles (Coleoptera: Scolytidae) associated with Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Norway with particular reference to the influence of temperature. Meddelelser fra Norsk Institutt for Skogforskning, 1968, s. 443-602.
- BAKKE, A. Spruce bark beetle, *Ips typographus*: pheromone production and field response to synthetic pheromones. Naturwissenschaften, 1976. 92 s.
- BAKKE, A. Host tree and bark beetle interaction during a mass outbreak of *Ips typographus* in Norway, 1983, s. 118-125.
- BATHON, H. Impact of entomopathogenic nematodes on nontarget hosts. Biocontrol Science and Technology, 1996, s. 421-434.
- BEDNARZ, B.; KACPRZYK, M.; CEBRAT, R. The influence of rich outdoors on bark beetles infestation of trap - trees in spruce (*Picea abies* L. Karst) stands. Sylwan, 2011, s. 179-187.
- BIDOCHKA, M.; MENZIES, F. V.; KAMP, A. M. Genetic groups of the insect-pathogenic fungus *Beauveria bassiana* are associated with habitat and thermal growth preferences. Archives of Microbiology, 2002, s. 531-537.
- BOHNE, W.; FERGUSON, D. J.; KOHLER, K.; GROSS, U. Developmental expression of a tandemly repeated, glycine - and serine - rich spore wall protein in the microsporidian pathogen *Encephalitozoon cuniculi*. Infection and Immunity, 2000, s. 2268-2275.
- BROSSON, D.; KUHN, L.; PRENSIER, G.; VIVARES, C. P.; TEXIER, C. The putative chitin deacetylase of *Encephalitozoon cuniculi*: a surface protein implicated in microsporidian spore-wall formation. Fems Microbiology Letters, 2005, s. 81-90.
- BURNAJADZE, M.; GOGINASHVILI, N. 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, 2009, s. 145-149.
- CABI/EPPO. Quarantine pests for Europe: data sheets on quarantine pests for the European Union and for the European and Mediterranean Plant Protection Organization. Smith I. M. et al. (eds.). Wallingford, CAB International, 1997, 1425 s.
- CALI, A.; TANKVORIAN, P. Developmental morphology and life cycles of the microsporidia. In: Wittner M., Weiss L. (eds.): The microsporidia and microsporidiosis. Washington DC, American Society of Microbiology, 1999, s. 85-128.
- CERYNGIER, P.; HODEK, I. Enemies of Coccinellidae. In: Hodek I., Honek A. (eds.): Ecology of Coccinellidae. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1996, s. 319-350.

- CLOPTON, R. E.; GOLD, R. E. Host specificity of *Gregarina blattarum* von Siebold, 1839 (Apicomplexa: Eugregarinida) among five species of domiciliary cockroaches. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1996, s. 219-223.
- CLOPTON, R. E. Phylum Apicomplexa Levine, 1970: order Eugregarinorida Léger, 1900. In: Lee J. J. et al. (eds.): *Illustrated guide to the protozoa*. Lawrence, Society of Protozoologists, 2000, s. 205-288.
- CORRADI, N.; KEELING, P. J. Microsporidia: a journey through radical taxonomical revisions. *Fungal Biology Reviews*, 2009, s. 1-8.
- CROLL, N. A. *The behavior of nematodes*. New York, St. Martin's Press, 1970. 117 s.
- DELBAC, F.; POLONAIIS, V. The microsporidian polar tube and its role in invasion. *Sub-cellular Biochemistry*, 2008, s. 208-220.
- DUELLI, P.; ZAHRADNIK, P.; KNIZEK, M.; KALINOVA, B. Migration in spruce bark beetles (*Ips typographus* L) and the efficiency of pheromone traps. *Journal of Applied Entomology - Zeitschrift für angewandte Entomologie*, 1997, s. 297-303.
- FRAZEN, C. Microsporidia: how can they invade other cells? *Trends in Parasitology*, 2004, s. 275-279.
- FRAZEN, C. How do microsporidia invade cells? *Folia Parasitologica*, 2005, s. 36-40.
- FORSSE, E. Flight duration in *Ips typographus* L.: insensitivity to nematode infection. *Journal of Applied Entomology*, 1987, s. 326-328.
- FORST, P. *Ochrana lesů*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1966. 432 s.
- FORST, P.; CABAN, J.; MICHALIK, P. *Ochrana lesů a přírodního prostředí*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1985. 409 s.
- FORST, S.; DOWDS, B.; BOEMARE, N.; STACKEBRANDT, E. *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* spp.: bugs that kill bugs. *Annual Review of Microbiology*, 1997, s. 47-72.
- GRODZKI, W. Possibilities of the control of the double-spined bark beetle *Ips duplicatus* C. R. Sahlb in the Southern Poland. *Sylwan*, 1997, s. 25-36.
- GRODZKI, W. Distribution range of the double spined bark beetle *Ips duplicatus* C. R. Sahlb (Col.: Scolytidae) in the mountain areas of southern Poland. *Sylwan*, 2003, s. 29-36.
- GRUCMANOVÁ, Š.; HOLUŠA, J. Hlístice lýkožrouta severského (*Ips duplicatus* (Sahlberg, 1836)). *Zoologické dny Brno*, 2013. 70 s.
- HÁJEK, A. E.; ST. LEGER, R. J. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annual Review of Entomology*, 1994, s. 293-322.

- HANDEL, U.; KENIS, M.; WEGENSTEINER, R. Untersuchungen zum Vorkommen von Pathogenen und Parasiten in Populationen überwinternder Fichtenborkenkäfer (Col., Scolytidae). Mitteilungen der Deutschen Gesellscha. für allgemeine und angewandte Entomologie, 2001, s. 423-428.
- HANDEL, U.; WEGENSTEINER, R.; WEISER, J.; ŽIŽKA, Z. Occurrence of pathogens in associated living bark beetles (Col., Scolytidae) from different spruce stands in Austria. Journal of Pest Science, 2003, s. 22-32.
- HAYMAN, J. R.; HAYERS, S. F.; AMON, J.; NASH, T. E. Developmental expression of two spore wall proteins during maturation of the microsporidian *Encephalitozoon intestinalis*. Infection and Immunity, 2001, s. 7057-7066.
- HELLAND, I. S.; HOFF, J. M.; ANDERBRANT, O. Attraction of bark beetles (Coleoptera, Scolytinae) to a pheromone trap. Experiment and mathematical models. J. Chem. Ecol., 1984, s. 723-752.
- HOLUŠA, J.; LIŠKA, J. Hypotéza chřadnutí a odumírání smrkových porostů ve Slezsku (Česká republika). Zprávy Lesnického Výzkumu, 2002, s. 9-15.
- HOLUŠA, J.; ZAHRADNÍK, P.; KNÍŽEK, M.; DRÁPELA, K. Seasonal light activity of the double-spined spruce bark-beetle *Ips duplicatus* (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae) in Silesia (Czech Republic). Biologia, 2003, s. 935-941.
- HOLUŠA, J.; WEISER, J.; PULTAR, O. Possibility of using of virus against bark beetles? Experiences with simulated infection of two bark beetles, *Ips typographus* and *Ips duplicatus*, with three pathogens. In: Csóka G. et al. (eds.): Biotic damage in forests. Proceedings of the IUFRO Symposium (WP 7. 03. 10 „Methodology of forest pest and disease survey in Central Europe“). Mátrafüred, Hungary, September 12.-16., 2004. Mátrafüred, Hungarian Forest Research Institute, 2004, s.72-78.
- HOLUŠA, J.; WEISER, J. Biologické postupy boje s lesními škůdci. Zpravodaj ochrany lesa, 2005, s. 18-23.
- HOLUŠA, J.; WEISER, J.; DRÁPELA, K. Pathogens of *Ips duplicatus* (Coleoptera, Scolytidae) in three areas in Central Europe. Acta Protozoologica, 2007, s. 157-167.
- HOLUŠA, J.; WEISER, J.; ŽIŽKA, Z. Pathogens of the spruce bark beetles *Ips typographus* and *Ips duplicatus*. Central European Journal of Biology, 2009, s. 567-573.
- HOLUŠA, J.; LUKÁŠOVÁ, K.; WEGENSTEINER, R.; GRODZKI, W.; PERNEK, M.; WEISER, J. Pathogens of the bark beetle *Ips cembrae*: microsporidia and gregarines known from other *Ips* species. Journal of Applied Entomology, 2002. [in press].

- CHRISTIANSEN, E.; BAKKE, A. The spruce bark beetle of Eurasia. In: Berryman A. A.(Ed.), Dynamics of Forest Insect Populations; Patterns, Causes, Implications. Plenum Press, New York, 1988, s. 479-503.
- KAYA, H. K. Nematode parasites of bark beetles. In: Nickle W. R. (eds.): Plant and insect nematodes. New York, Marcel Dekker, Inc., 1984, s. 727-754.
- KAYA, H. K.; GAUGLER, R. Entomopathogenic nematodes. Annual Review of Entomology, 1993, s. 181-206.
- KERESELIDZE, M.; WEGENSTEINER, R.; GOGINASHVILI, N.; TVARADZE, M.; PILARSKA, D. Further studies on the occurrence of natural enemies of *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Georgia. Acta Zoologica Bulgarica, 2010, s. 131-139.
- KIRCHHOFF, J. F.; FÜHLER, E. Experimentelle Analyse der Infektion und des Entwicklungszyklus von *Malamoeba scolyti* in *Dryocoetes autographus* (Coleoptera: Scolytidae). Entomophaga, 1990, s. 537-544.
- LANGE, C. E.; WITTENSTEIN, E. The life cycle of *Gregarina ronderosi* n. sp. (Apicomplexa: Gregarinidae) in the Argentine grasshopper *Dichroplus elongatus* (Orthoptera: Acrididae). Journal of Invertebrate Pathology, 2002, s. 27-36.
- LIPA, J. J. Studies on gregarines (Gregarinomorpha) of arthropods in Poland. Acta Protozoologica, 1967, s. 97-179.
- LOCKLIN, J. L.; VODOPICH, D. S. Patterns of gregarine parasitism in dragon flies: host, habitat, and seasonality. Parasitology Research, 2010, s. 75-87.
- LUBOJACKY, J.; HOLUŠA, J. Comparison of spruce bark beetle (*Ips typographus*) catches between treated trap logs and pheromone traps. Usporedba ulova smrekinog pisara (*Ips typographus*) na kemijski tretiranim lovnim trupčićima i feromonskim klopama. Šumarski list, 2011, s. 233-242.
- LUKÁŠOVÁ, K.; HOLUŠA, J. *Gregarina typographi* (Eugregarinorida: Gregarinidae) in the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae): changes in infection level in the breeding system. Acta Protozoologica, 2011, s. 311-318.
- MAZUR, A.; ŁABEDZKI, A.; RAJ, A. Observations of phenology and frequencing of the spruce bark beetle (*Ips typographus* L.) and its accompanying species in the uppermost subalpine spruce forest zone environment in the Karkonoski National Park. In: Kolk A. (ed.): Insect outbreaks in managed and unmanaged forests. Warszawa, Instytut Badawczy Lesnictwa, 2006, s. 29-48.

- MICHÁLKOVÁ, V.; KRASCENITSOVÁ, E.; KOZÁNEK, M. On the pathogens of the spruce bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytinae) in the Western Carpathians. *Biologia*, 2011, s. 217-221.
- NIEMEYER, H. Freilandbeobachtungen zum Anflugverhalten und zur visuellen Orientierung des Buchdruckers (*Ips typographus* L.) an Pheromonfallen. *Forst - u. Holzwirt*, 1985a., s. 85-92.
- NIEMEYER, H. Field response of *Ips typographus* L. (Col., Scolytidae) to different trap structures and white versus black flight barriers. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 1985b., s. 44-51.
- NIEMEYER, H. Test und Effektivität von Borkenkäferfallen. *Forst - u. Holzwirt*, 1987b., s. 32-40.
- NOVÁK, V. Posouzení a využitelnost různých typů kůrovcových lapačů v lesním provozu v ČSR. *Zprávy Lesnického Výzkumu*, 1985, s. 16-22.
- OEPP/EPPO. *Ips cembrae* and *Ips subelongatus*. *Bulletin OEPP/EPPO*, 2005, s. 445-449.
- OMOTO, C. K.; TOSO, M.; TANG, K.; SIBLEY, L. D. Expressed sequence tag (EST) analysis of gregarine gametocyst development. *International Journal for Parasitology*, 2004, s. 1265-1271.
- PERKINS, F. O. Order Neogregarinorida Grassé, 1953. In: Lee J. J. et al. (eds.): *The illustrated guide to the Protozoa*. Lawrence, Society of Protozoologists, 2000, s. 353-369.
- PEUVEL - FANGET, I.; POLONAI, V.; BROSSON, D.; TEXIER, C.; KUHN, L.; PEYRET, P.; VIVARES, C. P.; DELBAC, F. EnP1 and EnP2, two proteins associated with the *Encephalitozoon cuniculi* endospore, the chitin-rich inner layer of the microsporidian spore wall. *International Journal for Parasitology*, 2006, s. 309-318.
- PHELPS, N. B. D.; GOLDWIN, A. E. Vertical transmission of *Ovipleistophora ovariae* (Microspora) within the eggs of the Golden Shiner. *Journal of Aquatic Animal Health*, 2008, s. 45-53.
- PFEFFER, A. Fauna ČSR. 6. Kůrovci - Scolytidae (Řád: Brouci - Coleoptera). Praha: Nakladatelství ČSAV. 1955. 324 s.
- PFEFFER, A. Kůrovci v přírodních rezervacích. *Lesnická práce*, 1993, s.150-151.
- PFEFFER, A.; KNÍŽEK, M. Expanze lýkožrouta *Ips duplicatus* (Sahlb.) ze severské tajgy. *Zpravodaj ochrany lesa*, 1995, s. 8-11.

- PULTAR, O.; WEISER, J. Výsledky posledních patologických studií dominantních kůrovců v NP Šumava a jejich využití. In: 28. setkání lesníků tří generací „Nebezpečí kůrovce v roce 2004.“ Sborník referátů. Praha: Lesnická práce, 2004, s 82-88.
- PURRINI, K. Protozoen als Krankheitserreger bei einigen Borkenkäferarten (Col., Scolytidae) im Königsee-Gebiet, Oberbayern. Anzeiger für Schädlingskunde, Panzenschutz, Umweltschutz, 1978, s. 171-175.
- PURRINI, K.; FÜHRER, E. Experimentelle Infektion von *Pityogenes chalcographus* L. (Coleoptera, Scolytidae) durch *Malamoeba scolyti* Purrini (Amoebina, Amoebidae) und *Menzbieria chalcographi* Weiser (Neogregarina, Ophryocystidae). Anzeiger für Schädlingskunde, Panzenschutz und Umweltschutz, 1979, s. 167-173.
- PURRINI, K.; ŽIŽKA, Z. More on the life cycle of *Malamoeba scolyti* (Amoebidae: Sarcomastigophora) parasitizing the bark beetle *Dryocoetes autographus* (Scolytidae, Coleoptera). Journal of Invertebrate Pathology, 1983, s. 96-105.
- RAFFA, K. F.; BERRYMAN, A. A. The role of host plant resistance in the colonization behavior and ecology of bark beetles (Coleoptera: Scolytidae). Ecological Monographs, 1983, s. 27-49.
- RAMOS - RODRÍGUEZ, O.; CAMPBELL, J. F.; RAMASWAMY, S. B. Pathogenicity of three species of entomopathogenic nematodes to some major stored-product insect pests. Journal of Stored Products Research, 2006, s. 241-252.
- REDHEAD, S. A.; KIRK, P. M.; KEELING, P. J.; WEISS, L. M. Proposals to exclude the phylum Microsporidia from the Code. Mycotaxon, 2009, s. 505-507.
- ROBERTS, D. W.; HÁJEK, A. E. Entomopathogenic fungi as bioinsecticides. In: Leatham G. F. (ed.): Frontiers of industrial mycology. New York, Chapman and Hall, 1992, s. 144-159.
- RÜHM, W. Die Nematoden der Ipiden. Mit 10 Tabellen im Text. Jena, Fischer. 1956. 437 s.
- SCHAWANG, J. E.; JANOVY, J. JR. The response of *Gregarina niphandrodes* (Apicomplexa: Eugregarinida: Septatina) to host starvation in *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) adults. Journal of Parasitology, 2001, s. 600-605.
- SCHLYTER, F.; CEDERHOLM, I. Separation of the sexes of living spruce bark beetles, *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae). Z. Angew. Ent. 1981, s. 42-47.
- SIENKIEWICZ, P.; LIPA, J. *Gregarina vizri* (Apicomplexa: Eugregarinida) recorded in Poland in an expansive plant pest the cereal ground beetle *Zabrus tenebrioides* (Goeze) (Coleoptera: Carabidae). Journal of Plant Protection Research, 2008, s. 189-193.

- SIMMONS, L. W. Post - copulatory guarding female choice and the levels of gregarine infections in the field cricket *Gryllus binzaculatus*. Behavioral Ecology and Sociobiology, 1990, s. 403-407.
- SKUHRAVÝ, V. Lýkožrout smrkový (*Ips typographus* L.) a jeho kalamity. Praha: Agrospoj. 2002. s. 97-100.
- SMITH, A. J.; COOK, T. J.; LUTTERSCHMIDT, W. I. Effects of temperature on the development of *Gregarina cubensis* (Apicomplexa: Eugregarinida) parasitizing *Blaberus discoidalis* (Blattaria: Blaberidae). Journal of Parasitology, 2007, s. 583-588.
- SMITH, A. J., COOK, T. J. Host specificity of five species of Eugregarinida among six species of cockroaches (Insecta: Blattodea). Comparative Parasitology, 2008, s. 288-291.
- ŠVESTKA, M.; HOCHMUT, R.; JANČAŘÍK, V. Praktické metody v ochraně lesa. Silva Regina. 1996. 309 s.
- TAKOV, D.; PILARSKA, D.; WEGENSTEINER, R. Entomopathogens in *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) from several spruce stands in Bulgaria. Acta Zoologica Bulgarica, 2006, s. 409-420.
- TAKOV, D.; DOYCHEV, D.; WEGENSTEINER, R.; PILARSKA, D. Study on the pathogens of bark beetles (Coleoptera, Scolytidae) from different coniferous stands in Bulgaria. Acta Zoologica Bulgarica, 2007, s. 87-96.
- TAKOV, D.; PILARSKA, D.; WEGENSTEINER, R. List of protozoan and microsporidian pathogens of economically important bark beetle species (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Europe. Acta Zoologica Bulgarica, 2010, s. 201-209.
- TAKOV, D.; DOYCHEV, D.; LINDE, A.; DRAGANOVA, S.; PILARSKA, D. Pathogens of bark beetles (Coleoptera: Curculionidae) in Bulgarian forests. Phytoparasitica, 2011, s. 343-352.
- TANADA, Y.; KAYA, H. K. Protozoan infection: Apicomplexa, Microspora. In: Insect Pathology. San Diego, Academic Press, 1993, s. 414-458.
- THÉODORIDÉS, J. The phylogeny of the Gregarina (Sporozoa). Origins of Life and Evolution of Biospheres, 1984, s. 339-342.
- TONKA, T.; WEISER, J. JR.; WEISER, J. Budding: A new stage in the development of *Chytridiopsis typographi* (Zygomycetes: Microsporidia). Journal of Invertebrate Pathology, 2010, s. 17-22.
- TOSO, M.; OMOTO, C. K. Ultrastructure of *Gregarina niphandrodes* nucleus through stages from unassociated trophozoites to gamonts in syzygy and the syzygy junction. Journal of Parasitology, 2007, s. 479-484.

- TRONCHIN, G.; SCHRÉVEL, J. Chronologie des modifications ultrastructurales au cours de la croissance de *Gregarina blaberae*. *Journal of Protozoology*, 1977, s. 67-82.
- UNAL, S.; YAMAN, M.; TOSUN, O.; AYDIN, C. Occurrence of *Gregarina typographi* (Apicomplexa, Gregarinidae) and *Metschnikowia typographi* (Ascomycota, Metschnikowiaceae) in *Ips sexdentatus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) populations in Kastamonu (Turkey). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2009, s. 2687-2691.
- VALIGUROVÁ, A.; MICHÁLKOVÁ, V.; KOUDELA, B. Eugregarine trophozoite detachment from the host epithelium via epimerite retraction: fiction or fact? *International Journal for Parasitology*, 2009, s. 1235-1242.
- VANNINEN, I. Distribution and occurrence of four entomopathogenic fungi in Finland: effect of geographical location, habitat types and soil type. *Mycological Research*, 1996, s. 93-101.
- VÁVRA, J.; LARSSON, J. I. R. Structure of the microsporidia. In: Whittner M., Weiss L.M. (eds.): *The microsporidia and microsporidiosis*. Washington, D.C., ASM Press, 1999, s. 7-84.
- VITÉ, J.P.; BAKKE, A.; RENWICK, J. A. A. Pheromone in *Ips* (Coleoptera: Scolytinae): Occurrence and production. *Can. Ent.*, 1972, s. 1967-1975.
- WEGENSTEINER, R. *Chytridiopsis typographi* (Protozoa, Microsporidia) and other pathogens in *Ips typographus* (Coleoptera, Scolytidae). *IOBC/WPRS Bulletin*, 1994, s. 39-42.
- WEGENSTEINER, R.; WEISER, J. A new *Entomopoxvirus* in the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 1995, s. 203-205.
- WEGENSTEINER, R.; WEISER, J.; FÜHRER, E. Observations on the occurrence of pathogens in the bark beetle *Ips typographus* L. (Coleoptera, Scolytidae). *Journal of Applied Entomology*, 1996, s. 199-204.
- WEGENSTEINER, R.; WEISER, J. Occurrence of *Chytridiopsis typographi* (Microspora, Chytridiopsida) in *Ips typographus* L. (Col., Scolytidae) field population and in a laboratory stock. *Journal of Applied Entomology*, 1996a, s. 595-602.
- WEGENSTEINER, R.; WEISER, J. Untersuchungen zum Auftreten von Pathogenen bei *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) aus einem Naturschutzgebiet in Schwarzwald (Baden-Württemberg). *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz*, 1996b, s. 162-167.

- WEGENSTEINER, R.; WEISER, J. 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*, 2004, s. 221-228.
- WEGENSTEINER, R. Pathogens in bark beetles, 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*, Asynthesis. Kluwer, Dordrecht, 2004, s. 291–313.
- WEGENSTEINER, R.; DEDRYVER, C. A.; PIERRE, J. S. 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*, 2010, s. 49-57.
- WEISER, J. Příspěvek k znalosti cizopasníků kůrovce *Ips typographus* II. *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae*, 1955, s. 374-382.
- WEISER, J. *Nemoci hmyzu*. Praha: Academia, 1966. 556 s.
- WEISER, J.; WEGENSTEINER, R. A new *Entomopoxvirus* in the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera, Scolytidae) in Czechoslovakia. *Zeitschrift für Angewandte Zoologie*, 1994, s. 425-434.
- WEISER, J.; WEGENSTEINER, R.; ŽIŽKA, Z. *Canningia spinidentis* gen. et sp. n. (Protista: Microspora), a new pathogen of the fir bark beetle *Pityokteines spinidens*. *Folia Parasitologica*, 1995, s. 1-10.
- WEISER, J.; WEGENSTEINER, R.; ŽIŽKA, Z. *Unikaryon montanum* sp.n., (Protista, Microspora), a new pathogen of the spruce bark beetle, *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae). *Folia Parasitologica*, 1998, s. 191-195.
- WEISER, J.; PULTAR, O.; ŽIŽKA, Z. Biological protection of forest against bark beetle outbreaks with poxvirus and other pathogens. *IUAPPA, Section B*, 2000, s. 168-172.
- WEISER, J. Patogenní organismy. In: Skuhravý V. (ed.): *Lýkožrout smrkový (*Ips typographus* L.) a jeho kalamity*. Praha: Agrospoj, 2002, s. 97-100.
- WEISER, J.; WEGENSTEINER, R.; HÄNDEL, U.; ŽIŽKA, Z. Infections with the Ascomycete *Metschnikowia typographi* n. sp. in the bark beetle *Ips typographus* and *Ips amitinus* (Col., Scolytidae.). *Folia Microbiologica*, 2003, s. 611-618.
- WEISER, J.; HOLUŠA, J.; ŽIŽKA, Z. *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*, 2006, s. 127-135.

- WERMELINGER, B. Development and distribution of predators and parasitoids during two consecutive years of an *Ips typographus* (Col., Scolytidae) infestation. *Journal of Applied Entomology*, 2002, s. 521-527.
- WERMELINGER, B. Ecology and management of the spruce bark beetle *Ips typographus* – a review of recent research. *Forest Ecology and Management*, 2004, s. 67-82.
- WERMELINGER, B.; RIGLING, A.; SCHNEIDER MATHIS, D.; DOBBERTIN, M. Assessing the role of bark- and wood-boring insects in the decline of Scots pine (*Pinus sylvestris*) in the Swiss Rhone valley. *Ecological Entomology*, 2008, s. 239-249.
- WITTNER, M.; WEISS, L. M. The microsporidia and microsporidiosis. Washington DC, ASM Press, 1999. 553 s.
- XU, Y.; WEISS, L. M. The microsporidian polar tube: a highly specialised invasion organelle. *International Journal for Parasitology*, 2005, s. 941-953.
- YAMAN, M. *Gregarina phyllotretae* Hoshide 1953, a protozoan parasite of the flea beetles, *Phyllotreta undulata* and *P. atra* (Coleoptera: Chrysomelidae) in Turkey. *Applied Entomology and Zoology*, 2002, s. 649-653.
- YAMAN, M. *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*, 2007, s. 359-363.
- YAMAN, M. First results on distribution and occurrence of the insect pathogenic alga *Helicosporidium* sp. (Chlorophyta: Trebouxiophyceae) in the populations of the great spruce bark beetle, *Dendroctonus micans* (Kugelann) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae). *North-Western Journal of Zoology*, 2008, s. 99-107.
- ZAHRADNÍK, P.; KNÍŽEK, M.; KAPITOLA, P.; RODZIEWICZ, A.; KOLK, A. Porovnání odchyťových vlastností nových typů feromonových lapačů na lýkožrouta smrkového (*Ips typographus* L.). *Zpr. Les. Výzk.*, 1991, s. 7-15.
- ZAHRADNÍK, P.; LIŠKA, J.; ŽĎÁREK, J. Feromony v ochraně lesa - MZe ČR, 1993. 56 s.
- ZAHRADNÍK, P. Základy ochrany lesa v praxi. 2. vydání. Lesnická práce. Kostelec nad Černými lesy, 2006. 128 s.
- ZAHRADNÍK, P. Aplikace přípravků na ochranu lesa. 2. vydání. Lesnická práce. Kostelec nad Černými lesy, 2006. 76 s.
- ZITTERER, P. M. Antagonists of *Ips acuminatus* (Gyllenhal) with special consideration of pathogens. Diploma thesis. Wien, Universität für Bodenkultur, 2002. 56 s.

ZUK, M. The effects of gregarine parasites, body size, and time of day on spermatophore production and sexual selection in field crickets. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 1987, s. 65-72.

Internetové zdroje

Beskydské informační centrum. Vítejte v Beskydech! [online]. Frýdek - Místek, [2014] [cit. 2014 - 04 - 24]. Dostupné z www.beskydy-info.cz.

Obec Pustá Polom. Základní údaje. [online]. Pustá Polom, [2007] [cit. 2014 - 04 - 24]. Dostupné z www.pustapolom.cz.

Správa KRNAP. Přírodní poměry. [online]. Vrchlabí, [2010] [cit. 2014 - 04 - 24]. Dostupné z www.krnep.cz.