

## PATOGENY LÝKOŽROUTŮ RODU *IPS* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE): REVIEW

### PATHOGENS OF BARK BEETLES OF THE GENUS *IPS* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE): REVIEW

KAROLINA LUKÁŠOVÁ<sup>1)</sup> - JAROSLAV HOLUŠA<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta lesnická a dřevařská, Praha

<sup>2)</sup>Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i., Strnady

#### ABSTRACT

Some bark beetles of genus *Ips* occurring in Europe attack multiple tree hosts. This probably explains why some of the bark beetle diseases have also more hosts. For example *Gregarina typographi* was known from all of six analysed species and *Chytridiopsis typographi* from midgut epithelium of five species of the genus *Ips*. On the other hand there is only one known species-specific pathogen *Larssoniella typographi* described in *Ips duplicatus*. At present, around twenty species of pathogens were described in bark beetle subfamily Scolytinae, out of which ten are known in the spruce bark beetle *Ips typographus*. For most pathogens, only rare information is available about influence on beetles: on the vitality, fertility, flight ability, hibernation, etc. Moreover, most experiments are conducted under laboratory conditions. In this paper we summarize the knowledge of pathogens (viruses, protozoa, fungi) and parasitic nematodes and give a comprehensive overview of detected pathogens in different species of genus *Ips*.

**Klíčová slova:** rod *Ips*, mikrosporidie, gregariny, virus, populační hustota, předávání

**Key words:** genus *Ips*, microsporidia, gregarines, virus, population density, transmission

#### ÚVOD

Lýkožrousti rodu *Ips* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) napadají ve střední Evropě jehličnaté porosty především smrku ztepilého (*Picea abies* (L.) Karst.), např. *Ips typographus* (L., 1758), *I. amitinus* (Eichhoff, 1871) (CABI/Eppo 1997; GRODZKI 1997; MAZUR et al. 2006) a *I. duplicatus* (Sahlberg, 1836) (PFEFFER, KNÍŽEK 1995; CABI/Eppo 1997; GRODZKI 2003; HOLUŠA et al. 2003). Borovice *Pinus sylvestris* L. a další zástupce rodu *Pinus* preferuje *Ips acuminatus* (Gyllenhal, 1827) a *I. sexdentatus* (Börner, 1776) (BAKKE 1968; CABI/Eppo 1997; WERME-LINGER et al. 2008). Na modřín *Larix decidua* Miller je jako na hlavní hostitelskou rostlinu vázán *Ips cembrae* (Heer, 1836) (POSTNER 1974; OEPF/Eppo 2005). Hostitelské druhy dřevin se mohou příležitostně překrývat a jednotlivé druhy lýkožROUTŮ se vzhledem ke své podobné bionomii potkávají a nejspíše si i předávají patogenní organismy.

V současnosti známe několik desítek druhů patogenů (tab. 1) a hlístic, které byly nalezeny v tělech lýkožROUTŮ rodu *Ips*. První popisy pocházejí z počátku 20. století (FUCHS 1915), další až z poloviny 20. století. Intenzivně jsou nemoci studovány od poloviny devadesátých let (WEGENSTEINER 2004). V té době bylo objeveno nejvíce druhů, poslední pak v roce 2006 (WEISER et al. 2006). Přehled všech nemocí (mikrosporidie a prvoci) byl zpracován TAKOVEM et al. (2010). Ve většině případů známe jen ultrastrukturu nemocí a výše infekčních nákaz různých populací, avšak bez vztahu k početnosti hostitele. U většiny druhů neznáme vývojové cykly nebo v současné době probíhá jejich

výzkum. Ještě slabší jsou znalosti o hlísticích. Všechny druhy vázané na rod *Ips* byly zpracovány v monografii RÜHMA (1956), od té doby bylo napsáno jen několik studií na toto téma.

V této práci si klademe za cíl kompletně shrnout znalosti o patogenech a hlísticích parazitujících v lýkožROUTECH rodu *Ips*. Poslední podobné shrnutí se objevilo v práci WEISERA (2002) o lýkožROUTU smrkovém a WEGENSTEINERA (2004).

#### VIRY

Virová onemocnění jsou druhově specifická, selektivní a způsobují rozpad hostitelských tkání v kalnou tekutinu. Mléčné zbarvení způsobují bílkovinné polyedry, které se před úhynem jedince objevují v tukovém tělese. Nejčastějšími hostiteli jsou housenky motýlů. Vnějšími příznaky patogenu je masové hynutí larválních instarů na vrcholcích větví či listů (WEISER 1966). Kultivace virů je reálná pouze za laboratorních podmínek, protože vyžaduje přesné technologické postupy.

Entomopoxvirus známý u *Ips typographus* (*ItEPV*, obr. 1) a dalších druhů rodu *Ips* se projevuje tvorbou bílkovinných světlolomných inkluzí pouze ve stěně střeva dospělých brouků, jiné orgány nenapadá (WEISER, WEGENSTEINER 1994; WEGENSTEINER, WEISER 1995; WEISER et al. 2000; BURJANADZE, GOGINASHVILI 2009; YAMAN, BAKI 2011). Čočkovité inkluze obsahují větší množství sendvičovitých virových částic (hranaté), postupně vyplňují střevní epitel a uvolňu-

**Tab. 1.**

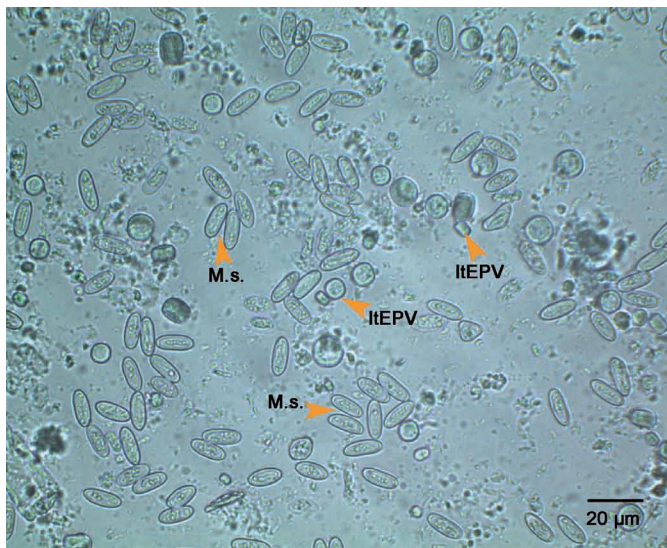
Přehled zjištěných patogenů (bez hlístic a hub s výjimkou mikrosporidií a *M. typographi*) u lýkožroutů rodu *Ips* (dle WEGENSTEINER 2004; TAKOV et al. 2006; BURJANADZE, GOGINASHVILI 2009; UNAL et al. 2009; TAKOV et al. 2010; WEGENSTEINER et al. 2010; LUKÁŠOVÁ, HOLUŠA 2011; MICHÁLKOVÁ et al. 2011; TAKOV et al. 2011; HOLUŠA et al. 2012)

Overview of the identified pathogens (excluding nematodes and fungi except microsporidia and *M. typographi*) on bark beetle genus *Ips* (according to WEGENSTEINER 2004; TAKOV et al. 2006; BURJANADZE, GOGINASHVILI 2009; UNAL et al. 2009; TAKOV et al. 2010; WEGENSTEINER et al. 2010; LUKÁŠOVÁ, HOLUŠA 2011; MICHÁLKOVÁ et al. 2011; TAKOV et al. 2011; HOLUŠA et al. 2012) (listed from the top: Pathogens/Species, Systematic classification, Σ citations, Σ pathogens).

Patogeny/Druhy	Systematické zařazení	<i>Ips typographus</i>	<i>Ips acuminatus</i>	<i>Ips sexdentatus</i>	<i>Ips amitinus</i>	<i>Ips duplicatus</i>	<i>Ips cembrae</i>	Σ citace
<i>Malamoeba scolyti</i>	Rhizopoda	x	x	-	-	-	-	6
<i>Gregarina typographi</i> *	Apicomplexa	x	x	x	x	x	x	33
<i>Telosporidium typographi</i>	Apicomplexa	x	-	-	-	-	-	1
<i>Menzbieria chalcographi</i>	Apicomplexa	x	-	-	-	-	-	4
<i>Mattesia schwenkei</i> *	Apicomplexa	x	x	-	-	-	x	7
<i>Chytridiopsis typographi</i>	Microsporidia	x	x	-	x	x	x	22
<i>Nosema typographi</i> *	Microsporidia	x	-	-	-	-	x	10
<i>Unikaryon montanum</i> *	Microsporidia	x	-	-	x	-	-	6
<i>Larssoniella duplicati</i>	Microsporidia	-	-	-	-	x	-	3
<i>Metschnikowia typographi</i>	Ascomycota	x	-	x	x	-	-	4
<i>ItePV</i>	dsDNA viry	x	-	-	x	-	-	8
Σ patogeny		10	4	2	5	3	4	104

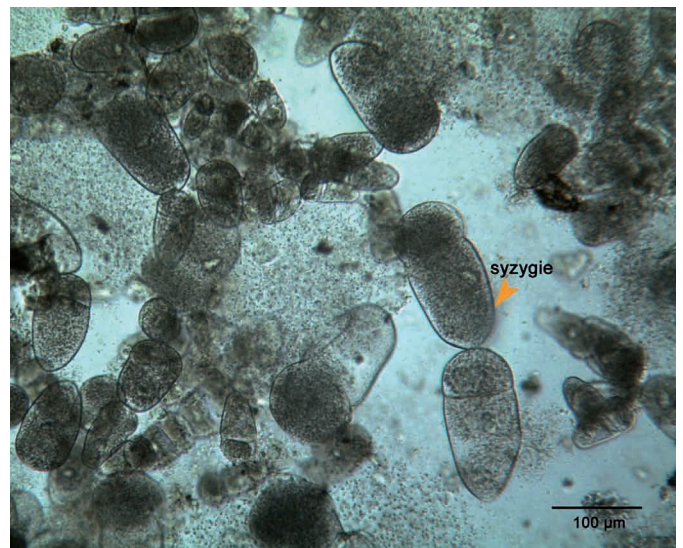
\* Druhy, u kterých si autoři nebyli jistí a určili je pouze do rodu, jsme přiřadili k již popsaným druhům. Zřejmě se totiž jedná o tyto již existující druhy (vzhledem k podobné bionomii a vazbě na stejné hostitelské dřeviny lýkožroutů). Bez genetických testů, které jsou zejména u mikrosporidií velmi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

\* Species of which the authors were not sure and determined only their genus, were assigned to the previously described species. Probably they are already existing (considering similar bionomy and relation to the same host tree species of bark beetles). Without genetic tests that are especially in microsporidia very complicated, it is not strictly necessary to separate them yet.



**Obr. 1.**  
Sferoidy *ItePV* a cysty neogregariny *Mattesia schwenkei* (M.s.) v hemolymfě *Ips typographus* (foto: K. Lukášová)

**Fig. 1.**  
Spheroids of *ItePV* and cysts of neogregarine *Mattesia schwenkei* (M.s.) in the hemolymph of *Ips typographus* (photo: K. Lukášová)



**Obr. 2.**  
Stadium trofozoitů, gamontů a syzygie *Gregarina typographi* zaznamenaná u lýkožrouta *Ips typographus* (foto: K. Lukášová)

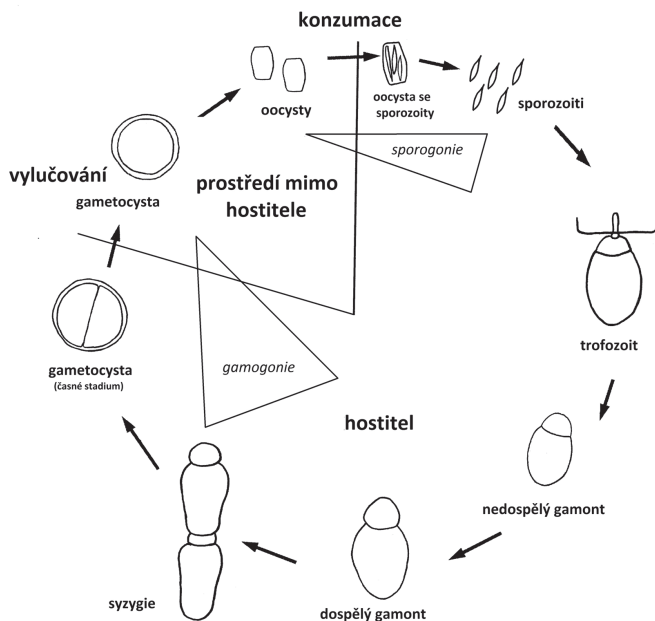
**Fig. 2.**  
Life stage of trophozoites, gamonts and syzygy of *Gregarina typographi* recorded in bark beetle *Ips typographus* (photo: K. Lukášová)

ji se s výkaly (WEGENSTEINER 2004). Může dojít až k perforaci střeva a úmrtí hostitele. V České republice je tento virus zaznamenán především z Šumavy (WEISER et al. 2000; WEISER 2002). Patogen se přenáší trusem a předává se během úživného žíru. Aplikace infekce byla dosažena ošetřenými poleny lapáku (rozdrcení nakažených broucí a feromonový odparník) (PULTAR, WEISER 2004). Další práce studující efektivitu těchto přenosů a vlivů na brouky nepřinesly uspokojivé výsledky (HOLUŠA et al. 2004). HÄNDEL et al. (2001) našel *ItEPV* také u *I. amitinus* v Rakousku.



**Obr. 3.**  
Gametocysty *Gregarina typographi* v lumenu střeva *Ips typographus* (foto: K. Lukášová)

**Fig. 3.**  
Gametocysts of *Gregarina typographi* in gut lumen of *Ips typographus* (photo: K. Lukášová)



**Obr. 4.**  
Životní cyklus *Gregarina typographi* (autor schématu: J. Holuša)  
**Fig. 4.**  
Life cycle of *Gregarina typographi* (schematic drawing: J. Holuša)

Svými vlastnostmi (selektivita, účinnost) patří viry mezi potenciálně nejvhodnější prostředky biologického boje s lesními i zemědělskými škůdci. Výsledky terénních pokusů však momentálně nejsou uspokojivé a předběžné výsledky naznačují, že viry v boji proti lýkožroutu smrkovému nebudou efektivní. Jejich aplikace naráží na obtížnou izolaci a komplikace při výrobě.

### PRVOCI (PROTOZOA)

Mezi patogeny lesních a zemědělských škůdců řadíme také prvoky, především měňavky, hromadinky a kokcidie (WEISER 1966). Jejich význam v použití v biologickém boji proti škůdcům je omezený, některé druhy např. gregariny jsou někdy označovány spíše jako komenzální organismy a neogregariny napadající tukové těleso se velice špatně šíří (prakticky dojde k předání nemoci až po uhybnutí a rozkladu hostitelských tkání). S druhem *Malamoeba scolyti* (Purrini, 1980) a *Menzbieria chalcographi* (Weiser, 1955) byly provedeny jedny z prvních infekčních pokusů u kůrovce *Pityogenes chalcographus* (L., 1761) (PURRINI, FÜHRER 1979). Kokcidie se u kůrovců nevyskytují.

#### • Měňavky (Rhizopoda)

V Malphigických trubčích a střevě hmyzu se usazují měňavky rodu *Malamoeba*, u kůrovců se jedná o druh *Malamoeba scolyti* (Rhizopoda, Amoebidae) popsán poprvé u druhu *Dryocoetes autographus* (Ratzeburg, 1837). Potvrzen byl u dvou druhů lýkožroutů: ve střevě *I. typographus* (WEGENSTEINER 1994; WEGENSTEINER et al. 1996; HÄNDEL et al. 2001) a *I. acuminatus* (ZITTERER 2002). Celý životní cyklus *M. scolyti* u *D. autographus* popsali PURRINI, ŽIŽKA (1983). Tento patogen se vyznačuje velkými vejčitými cystami, které z těla hostitele odcházejí přes zadní střevo spolu s trusem. Pokud se namnoží, může dojít k ucpání trubčích, čímž je znemožněno vyměšování odpadních látek z těla (WEISER 2002). Byla provedena experimentální infekce dalších kůrovců včetně zástupců rodu *Ips* (*I. typographus*, *I. acuminatus*, *I. sexdentatus*) a na rozdíl od kontrolních jedinců došlo ke zkrácení délky života brouků zhruba na polovinu (KIRCHHOFF, FÜHRER 1990).

#### • Hromadinky (Apicomplexa)

Hromadinky jsou obligátní paraziti bezobratlých zahrnující tradičně tři skupiny: Archigregarinida, Eugregarinida a Neogregarinida (THÉODORIDÉS 1984). V posledních letech byla prokázána jejich fylogenetická příbuznost se zástupci rodu *Cryptosporidium*, významnou skupinou patogenů obratlovců (BARTA, THOMPSON 2006). Obecně jsou nové druhy řádu eugregarin popisovány na základě kritérií jako je obecná morfologie, morfometrie, tvar epimeritu, velikost a tvar a načasování spojení gamontů (SMITH, COOK 2008). Dnes je popsáno více než 1 700 druhů gregarin z přibližně 3 200 hostitelských druhů (CLOPTON 2000).

Zástupci těchto parazitů se běžně vyskytují u hmyzu (ZUK 1987; SIMMONS 1990; LANGE, WITTENSTEIN 2002; SMITH et al. 2007; SMITH, COOK 2008; LOCKLIN, VODOPICH 2010), zvláště u brouků (Coleoptera) (SCHAWANG, JANOVY 2001; YAMAN 2002, 2007; SIENKIEWICZ, LIPA 2008). Z hmyzích druhů bylo pouze 0,32 % známých taxonů studováno na přítomnost eugregarin (CLOPTON 2000).

Eugregarina *Gregarina typographi* (Fuchs, 1915) byla zjištěna ve střední části střeva u celé řady zástupců podčeledi Scolytinae (TAKOV et al. 2007, 2010; YAMAN 2007, 2010; HOLUŠA et al. 2009; KERESLIDZE et al. 2010). Gregariny se vyznačují několika vzhledově odlišnými stadii. Mají přímý vývojový cyklus – nemají žádného mezihostitele nebo vektor přenosu (CLOPTON, GOLD 1996). Kůrovci se infikují požitím oocyst v nakaženém trusu, zbytcích těla uhynulých jedinců a kanibalismem při tvorbě požerku nebo při zralostním žíru. Po požití

oocyst je aktivována excystace ve střevním epitelu, uvolnění sporozoiti prodělávají v trávicí soustavě vnitrobuněčný vývoj mezi mikrovily střevního epitelu (TRONCHIN, SCHRÉVEL 1977) a dorůstají do tzv. trofozoitů. Trofozoiti zůstávají spojeni se střevním epitelem 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 spojují do dvojic jako haploidní gamonti – tento proces se nazývá syzygie a je zakončen vznikem reproduktivní gametocysty (obr. 2 – 4). Gametocysta vychází z těla hostitele spolu s trusem. Ve vnějším prostředí probíhá mixie a sporogonie. Gametocysty praskají po uzrání a životní cyklus začíná znovu (CLOPTON, GOLD 1996; OMOTO et al. 2004; TOSO, OMOTO 2007).

Ze současných výzkumů je jasné, že *G. typographi* není pravděpodobně velmi virulentní patogen (YAMAN 2007; WEGENSTEINER et al. 2010). Obecně gregariny zřejmě způsobují mechanická a fyziologická poškození střevního epitelu, ovlivňují vylučování metabolitů a toxinů během procesu pinocytózy. Vývoj trofozoitů poškozuje buňky ve střevním epitelu a poskytuje tak vstupní bránu do tělní dutiny pro další patogeny (LIPA 1967). Poškození středního střeva však mohou být lehce kompenzována buněčnou regenerací a patologický efekt na hostitele je obecně velmi slabý (LIPA 1967; TANADA, KAYA 1993). V případě vysokého počtu trofozoitů může jedinec zemřít na ucpání střeva (CERYNGIER, HODEK 1996).

Tukové těleso hostitelských druhů hmyzu je napadáno a ničeno schizogregarinami (Apicomplexa, Neogregarinida). Onemocnění způsobuje během merogonie a sporogonie patogena lýzi buněk tukového tělesa (PERKINS 2000), čímž zřejmě zvyšuje úmrtnost přezimujících jedinců. *Menzbieria chalcographi* sporuluje v kulovitých cystách s 30 sporami. Cysty se v nakaženém jedinci rozpadají na protáhle vejčité až člunkovité spory, jejichž počet dosahuje až 100 tisíc. Uvolní se až po uhynutí hostitele. Nakažení jedinci většinou nevlétají a zůstávají v chodbičkách po úživném žíru a k přenosu tak dochází až po rozložení jedince (WEISER et al. 2000). Obecně se jedná o poměrně vzácný patogen rodu *Ips* (WEGENSTEINER, WEISER 2004; HOLUŠA et al. 2009). Nákazu je možné uměle rozšířit postříkáním suspenze nakažených jedinců na povrch lapáku (HOLUŠA, WEISER 2005). Původně popsáný další druh neogregariny *Telosporidium typographi* (FUCHS 1915) z tukové tkáně *I. typographus* byl podle morfologické charakteristiky nejspíše zástupce rodu *Mattesia* (obr. 1), popsaného později dalšími autory (WEGENSTEINER, WEISER 1996a; HÄNDEL et al. 2003). U dalších druhů škůdců jsou neogregariny zaznamenány zřídka (WEGENSTEINER 2004).

## HOUBY (FUNGI)

Řada houbových onemocnění je spíše sekundárním faktorem objevujícím se až po úhynu jedinců způsobeným jinými faktory, jako poškození a přehřátí.

Mezi hlavní houbové patogeny škůdců patří především *Beauveria bassiana* (Bals.) a *Beauveria brongniartii* (Sac.) pokrývající tělo hostitelů hustým bílým povlakem mycelií a konidii („bílý muskardín“). *B. bassiana* je popsána jako patogen vyskytující se u více než 100 druhů hmyzu (HAJEK, ST. LEGER 1994). Tato houba je potenciálním nástrojem pro biologickou kontrolu mnoha hospodářských škůdců a hodnocena jako náhrada za běžně užívané chemické pesticidy (ROBERTS, HAJEK 1992). Průkazně hojněji se objevuje v lesních biotopech, zatímco další entomopatogenní houba *Metarhizium anisopliae* (Metch.) více v zemědělských biotopech (VANNINEN 1996; BIDOCHKA et al. 2002).

V ČR byl registrován biopreparát Boverol obsahující prášek s konidii entomopatogenní houby *B. bassiana*. Preparát byl primárně určen proti mandelince bramborové, ale je účinný i proti dalším škůdcům, např. housenicím pilatek, obalečům, ponravám chroustů (školky

i koruny stromů) a larvám v půdě (klikoroh, lalokonosci, ponravy) (WEISER 1966). Využívání biopreparátů na bázi *B. bassiana* proti *I. typographus* je rozšířeno zejména v Německu, Švýcarsku a Rakousku, na experimentální úrovni je tato houba zkoušena i v dalších zemích (např. USA, Austrálie, Finsko, Polsko). Nejčastěji je *B. bassiana* aplikována formou vodních suspenzí spor na povrch napadených stromů nebo stromových lapáků.

U brouků získaných na Šumavě z feromonových lapáčů je nejběžnější entomogenní houbou *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas, zatímco u brouků na stromech (*P. abies*) je nejběžnější *B. bassiana* (LANDA et al. 2001). Výsledky laboratorních studií dokazují, že v porovnání s většinou ostatních druhů entomopatogenních hub vykazuje *B. bassiana* po aplikaci na dospělce *I. typographus* nejen nejvyšší virulenci (WEGENSTEINER 1996; KREUTZ et al. 2004) – hlavně izoláty získané z čistých kultur z mrtvých hostitelů (DRAGANOVA et al. 2007), ale i zjevně největší adaptaci na tohoto hostitele ve smyslu autodiseminace (samošíření), tj. schopnosti patogenů šířit se prostřednictvím přirozených mechanismů odrážejících populační chování hostitele (LANDA et al. 2007).

Příkladem praktického využívání tohoto jevu je i unikátní forma aplikace *B. bassiana*, při které je práškový koncentrát konidii patogena aplikován přímo do sběrné části feromonového lapáče, který je upraven tak, aby byla zachována jeho atraktantní funkce, nicméně dospělci kůrovce nejsou natrvalo odchyceni sběrnou částí lapáče. Cílem této aplikace je kontaminovat povrch těla dospělců vysokou dávkou spor a zajistit tak nejen usmrcení konkrétního jedince kontaminovaného při průchodu lapáčem, ale zároveň podpořit i šíření nákazy v lokální populaci. Praktické výsledky prokázaly, že tato forma využití biopreparátů na bázi *B. bassiana* je velmi účelná zejména v situacích, kdy od aplikace není očekáván okamžitý účinek, ale perspektiva dlouhodobějšího potlačování populací škůdce (LANDA et al. 2007). Předpokládané vysoké účinnosti pravděpodobně nebude dosaženo, protože od těchto pokusů uplynulo již 5 let a nejsou k dispozici uspokojivé výsledky o vlivu na populace kůrovce.

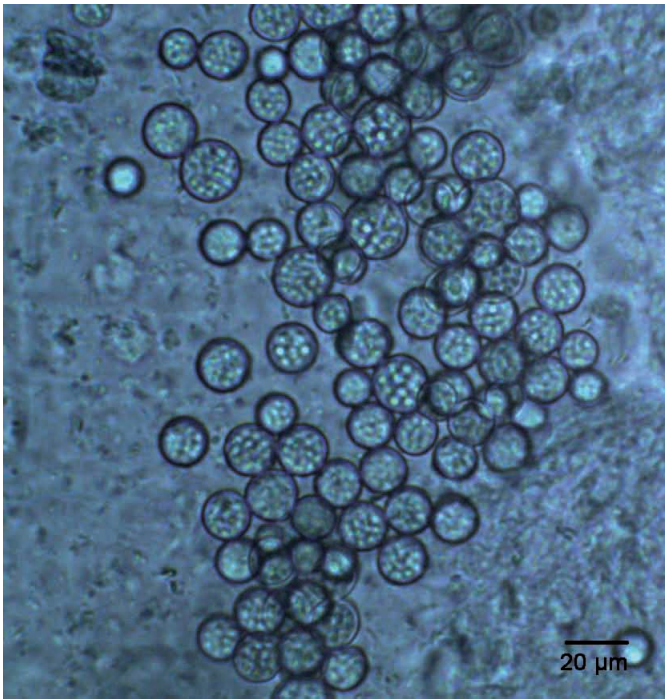
Mezi další houbové entomopatogeny řadíme např. příležitostný patogen v hemolymfě a střevním epitelu kůrovců: kvasinka *Metschnikowia typographi* (Ascomycota: Metschnikowiaceae) (WEISER et al. 2003; UNAL et al. 2009).

## MIKROSPORIDIE (ZYGOMYCETES: MICROSPORIDIA)

Tato skupina striktně intracelulárních parazitů byla dříve řazena k prvokům, dnes se považují za primitivní houby (CORRADI, KEELING 2009; REDHEAD et al. 2009). Jedná se přibližně o 1 300 oficiálně popsáných druhů = 160 rodů (WITTNER, WEISS 1999). Mikrosporidie jsou nejčastěji se vyskytující patogeny lesních i zemědělských hmyzích škůdců, vyvíjejí se ve všech tkáních a vývojových stádiích hostitele. K infekci dochází nejčastěji pozřením nakažené potraviny (HOLUŠA, WEISER 2005). Pouze v případech velmi silné infekce můžou mikrosporidie napadnout vaječníky a objevuje se transovariální přenos (WEISER et al. 2000; PHELPS, GOODWIN 2008).

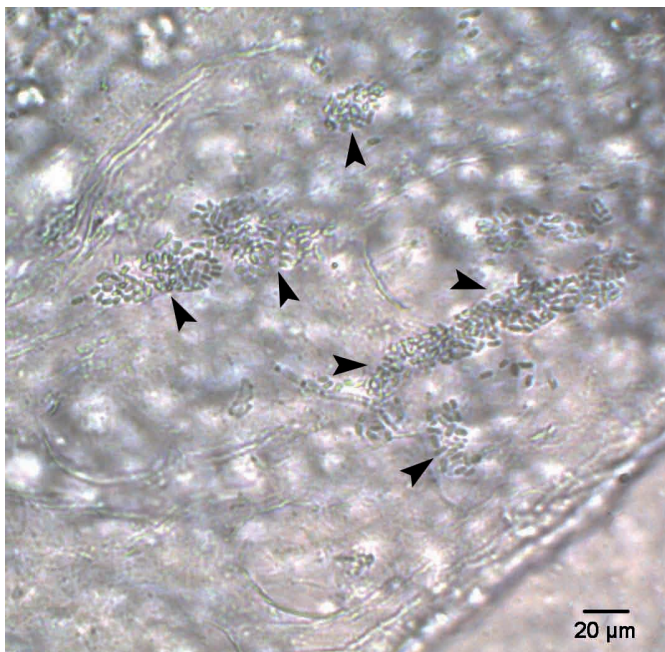
Mikrosporidie mají uniformní životní cyklus (CALI, TAKVORIAN 1999). Zralá spora obsahuje typický vystřelovací aparát. V klidovém stavu je jeho hlavní složkou spirálně svinutá pólová trubice, posteriorní vakuola a polaroblast (= systém membrán ohraničený dutinami v přední části spory, většinou objemná struktura obklopující rovnou část pólového vlákna a končící na úrovni prvního závitů vlákna) (FRANZEN 2004, 2005; XU, WEISS 2005; DELBAC, POLONAI 2008).

Klíčící spora vstřikuje svůj obsah ve formě malé buňky = sporoplazmy do cytoplasmu hostitelské buňky. Sporoplazma roste a dělí se pomocí merogonie do buněk zvaných meronti, které se dále dělí a postupně vyplňují cytoplasmu hostitelské buňky. Pak je na základě neznámého



**Obr. 5**  
Silnostěnné cysty *Chytridiopsis typographi* nalezené v mesenteronu *Ips typographus* (foto: K. Lukášová)

**Fig. 5.**  
Thick-walled cysts of *Chytridiopsis typographi* found in midgut of *Ips typographus* (photo: K. Lukášová)



**Obr. 6.**  
Povrch střeva se sporami *Larssoniella duplicati* ve svalových vláknech středního střeva *Ips duplicatus* (foto: K. Lukášová)

**Fig. 6.**  
Surface of the midgut with spores of *Larssoniella duplicati* in the muscle strands of the muscularis in the midgut of *Ips duplicatus* (photo: K. Lukášová)

signálu aktivována 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; PEUVEL-FANGET et al. 2006), jež jsou postupně ukládány na plazmatické membráně stádia sporontů. Sporonti se mohou ještě na chvíli rozdělit v procesu sporogonie, ale nakonec každá sporontní buňka dává vzniknout komplexnímu složení spory včetně vystřelovacího aparátu. Spora, která je výsledkem vnitřní diferenciací jediné buňky (VÁVRA, LARSSON 1999), je jediná fáze objevující se volně a je to stadium zodpovědné za šíření patogenu.

U kůrovců je známo několik druhů mikrosporidií. Tyto druhy napadají střevní epitel středního střeva, dostávají se do vaječníků a jsou předávány larvám (WEISER et al. 1998; WEISER 2002; WEGENSTEINER 2004). U larev se výskyt onemocnění a mortalita neprojevuje. Hodnoty infekční hladiny nad 30 % u viru a mikrosporidií považuje bez hlubšího studia WEISER (2002) za příznak nastupujícího zániku ohniska přemnožení brouků pomocí přirozené regulace populace.

*Unikaryon montanum* (Weiser, Wegensteiner, Žizka, 1998) je nalézán v tukové tkáni, Malphigických trubicích a vaječnicích lýkožrouta smrkového (WEGENSTEINER, WEISER 2004). *Nosema typographi* (Weiser, 1955) je lokalizován v tukové tkáni, ováriích a Malphigických trubicích. Má dvoujaderné spory odcházející s trusem (PURRINI 1978; WEGENSTEINER, WEISER 1996b). Promožení v populacích *I. typographus* je běžně velmi nízké, pohybuje se kolem 2 % i méně (WEGENSTEINER, WEISER 1996b; HÄNDEL et al. 2003).

Nejběžnější mikrosporidie *Chytridiopsis typographi* (původně *Haplosporidium typographi*) [(Weiser, 1954) Weiser, 1970] (obr. 5) se vyznačuje tvorbou velmi odolných silnostěnných cyst se 16 – 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. 2010; WEGENSTEINER et al. 2010; MICHÁLKOVÁ et al. 2011). *Ch. typographi* vytváří vředovitá ohniska, kde dochází k porušení střeva. Vyznačuje se dvěma typy spor: tenkostěnnými – na vnější prostředí méně odolnými – a silnostěnnými. Tenkostěnné spory, produkované v tenkostěnných dočasných sporoforních váčcích, šíří infekci uvnitř hostitele tím, že vstříknou sporoplazmu do epitelových buněk střeva původního hostitele. Silnostěnné spory jsou umístěny v trvalém sporoforním váčku připomínajícím cystu, který neuvolňuje spory v původním hostiteli, ale je vylučován s trusem. Tyto spory zůstávají infekční po dobu několika měsíců ve vnějším prostředí a slouží pro horizontální přenos patogenu. Kromě toho má *Ch. typographi* rané vývojové stadium s vícejadernými mateřskými buňkami, z nichž každá vytváří jeden pupen v epitelu středního střeva. Kulovitý pupen je spojen s mateřskou buňkou límcem a buněčné složky jsou tlačeny ke vzdálenému konci pupenu. Obě mateřské buňky a pupen pokračují ve vývoji, pupen se poté oddělí od mateřské buňky, roste a produkuje buňky stejného typu. Obě buňky pak pokračují ve sporogoniálním vývoji a vytváří cysty s výtrusy. Proces, kdy jedna mateřská buňka produkuje jediný pupen rostoucí do stejného strukturovaného a velkého stadia, nemá obdobu u jiných mikrosporidií (TONKA et al. 2010). Obecně je *Ch. typographi* nespecifický patogen napadající pouze epitel střeva řady zástupců podčeledi Scolytinae (WEGENSTEINER 2004). Infekční hladina tohoto patogenu variuje většinou v řádech desítek procent (WEGENSTEINER 2004; WEGENSTEINER, WEISER 2004; HOLUŠA et al. 2009; WEGENSTEINER et al. 2010).

Nedávno byla popsána druhově specifická mikrosporidie vázaná na *I. duplicatus*, *Larssoniella duplicati* (Weiser, Holuša, Žizka, 2006) (HOLUŠA et al. 2007; obr. 6) z východu České republiky a severovýchodního Polska. Jde o chronickou, široce rozšířenou nákazu. Infekční hladina tohoto patogenu dosahuje na některých lokalitách až 80 % (HOLUŠA et al. 2009). Má drobné jednojaderné spory, nákaza probíhá v podélných a okružních svalech středního střeva a v matrix tracheálních zakončení na povrchu střeva (WEISER et al. 2006; HOLUŠA et al. 2007; HOLUŠA

et al. 2009). Infekční hladina *L. duplicati* se nelišila mezi generacemi lýkožroutů a byla relativně stálá i u přezimujících jedinců, z čehož vyplývá, že docházelo k horizontálnímu přenosu skrz požití spor (HOLUŠA et al. 2009). U lýkožroutů rodu *Ips* se dá předpokládat výskyt dalších mikrosporidií, např. *Canningia spinidentis* (Weiser, Wegensteiner, Žižka, 1995) popsané z tukové tkáně, Malphigických trubic, svalů a pojivové tkáně rodů *Pityokteines* a *Tomicus* (WEISER et al. 1995).

Mikrosporidie vyvolávají společné epizootie s virem polyedrie u gradujících škůdců, např. bekyně a roztékající se virotická housenka rovněž uvolňuje spory mikrosporidie, které by jinak čekaly na uhynutí hostitele déle. Mikrosporidie samotné vytvářejí chronická onemocnění, se zřetelnou mortalitou u housenek bekyní nebo housenic pilatek hlavně v kombinaci s virózou (HOLUŠA, WEISER 2005). Tyto patogeny jsou skupinově specifické pro určité hostitele, jejich namnožování je možné v laboratorních chovech, ale přípravek na bázi mikrosporidií proti kůrovčům není k dispozici na trhu insekticidů (WEGENSTEINER 2004). Hlavním důvodem je obtížná masová kultivace s nutností namnožení v živých hostitelích, které je obtížné praktikovatelné vzhledem ke kryptickému způsobu života lýkožroutů rodu *Ips* a jejich izolovanému vývinu jednotlivých stadií v prostoru.

## HLÍSTICE (NEMATODA)

Entomopatogenní hlístice (Nematoda: Heterorhabditidae, Mermithidae, Steinernematidae) jsou letální endoparazité hmyzu (GAUGLER, KAYA 1990; GAUGLER 2002). Jsou běžně užívány v biologickém boji proti druhům hmyzu žijícím kryptickým způsobem života (RAMOS-RODRÍGUEZ et al. 2006), nejběžněji ve vlhkém a v půdním prostředí (KAYA, GAUGLER 1993). Jejich výhodou je nízká patogenita pro obratlovce (KAYA, GAUGLER 1993; BATHON 1996).

Do tělní dutiny hostitelů se hlístice dostávají tělními otvory (stigmata, ústní otvor nebo kutikula – rod *Heterorhabditis*). Po vniknutí do hostitele vypouštějí pomocí symbiotických bakterií rodů *Xenorhabdus* a *Photorhabdus* (FORST et al. 1997) endotoxiny, kterými svého hostitele zabíjí. Po usmrcení hostitele slouží jeho tělo dále spolu s bakteriemi jako živná půda pro vývoj hlístic. Infekční juvenilní stadia (desítky až stovky tisíc) opouští usmrceného hostitele přibližně po 2 – 3 týdnech a aktivně (pachově pomocí hlavových papil a amphid) vyhledávají nové živé jedince hmyzu ke kolonizaci (CROLL 1970).

Hlístice jsou testovány jako efektivní proti široké škále hmyzu v různých prostředích proti škůdcům jako jsou švábi (KOEHLER et al. 1992), obaleční, bekyně (WEISER, MRÁČEK 1988) a další z čeledi Pyralidae (SHANNAG, CAPINERA 2000) a Curculionidae (DUNCAN, MCCOY 1996; SHAPIRO, MCCOY 2000). Někteří autoři udávají souvislost výskytu hlístic s gradacemi některých škůdců (MRÁČEK, BEČVÁŘ 2000) a jejich regulací, např. ploskohřbetky: rod *Cephalcia* (odhady kolem 30 %) (MRÁČEK 1986). Hlístice nepatří k běžným patogenům kůrovců, ale mohou je úspěšně infikovat (POINAR, DESCHAMPS 1981); experimentální aplikace hlístic se však momentálně neprovádějí.

Hlístice využívají kůrovce k přesunu na nová stanoviště (forézie) nebo je potřebují k dokončení svého vývojového cyklu (parazitace). Mezi hlístice s vazbou ke kůrovčům řadíme především zástupce řádů Tylenchida a Rhabditida. Většina hlístic asociovaných s lýkožroutem smrkovým brouky negativně neovlivňuje, ale existují i některé parazitické druhy (RÜHM 1956). Ty jsou lokalizovány v těle brouků buď volně v hemolymfě: rody *Contortylenchus* a *Parasitylenchus*, nebo v Malphigických trubicích: rod *Cryptaphelenchus*, či ve střevě: rody *Aphelenchoides* a *Parasitorhabditis* (RÜHM 1956). Průměrná nákaza kůrovců střevními hlísticemi se pohybuje kolem 50 % (WEGENSTEINER, WEISER 1996b; BURJANADZE, GOGINASHVILI 2009; KERESLIDZE et al. 2010). Podle některých studií zabíjejí parazitické hlístice své hostitele (způsobují ucpaní střeva a jeho perforaci) a redukují jejich životnost a plodnost (LIEUTIER 1980; KAYA 1984), např. zmenšením

oocytů napadených samic lýkožroutů (THONG, WEBSTER 1975). Vliv přítomnosti běžných druhů endoparazitických hlístic *I. typographus* na letovou aktivitu nebyl prokázán (FORSE 1987). Determinace jednotlivých druhů je obtížná, protože se uvnitř těla lýkožroutů objevují často pouze juvenilní jedinci a je nutné je dochovávat; např. larvy rodu *Parasitorhabditis* nelze od sebe rozeznat vůbec (RÜHM 1956).

Foretické druhy hlístic (např. rody *Diplogasteroides*, *Ditylenchus* a *Ektaphelenchus*) se nacházejí hlavně pod krovkami brouků, na křídlech či v prostorech mezi tělními články (RÜHM 1956) a prozatím nebyl prokázán žádný vliv na brouky.

## ZELENÉ ŘASY

U lýkožroutů rodu *Ips* nebyla nákaza touto skupinou zatím zaznamenána, ale lze ji předpokládat, protože byla zjištěna např. patogenní řasa *Helicosporidium* sp. (Chlorophyta: Trebouxiophyceae) u larev i dospělců *Dendroctonus micans* (Kugelann, 1794) v Turecku s průměrnou hladinou infekce 9 % (YAMAN 2008). Její využití v biologickém boji s *D. micans* komplikuje zjištění stejné infekce u přirozeného specifického predátora tohoto kůrovce – lesknáčka *Rhizophagus grandis* (Gyllenhal, 1827) (YAMAN, RADEK 2007; YAMAN et al. 2009), který je efektivním regulátorem a používá se v praxi již několik desítek let v euroasijském areálu (GRÉGOIRE et al. 1985; FIELDING et al. 1991; FIELDING, EVANS 1997).

## DISKUSE A ZÁVĚR

V současné době bylo popsáno více než 20 druhů patogenů (mikrosporidie, viry, prvoci, zelené řasy) u brouků podčeledi Scolytinae (WEGENSTEINER, WEISER 1996a, 2004; HÄNDEL et al. 2003). Většina autorů se jimi zabývala především z faunistického hlediska (WEISER et al. 1998; WEGENSTEINER 2004), a tak u většiny patogenů neznáme vlivy na brouky: na vitalitu, fertilitu, letové schopnosti, přezimování atd. Nejpodrobněji popsané druhové složení patogenů má lýkožrout smrkový *I. typographus*. V Evropě bylo zjištěno 10 onemocnění tohoto druhu (tab. 1); u některých dalších druhů, jako je např. *Ips cembrae* a *Ips amitinus*, nemáme dostatečné údaje, nebo dokonce donedávna nebyly vůbec žádné (HOLUŠA et al. 2012).

Mikrosporidie *Chytridiopsis typographi* a eugregarina *Gregarina typographi* jsou široce rozšířeny u společně se vyskytujících lýkožroutů rodu *Ips* (tab. 1), další druhy jsou odlišeny dle jednotlivých hostitelů a zahrnují řadu potencionálně nových druhů (HÄNDEL et al. 2003). Infekční hladina patogenů je do jisté míry závislá na populační hustotě a času, protože nákaza matečných brouků se může od tvorby snubních komůrek po dokončení vývinu potomstva i ztrojnásobit (LUKÁŠOVÁ, HOLUŠA 2011).

Infekční hladiny patogenů mohou záviset na populačních hustotách lýkožroutů. Při nízkých populačních denzitách se lýkožrouti setkávají s jedinci mimo svůj požerok jen velmi zřídka a spory patogenů tak nemohou být pozřeny s trusem nebo zbytky odumřelých těl a infikovat další jedince (WEGENSTEINER, WEISER 1996a).

Často bývají studovány lokality, kde je díky potencionální mobilitě brouků (běžně až 1 km) (WERMELINGER 2004) zabráněno vzniku subpopulací s jiným složením patogenů (HÄNDEL et al. 2003) a infekční hladiny i složení patogenů jsou konstantní i na poměrně vzdálených lokalitách (HOLUŠA et al. 2009). To vysvětluje mimo jiné i fakt, že v některých výzkumech bylo prokázáno, že hladiny patogenů nezávisí na objemu napadených stromů (HOLUŠA et al. 2009) nebo že různé hladiny infekce nekorelují s různými počty brouků (WEGENSTEINER, WEISER 1996a).

Jedním z hlavních faktorů ovlivňujících populace je lesnický management. Předpokládáme, že kvůli absenci lesnického managementu

a náhodné distribuci stresovaných stromů dochází ke shromáždění brouků a tím pádem ke vzniku ohnisek vysokých populačních hustot brouků a intenzivního předávání patogenů (HOLUŠA et al. 2009). Když je hustota lýkožroutů vysoká, mají nedospělí brouci nedostatek prostoru pro zralostní žír a pokračují v žíru skrz protínáním dalších požerků a larválních chodeb. To zvyšuje pravděpodobnost pořízení patogenních spor, které byly uvolněny s trusem nakaženého jedince či jeho odumřením a rozkladem v místě požerku – infekční hladina patogenů se navyšuje (WEGENSTEINER, WEISER 1996a). Skupiny napadených stromů vytvářejí ohniska šíření lýkožroutů i jejich patogenů, jako je tomu např. na Šumavě či v Rakousku, kde se vyskytuje *ItEPV* a *Ch. typographi* ve velmi vysokých infekčních hladinách (WEGENSTEINER et al. 1996; WEISER et al. 2000; HOLUŠA et al. 2007).

Naopak infikování lýkožrouti v dobře obhospodařovaných lesích jsou více rozptýleni, protože lesníci rychle odstraňují napadené stromy. Odstranění stromů silně napadených kůrovci brání jednotlivým druhům patogenů v namnožení a nahromadění, které se objevuje v lesních porostech bez managementu, a vede k výraznému snížení některých patogenů či dokonce k jejich zániku na některých lokalitách. To se týká především patogenů lokalizovaných v tukovém tělese (např. *N. typographi* a *M. chalcographi*) (HOLUŠA et al. 2007, 2009).

S přihlédnutím k předběžným výsledkům celosvětových výzkumů je jasné, že patogeny nejsou schopny dostatečně a úspěšně regulovat populace lýkožroutů rodu *Ips*. Hlavní příčinou je komplikovaná aplikace v praxi (kultivace patogenů, kryptický způsob života kůrovců, v případě nízkých populačních hustot také téměř nulový přenos patogenů). Patogeny lýkožroutů rodu *Ips* nebudou v nejbližších letech použitelné jako jedno z obranných opatření proti těmto závažným škůdcům v lesních porostech.

#### Poděkování:

Příspěvek vznikl v rámci řešení projektu KUS QJ1220317 Ministerstva zemědělství České republiky a CIGA 20124302 České zemědělské univerzity v Praze.

## LITERATURA

- BAKKE A. 1968. 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*, 21: 443-602.
- BARTA J. R., THOMPSON R. C. 2006. What is *Cryptosporidium*? Reappraising its biology and phylogenetic affinities. *Trends in Parasitology*, 22: 463-468.
- BATHON H. 1996. Impact of entomopathogenic nematodes on non-target hosts. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 421-434.
- BIDOCHKA M. J., MENZIES F. V., KAMP A. M. 2002. Genetic groups of the insect-pathogenic fungus *Beauveria bassiana* are associated with habitat and thermal growth preferences. *Archives of Microbiology*, 178: 531-537.
- BOHNE W., FERGUSON D. J., KOHLER K., GROSS U. 2000. Developmental expression of a tandemly repeated, glycine- and serine-rich spore wall protein in the microsporidian pathogen *Encephalitozoon cuniculi*. *Infection and Immunity*, 68: 2268-2275.
- BROSSON D., KUHN L., PRENSIER G., VIVARES C. P., TEXIER C. 2005. The putative chitin deacetylase of *Encephalitozoon cuniculi*: a surface protein implicated in microsporidian spore-wall formation. *Fems Microbiology Letters*, 247: 81-90.
- BURJANADZE M., GOGINASHVILI N. 2009. Occurrence of pathogens and nematodes in the spruce bark beetles, *Ips typographus* (Col., Scolytidae) in Borjomi gorge. *Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences*, 3: 145-149.
- CABI/EPP0 1997. 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: 1425 s.
- CALI A., TAKVORIAN P. 1999. Developmental morphology and life cycles of the microsporidia. In: Wittner M., Weiss L. (eds.): *The microsporidia and microsporidiosis*. Washington DC, American Society of Microbiology: 85-128.
- CERYNGIER P., HODEK I. 1996. Enemies of Coccinellidae. In: Hodek I., Honěk A. (eds.): *Ecology of Coccinellidae*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers: 319-350.
- CLOPTON R.E., GOLD R.E. 1996. Host specificity of *Gregarina blattarum* von Siebold, 1839 (Apicomplexa: Eugregarinida) among five species of domiciliary cockroaches. *Journal of Invertebrate Pathology*, 67: 219-223.
- CLOPTON R.E. 2000. Phylum Apicomplexa Levine, 1970: order Eugregarinorida Léger, 1900. In: Lee J. J. et al. (eds.): *Illustrated guide to the protozoa*. Lawrence, Society of Protozoologists: 205-288.
- CORRADI N., KEELING P. J. 2009. Microsporidia: a journey through radical taxonomical revisions. *Fungal Biology Reviews*, 23: 1-8.
- CROLL N. A. 1970. *The behavior of nematodes*. New York, St. Martin's Press: 117 s.
- DELBAC F., POLONAIIS V. 2008. The microsporidian polar tube and its role in invasion. *Sub-cellular Biochemistry*, 47: 208-220.
- DRAGANOVA S., TAKOV D., DOYCHEV D. 2007. Bioassays with isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Paecilomyces farinosus* (Holm.) Brown, Smith against *Ips sexdentatus* Boerner and *Ips acuminatus* Gyll. (Coleoptera: Scolytidae). *Plant Science*, 44: 24-28.
- DUNCAN L. W., MCCOY C. W. 1996. Vertical distribution in soil, persistence, and efficacy against citrus root weevil (Coleoptera: Curculionidae) of two species of entomogenous nematodes (Rhabditida: Steinernematidae: Heterorhabditidae). *Environmental Entomology*, 25: 174-178.
- FIELDING N. J., O'KEEFE T., KING C. J. 1991. Dispersal and host-finding capability of the predatory beetle *Rhizophagus grandis* Gyll. (Col.: Rhizophagidae). *Journal of Applied Entomology*, 112: 89-98.
- FIELDING N. J., EVANS H. F. 1997. Biological control of *Dendroctonus micans* (Scolytidae) in Great Britain. *Biocontrol*, 18: 51-60.
- FORSSE E. 1987. Flight duration in *Ips typographus* L.: insensitivity to nematode infection. *Journal of Applied Entomology*, 104: 326-328.
- FORST S., DOWDS B., BOEMARE N., STACKEBRANDT E. 1997. *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* spp.: bugs that kill bugs. *Annual Review of Microbiology*, 51: 47-72.
- FRANZEN C. 2004. Microsporidia: how can they invade other cells? *Trends in Parasitology*, 20: 275-279.
- FRANZEN C. 2005. How do microsporidia invade cells? *Folia Parasitologica*, 52: 36-40.
- FUCHS G. 1915. Die Naturgeschichte der Nematoden und einiger anderer Parasiten 1. des *Ips typographus* L. 2. des *Hylobius abietis* L. *Zoologische Jahrbücher, Abteilung für Systematik*, 38: 109-222.
- GAUGLER R., KAYA H. K. 1990. Entomopathogenic nematodes in biological control. Boca Raton, CRC Press: 365 s.

- GAUGLER R. 2002. Entomopathogenic Nematology. Wallingford, CABI Publishing: 372 s.
- GRÉGOIRE J.-C., MERLIN J., PASTEELS J. M., JAFFUELS R., VOULAND G., SCHVESTER D. 1985. Biocontrol of *Dendroctonus micans* by *Rhizophagus grandis* in the Massif Central (France): a first appraisal of the mass-rearing and release methods. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 99: 182-190.
- GRODZKI W. 1997. Possibilities of the control of the double-spined bark beetle *Ips duplicatus* C. R. Sahlb in the Southern Poland. *Sylwan*, 11: 25-36.
- GRODZKI W. 2003. Distribution range of the double spined bark beetle *Ips duplicatus* C. R Sahlb (Col.: Scolytidae) in the mountain areas of southern Poland. *Sylwan*, 8: 29-36.
- HAJEK A.E., ST. LEGER R.J. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annual Review of Entomology*, 39: 293-322.
- HÄNDEL U., KENIS M., WEGENSTEINER R. 2001. Untersuchungen zum Vorkommen von Pathogenen und Parasiten in Populationen überwinternder Fichtenborkenkäfer (Col., Scolytidae). *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie*, 13: 423-428.
- HÄNDEL U., WEGENSTEINER R., WEISER J., ŽIŽKA Z. 2003. Occurrence of pathogens in associated living bark beetles (Col., Scolytidae) from different spruce stands in Austria. *Journal of Pest Science*, 76: 22-32.
- HAYMAN J. R., HAYES S. F., AMON J., NASH T. E. 2001. Developmental expression of two spore wall proteins during maturation of the microsporidian *Encephalitozoon intestinalis*. *Infection and Immunity*, 69: 7057-7066.
- HOLUŠA J., ZAHRADNÍK P., KNÍŽEK M., DRÁPELA K. 2003. Seasonal flight activity of the double-spined spruce bark-beetle *Ips duplicatus* (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae) in Silesia (Czech Republic). *Biologia*, 58: 935-941.
- HOLUŠA J., WEISER J., PULTAR O. 2004. 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: 72-78.
- HOLUŠA J., WEISER J. 2005. Biologické postupy boje s lesními škůdci. *Zpravodaj ochrany lesa*, 11: 18-23.
- HOLUŠA J., WEISER J., DRÁPELA K. 2007. Pathogens of *Ips duplicatus* (Coleoptera, Scolytidae) in three areas in Central Europe. *Acta Protozoologica*, 46: 157-167.
- HOLUŠA J., WEISER J., ŽIŽKA Z. 2009. Pathogens of the spruce bark beetles *Ips typographus* and *Ips duplicatus*. *Central European Journal of Biology*, 4: 567-573.
- HOLUŠA J., LUKÁŠOVÁ K., WEGENSTEINER R., GRODZKI W., PERNEK M., WEISER J. 2012. Pathogens of the bark beetle *Ips cembrae*: microsporidia and gregarines known from other *Ips* species. *Journal of Applied Entomology* [in press].
- KAYA H. K. 1984. Nematode parasites of bark beetles. In: Nickle W. R. (eds.): Plant and insect nematodes. New York, Marcel Dekker, Inc.: 727-754.
- KAYA H. K., GAUGLER R. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology*, 38: 181-206.
- KERESELIDZE M., WEGENSTEINER R., GOGINASHVILI N., TVARADZE M., PILARSKA D. 2010. Further studies on the occurrence of natural enemies of *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Georgia. *Acta Zoologica Bulgarica*, 62: 131-139.
- KIRCHHOFF J.-F., FÜHRER E. 1990. Experimentelle Analyse der Infektion und des Entwicklungszyklus von *Malamoeba scolyti* in *Dryocoetes autographus* (Coleoptera: Scolytidae). *Entomophaga*, 35: 537-544.
- KOEHLER P.G., PATTERSON R.S., MARTIN W.R. 1992. Susceptibility of cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae, Blattidae) to infection by *Steinernema carpocapsae*. *Journal of Economic Entomology*, 85: 1184-1187.
- KREUTZ J., VAUPEL O., ZIMMERMANN G. 2004. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the spruce bark beetle, *Ips typographus* L., in the laboratory under various conditions. *Journal of Applied Entomology*, 128: 384-389.
- LANDA Z., HORŇÁK P., OSBORNE L. S., NOVÁKOVÁ A., BURSOVÁ E. 2001. Entomogenous fungi associated with spruce bark beetle *Ips typographus* L. (Coleoptera, Scolytidae) in the Bohemian Forest. *Silva Gabreta*, 6: 259-272.
- LANDA Z., KŘENOVÁ Z., VOJTĚCH O. 2007. Využití houby *Beauveria bassiana* v ochraně proti lýkožroutu smrkovému. *Lesnická práce*, 86: 646-647.
- LANGE C.E., WITTENSTEIN E. 2002. The life cycle of *Gregarina ronderosi* n. sp. (Apicomplexa: Gregarinidae) in the Argentine grasshopper *Dichroplus elongatus* (Orthoptera: Acrididae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 79: 27-36.
- LIEUTIER F. 1980. Le parasitisme d'*Ips sexdentatus* (Boern) (Coleoptera: Scolytidae) par les nématodes du genre *Parasitaphelenchus* Fuchs. Relations avec le parasitisme par *Contortylenchus diplogaster* (v. Lins.). *Revue Nématologie*, 3: 271-281.
- LIPA J. J. 1967. Studies on gregarines (Gregarinomorpha) of arthropods in Poland. *Acta Protozoologica*, 5: 97-179.
- LOCKLIN J. L., VODOPICH D. S. 2010. Patterns of gregarine parasitism in dragonflies: host, habitat, and seasonality. *Parasitology Research*, 107: 75-87.
- LUKÁŠOVÁ K., HOLUŠA J. 2011. *Gregarina typographi* (Eugregarinorida: Gregarinidae) in the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae): changes in infection level in the breeding system. *Acta Protozoologica*, 50: 311-318.
- MAZUR A., ŁABĘDZKI A., RAJ A. 2006. 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 Leśnictwa: 29-48.
- MICHÁLKOVÁ V., KRASCENITSOVÁ E., KOZÁNEK M. 2011. On the pathogens of the spruce bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytinae) in the Western Carpathians. *Biologia*, 67: 217-221.
- MIRÁČEK Z. 1986. Nematodes and other factors controlling the sawfly, *Cephaleia abietis* (Pamphilidae, Hymenoptera), in Czechoslovakia. *Forest Ecology and Management*, 15: 75-79.
- MIRÁČEK Z., BEČVÁŘ S. 2000. Insect aggregations and entomopathogenic nematode occurrence. *Nematology*, 2: 297-301.
- OEPP/EPO 2005. *Ips cembrae* and *Ips subelongatus*. *Bulletin OEPP/EPO*, 35: 445-449.
- OMOTO C. K., TOSO M., TANG K., SIBLEY L. D. 2004. Expressed sequence tag (EST) analysis of gregarine gametocyst development. *International Journal for Parasitology*, 34: 1265-1271.



- PERKINS F. O. 2000. Order Neogregarinorida Grassé, 1953. In: Lee J. J. et al. (eds.): The illustrated guide to the Protozoa. Lawrence, Society of Protozoologists: 288-298, 353-369.
- PEUVEL-FANGET I., POLONAI S., BROSSON D., TEXIER C., KUHN L., PEYRET P., VIVARES C. P., DELBAC F. 2006. 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*, 36: 309-318.
- PEFFER A., KNÍŽEK M. 1995. Expanze lýkožrouta *Ips duplicatus* (Sahlb.) ze severské tajgy. *Zpravodaj ochrany lesa*, 2: 8-11.
- PHELPS N. B. D., GOODWIN A. E. 2008. Vertical transmission of *Ovipleistophora ovariae* (Microspora) within the eggs of the Golden Shiner. *Journal of Aquatic Animal Health*, 20: 45-53.
- POINAR G. O., DESCHAMPS N. 1981. Susceptibility of *Scolytus multistriatus* to neoplectanid and heterorhabditid nematodes. *Environmental Entomology*, 10: 85-87.
- POSTNER M. 1974. *Ips cembrae*. In: Schwenke W. (ed.): Die Forstschädlinge Europas. II. Band. Käfer. Hamburg, Paul Parey: 458-459.
- PULTAR O., WEISER J. 2004. 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. 19. února 2004, Praha, Novotného lávka. Kostelec nad Černými lesy, Lesnická práce: 82-88.
- PURRINI K. 1978. Protozoen als Krankheitserreger bei einigen Borkenkäferarten (Col., Scolytidae) im Königsee-Gebiet, Oberbayern. *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz*, 51: 171-175.
- PURRINI K., FÜHRER E. 1979. Experimentelle Infektion von *Pityogenes chalcographus* L. (Coleoptera, Scolytidae) durch *Malamoeba scolyti* Purrini (Amoebina, Amoebidae) und *Menzbieria chalcographi* Weiser (Neogregarina, Ophryocystidae). *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz und Umweltschutz*, 52: 167-173.
- PURRINI K., ŽIŽKA Z. 1983. More on the life cycle of *Malamoeba scolyti* (Amoebidae: Sarcocystidophora) parasitizing the bark beetle *Dryocoetes autographus* (Scolytidae, Coleoptera). *Journal of Invertebrate Pathology*, 42: 96-105.
- RAMOS-RODRÍGUEZ O., CAMPBELL J. F., RAMASWAMY S. B. 2006. Pathogenicity of three species of entomopathogenic nematodes to some major stored-product insect pests. *Journal of Stored Products Research*, 42: 241-252.
- REDHEAD S. A., KIRK P. M., KEELING P. J., WEISS L. M. 2009. Proposals to exclude the phylum Microsporidia from the Code. *Mycotaxon*, 108: 505-507.
- ROBERTS D. W., HAJEK A. E. 1992. Entomopathogenic fungi as bioinsecticides. In: Leatham G. F. (ed.): *Frontiers of industrial mycology*. New York, Chapman and Hall: 144-159.
- RÜHM W. 1956. Die Nematoden der Ipiden. Mit 10 Tabellen im Text. Jena, Fischer: 437 s.
- SHANNAG H. K., CAPINERA J. L. 2000. Interference of *Steinernema carpocapsae* (Nematoda: Steinernematidae) with *Cardiochiles diaphaniae* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of melonworm and pickleworm (Lepidoptera: Pyralidae). *Environmental Entomology*, 29: 612-617.
- SHAPIRO D. I., MCCOY C. W. 2000. Virulence of entomopathogenic nematodes to *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) in the laboratory. *Journal of Economic Entomology*, 93: 1090-1095.
- SCHAWANG J. E., JANOVY J. JR. 2001. The response of *Gregarina niphandrodes* (Apicomplexa: Eugregarinida: Septatina) to host starvation in *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) adults. *Journal of Parasitology*, 87: 600-605.
- SIENKIEWICZ P., LIPA J. 2008. *Gregarina vizri* Lipa, 1968 (Apicomplexa: Eugregarinida) recorded in Poland in an expansive plant pest the cereal ground beetle *Zabrus tenebrioides* (Goeze) (Coleoptera: Carabidae). *Journal of Plant Protection Research*, 48: 189-193.
- SIMMONS L. W. 1990. Post-copulatory guarding female choice and the levels of gregarine infections in the field cricket *Gryllus binzaca*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 26: 403-407.
- SMITH A. J., COOK T. J., LUTTERSCHMIDT W. I. 2007. Effects of temperature on the development of *Gregarina cubensis* (Apicomplexa: Eugregarinida) parasitizing *Blaberus discoidalis* (Blattaria: Blaberidae). *Journal of Parasitology*, 93: 583-588.
- SMITH A. J., COOK T. J. 2008. Host specificity of five species of Eugregarinida among six species of cockroaches (Insecta: Blattodea). *Comparative Parasitology*, 75: 288-291.
- TAKOV D., PILARSKA D., WEGENSTEINER R. 2006. Entomopathogens in *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) from several spruce stands in Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica*, 58: 409-420.
- TAKOV D., DOYCHEV D., WEGENSTEINER R., PILARSKA D. 2007. Study on the pathogens of bark beetles (Coleoptera, Scolytidae) from different coniferous stands in Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica*, 59: 87-96.
- TAKOV D., PILARSKA D., WEGENSTEINER R. 2010. List of protozoan and microsporidian pathogens of economically important bark beetle species (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Europe. *Acta Zoologica Bulgarica*, 62: 201-209.
- TAKOV D., DOYCHEV D., LINDE A., DRAGANOVA S., PILARSKA D. 2011. Pathogens of bark beetles (Coleoptera: Curculionidae) in Bulgarian forests. *Phytoparasitica*, 39: 343-352.
- TANADA Y., KAYA H. K. 1993. Protozoan infection: Apicomplexa, Microspora. In: *Insect Pathology*. San Diego, Academic Press: 414-458.
- THÉODORIDÉS J. 1984. The phylogeny of the Gregarina (Sporozoa). *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, 13: 339-342.
- THONG C. H. S., WEBSTER J. M. 1975. Effects of bark beetle nematode, *Contortylenchus reversus*, on gallery construction, fecundity, and egg viability of Douglas-fir beetle, *Dendroctonus pseudotsugae* (Coleoptera-Scolytidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 26: 235-238.
- TONKA T., WEISER J. JR., WEISER J. 2010. Budding: A new stage in the development of *Chytridiopsis typographi* (Zygomycetes: Microsporidia). *Journal of Invertebrate Pathology*, 104: 17-22.
- TOSO M., OMOTO C. K. 2007. Ultrastructure of *Gregarina niphandrodes* nucleus through stages from unassociated trophozoites to gamonts in syzygy and the syzygy junction. *Journal of Parasitology*, 93: 479-484.
- TRONCHIN G., SCHRÉVEL J. 1977. Chronologie des modifications ultrastructurales au cours de la croissance de *Gregarina blaberae*. *Journal of Protozoology*, 24: 67-82.
- UNAL S., YAMAN M., TOSUN O., AYDIN C. 2009. 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*, 8: 2687-2691.

- VALIGUROVÁ A., MICHÁLKOVÁ V., KOUDELA B. 2009. Eugregarine trophozoite detachment from the host epithelium via epimerite retraction: fiction or fact? *International Journal for Parasitology*, 39: 1235-1242.
- VANNINEN I. 1996. Distribution and occurrence of four entomopathogenic fungi in Finland: effect of geographical location, habitat types and soil type. *Mycological Research*, 100: 93-101.
- VÁVRA J., LARSSON J.I.R. 1999. Structure of the microsporidia. In: Whittner M., Weiss L.M. (eds.): *The microsporidia and microsporidiosis*. Washington, D.C., ASM Press: 7-84.
- WEGENSTEINER R. 1994. *Chytridiopsis typographi* (Protozoa, Microsporidia) and other pathogens in *Ips typographus* (Coleoptera, Scolytidae). *IOBC/WPRS Bulletin*, 17: 39-42.
- WEGENSTEINER R., WEISER J. 1995. A new *Entomopoxvirus* in the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 65: 203-205.
- WEGENSTEINER R. 1996. Laboratory evaluation of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against *Ips typographus* (Coleoptera, Scolytidae). *IOBC/WPRS Bulletin*, 19: 186-189.
- WEGENSTEINER R., WEISER J., FÜHRER E. 1996. Observations on the occurrence of pathogens in the bark beetle *Ips typographus* L. (Coleoptera, Scolytidae). *Journal of Applied Entomology*, 120: 199-204.
- WEGENSTEINER R., WEISER J. 1996a. Occurrence of *Chytridiopsis typographi* (Microspora, Chytridiopsida) in *Ips typographus* L. (Col., Scolytidae) field population and in a laboratory stock. *Journal of Applied Entomology*, 120: 595-602.
- WEGENSTEINER R., WEISER J. 1996b. Untersuchungen zum Auftreten von Pathogenen by *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) aus einem Naturschutzgebiet in Schwarzwald (Baden-Württemberg). *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz*, 69, 162-167.
- WEGENSTEINER R., WEISER J. 2004. Annual variation of pathogen occurrence and pathogen prevalence in *Ips typographus* L. (Col., Scolytidae) from the BOKU University Forest Demonstration Centre. *Journal of Pest Science*, 77: 221-228.
- WEGENSTEINER R. 2004. Pathogens in bark beetles. In: Lieutier F. et al. (eds.): *Bark and wood boring insects in living trees in Europe: a synthesis*. Dordrecht, Kluwer: 291-313.
- WEGENSTEINER R., DEDRYVER C.-A., PIERRE J.-S. 2010. The comparative prevalence and demographic impact of two pathogens in swarming *Ips typographus* adults: a quantitative analysis of long term trapping data. *Agricultural and Forest Entomology*, 12: 49-57.
- WEISER J. 1966. *Nemoci hmyzu*. Praha, Academia: 556 s.
- WEISER J., MRÁČEK Z. 1988. *Parazitické hlístice hmyzu*. Praha, Academia: 260 s.
- WEISER J., WEGENSTEINER R. 1994. A new *Entomopoxvirus* in the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera, Scolytidae) in Czechoslovakia. *Zeitschrift für angewandte Zoologie*, 80: 425-434.
- WEISER J., WEGENSTEINER R., ŽIŽKA Z. 1995. *Canningia spinidentis* gen. et sp. n. (Protista: Microspora), a new pathogen of the fir bark beetle *Pityokteines spinidens*. *Folia Parasitologica*, 42: 1-10.
- WEISER J., WEGENSTEINER R., ŽIŽKA Z. 1998. *Unikaryon montanum* sp.n., (Protista, Microspora), a new pathogen of the spruce bark beetle, *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae). *Folia Parasitologica*, 45: 191-195.
- WEISER J., PULTAR O., ŽIŽKA Z. 2000. Biological protection of forest against bark beetle outbreaks with poxvirus and other pathogens. *IUAPPA, Section B*, 12: 168-172.
- WEISER J. 2002. Patogenní organismy. In: Skuhřavý V. (ed.): *Lýkožrout smrkový (*Ips typographus* L.) a jeho kalamity*. Praha, Agrospoj: 97-100.
- WEISER J., WEGENSTEINER R., HÄNDEL U., ŽIŽKA Z. 2003. Infections with the Ascomycete *Metschnikowia typographi* n. sp. in the bark beetle *Ips typographus* and *Ips amitinus* (Col., Scolytidae). *Folia Microbiologica*, 48: 611-618.
- WEISER J., HOLUŠA J., ŽIŽKA Z. 2006. *Larssoniella duplicati* n.sp. (Microsporidia, Unikaryonidae), a newly described pathogen infecting the double-spined spruce bark beetle, *Ips duplicatus* (Coleoptera, Scolytidae) in the Czech Republic. *Journal of Pest Science*, 79: 127-135.
- WERMELINGER B. 2004. Ecology and management of the spruce bark beetle *Ips typographus* – a review of recent research. *Forest Ecology and Management*, 202: 67-82.
- WERMELINGER B., RIGLING A., SCHNEIDER MATHIS D., DOBBERTIN M. 2008. Assessing the role of bark- and wood-boring insects in the decline of Scots pine (*Pinus sylvestris*) in the Swiss Rhone valley. *Ecological Entomology*, 33: 239-249.
- WITTNER M., WEISS L. M. 1999. *The microsporidia and microsporidiosis*. Washington DC, ASM Press: 553 s.
- XU Y., WEISS L. M. 2005. The microsporidian polar tube: a highly specialised invasion organelle. *International Journal for Parasitology*, 35: 941-953.
- YAMAN M. 2002. *Gregarina phyllotretae* Hoshide 1953, a protozoan parasite of the flea beetles, *Phyllotreta undulata* and *P. atra* (Coleoptera: Chrysomelidae) in Turkey. *Applied Entomology and Zoology*, 37: 649-653.
- YAMAN M. 2007. *Gregarina typographi* Fuchs, a gregarine pathogen of the six-toothed pine bark beetle, *Ips sexdentatus* (Boerner) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) in Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 31: 359-363.
- YAMAN M., RADEK R. 2007. Infection of the predator beetle *Rhizophagus grandis* Gyll. (Coleoptera, Rhizophagidae) with the insect pathogenic alga *Helicosporidium* sp. (Chlorophyta: Trebouxiophyceae). *Biological Control*, 41: 384-388.
- YAMAN M. 2008. 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*, 4: 99-107.
- YAMAN M., RADEK R., AYDIN C., TOSUN O., ERTÜRK Ö. 2009. First record of the insect pathogenic alga *Helicosporidium* sp. (Chlorophyta: Trebouxiophyceae) infection in larvae and pupae of *Rhizophagus grandis* Gyll. (Coleoptera, Rhizophaginae) from Turkey. *Journal of Invertebrate Pathology*, 102: 182-184.
- YAMAN M., BAKI H. 2011. First record of *Entomopoxvirus* of *Ips typographus* (Linnaeus) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) for Turkey. *Acta Zoologica Bulgarica*, 63: 199-202.
- ZITTERER P. M. 2002. Antagonists of *Ips acuminatus* (Gyllenhal) with special consideration of pathogens. Diploma thesis. Wien, Universität für Bodenkultur: 56 s.
- ZUK M. 1987. The effects of gregarine parasites, body size, and time of day on spermatophore production and sexual selection in field crickets. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 21: 65-72.

PATHOGENS OF BARK BEETLES OF THE GENUS *IPS* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE): REVIEW

## SUMMARY

Bark beetles genus *Ips* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) are one of the most dangerous forest insect pests in Europe. At present, around twenty species of pathogens and entomopathogenic nematodes were described in the bark beetle subfamily Scolytinae. The most detailed species composition of pathogens has spruce bark beetle *Ips typographus* (Tab. 1). For some other bark beetle species such as *Ips amitinus* and *I. cembrae* no sufficient data are available about pathogens or have been recently studied. First pathogen in bark beetles were described early in the 20th century, most species were then identified in the second half of the 20th century. In 2006, the last known pathogen was described – microsporidia species-specific, *Larssoniella duplicati* from *I. duplicatus* found in the east part of the Czech Republic and northeastern Poland (Fig. 6). It is a chronic, widespread infection. Infection level of this pathogen reaches in some study sites up to 80%.

The only virus - Entomopoxvirus (*ItEPV*; Fig. 1) that was recorded in bark beetles causes the formation of protein inclusions only in the midgut of adult beetles. Microsporidia *Chytridiopsis typographi* (Fig. 5) and eugregarine *Gregarina typographi* (Fig. 2–4) are widely distributed in populations of bark beetle genus *Ips* (Tab. 1). Fat body of host insects are attacked and destroyed by neogregarines (*Menzbieria chalcographi* and *Mattesia schwenkei*) and some microsporidia (*Nosema typographi*). This disease causes high mortality of individuals during the overwintering period in the bark and forest litter.

For most pathogens no information is available about influences on populations of bark beetles. For example it has been shown that nematodes do not affect the flight activity of *Ips typographus*. However, knowledge of the nematodes of the genus *Ips* is still very limited and since the 1950s we have not had much new information.

Infection levels of pathogens may depend on the bark beetle population densities. At low population density callow beetles have contact with individuals outside their breeding system very rarely and pathogens such as spores cannot be ingested with faeces or remains of dead bodies of infected individuals. We assume that the absence of forest management leads to high population density of beetles on host trees and thus to the intensive transmission of pathogens.

Comprehensively none of the previously identified pathogenic organisms has been ever demonstrated as an effective biological control agent. Although laboratory experiments are often successful (f. e. with *Beauveria bassiana* or *Malamoeba scolyti*), cryptic life cycle of genus *Ips* under the bark and their bionomy in general is still a major complication in the successful application of biological control.

Recenzováno

ADRESA AUTORA/CORRESPONDING AUTHOR:

doc. Ing. Jaroslav Holuša, Ph. D., Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i.  
Strnady 136, 252 02 Jíloviště, Česká republika  
tel.: 602 351 908; e-mail: holusaj@seznam.cz; holusa@vulhm.cz