

Próba zastosowania grzyba *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. w ochronie lasu przed kornikiem drukarzem *Ips typographus* (L.) w warunkach terenowych

An attempt to use the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. in forest protection against the bark beetle *Ips typographus* (L.) in the field

Wojciech Grodzki*, Mieczysław Kosibowicz

Instytut Badawczy Leśnictwa, Zakład Lasów Górskich, ul. Fredry 39, 30-605 Kraków

*Tel. +48 12 252 82 12, e-mail: W.Grodzki@ibles.waw.pl

Abstract. In 2011–2013, trials on the use of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against bark beetle (*Ips typographus*) populations were carried out under open field conditions in Norway spruce stands suffering from an outbreak in the Beskid Żywiecki Mts. in Poland. Modified pheromone traps were deployed to capture and thereafter release fungus-infected bark beetles to the forest environment. Infested spruce trees felled next to the traps remained unaffected by the transmission of the fungus to insect populations. Direct spraying or dusting of lying trap logs and suspended caged rearing bolts did not have any effect on spruce infestation by *I. typographus*, its reproduction success and development or natural enemies inside the bark.

A very small effect on mortality rates of target as well as non-target insects overwintering in the dusted litter was observed. Treated stands, unlike control stands, were indirectly affected by the treatment, evidenced by the reduction of tree mortality due to bark beetle infestation.

At present, no recommendations concerning the potential use of the fungus in forest protection can be given. However such an environmentally friendly approach represents a promising future prospect.

Keywords: bark beetles, *Picea abies*, biological control, montane forests, field trials

1. Wstęp

Istotną cechą lasów górskich jest wysoki lub dominujący udział świerka, skutkujący utrzymującym się lub okresowo wzrastającym zagrożeniem drzewostanów ze strony owadów kambiofagicznych, zwłaszcza kornika drukarza *Ips typographus* (L.). Stosowane zabiegi ograniczania nadmiernej liczebności tych owadów są pracochłonne i kosztowne, dlatego stale istnieje potrzeba poszukiwania nowych metod, zapewniających większą skuteczność mniejszym nakładem pracy. Obiecującym kierunkiem w tym zakresie jest wykorzystanie organizmów entomopatogenicznych, zwłaszcza grzyba *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., które jako metoda naturalna wpisuje się w realizowany obecnie proekologiczny model gospodarki leśnej.

Już w okresie międzywojennym Karpiński (1935) wspominał o grzybie *B. bassiana* jako przyczynie śmiertelności u *I. typographus*. Bałazy (1962) izolował go z martwych okazów imagines szeregu gatunków chrząszczy, w tym z korników występujących na świerku, a w późniejszych obszernych pracach szczegółowo opisał zależności między tym i innymi patogenami

korników (Bałazy 1966, 1968; Bałazy et al. 1967). Głowacka i Świeżyńska (1993), podsumowując wyniki 20-letnich badań, wymieniają jedynie dwa gatunki grzybów owadobójczych związanych z kornikiem drukarzem, w tym *B. bassiana*, podkreślając jednocześnie szerokie spektrum gatunkowe owadów leśnych, na których stwierdzono ten gatunek grzyba. Z drugiej strony spotkać się można z informacją mówiącą o niskiej efektywności entomopatogenicznych grzybów, które w warunkach naturalnych zdolne są do powodowania redukcji młodego pokolenia kornika drukarza w granicach 0,7–3% (Bałazy 2012).

Laboratoryjne próby infekcji zarówno larw, jak i dorosłych chrząszczy korników przy zastosowaniu szczepów *B. bassiana* wskazywały na skuteczność tego biopreparatu; zazwyczaj wysoka była również śmiertelność w zamkniętych hodowlach (Bałazy 2013). W wyniku prowadzonych w latach 1990–2004 badań laboratoryjnych nad efektywnością oddziaływania patogena oraz jego rozprzestrzeniania się w środowisku (Wegensteiner 1992, 1996; Markova, Samshinyakova 1990; Markova 2000; Kreutz et al. 2004a,b) opracowana została metoda aplikacji grzyba, która następnie była testowana w warunkach

terenowych (Vaupel, Zimmermann 1996; Kreutz et al. 2000, 2001, 2004b). W Polsce próby stosowania *B. bassiana* za pomocą oprysku wałków świerkowych nie przyniosły zadowalających rezultatów (Cichońska, Świeżyńska 1993), natomiast w doświadczeniach przeprowadzonych w 2007 r. w Parku Narodowym Šumava w Czechach (Landa et al. 2007, 2008), a w latach 2008–2009 także na Słowacji (Kunca et al. 2009, Vakula et al. 2010), uzyskano pozytywne wyniki. W próbach zastosowania wodnej zawiesiny biopreparatu do oprysku ściętych drzew zasiedlonych przez kornika drukarza, wykonanych na Słowacji w 2007 r., uzyskany został stopień zainfekowania populacji kornika drukarza oceniony na prawie 29% (Jakuš, Blaženc 2011).

Istnieje kilka preparatów, które próbowano zastosować w praktyce za pomocą odpowiednio zmodyfikowanych pułapek feromonowych (Vaupel, Zimmermann 1996). Znany jest preparat Boverol, zawierający zarodniki *B. bassiana*, który testowany był w warunkach półnaturalnych (klatki hodowlane umieszczone w lesie) z dobrymi rezultatami (Kreutz et al. 2000, 2004b), jednak próby jego aplikacji z zastosowaniem zmodyfikowanych pułapek feromonowych w warunkach całkowicie naturalnych nie przyniosły spodziewanych efektów bezpośrednich (Vakula et al. 2010). Natomiast zastosowanie biopreparatu wraz z innymi metodami czynnej ochrony w lasach wojskowych w centralnej Słowacji przyczyniło się do zahamowania gradacji kornika drukarza w latach 2009–2011 (Vakula et al. 2012). Istnieje także preparat BoVeril, który w roku 2009 był poddany bardzo wstępnym testom (bez sukcesów) na terenie Beskidu Śląskiego, Żywieckiego i Sądeckiego w Polsce (Grodzki, niepubl.), a w roku 2008 na Słowacji, gdzie także nie uzyskano oczekiwanych rezultatów (Kunca et al. 2009).

Wobec tak niejednoznacznych wyników uznano, że istnieje potrzeba określenia możliwości zastosowania preparatów opartych na entomopatogenicznym grzybie *B. bassiana* w warunkach lasów gospodarczych objętych gradacyjnym występowaniem kornika drukarza *I. typographus*. Wykorzystanie tej technologii miałyby ogromne znaczenie zwłaszcza w drzewostanach górskich, objętych restrykcjami w zakresie dostępnych metod ochrony lasu, ze względu na spełnianie funkcje ochronne (Sierpińska, Grodzki 2012).

Głównym celem badań było określenie czy i w jakim stopniu mechanizm owadobójczego działania sztucznie wprowadzanego grzyba funkcjonuje w warunkach lasów gospodarczych (dotychczasowe eksperymenty prowadzone były głównie w warunkach kontrolowanych). Dałoby to podstawę do oceny perspektyw zastosowania tej metody w czynnej ochronie lasu. W ramach badań przetestowano różne możliwe metody aplikacji preparatów oraz dokonano oceny ich działania pod kątem skuteczności (bezpośrednio – poprzez ocenę śmiertelności owadów oraz pośrednio – na podstawie nasilenia wydzielania się posuszu) i selektywności (wpływ na inne owady).

2. Teren i metodyka badań

Badania zlokalizowano w Beskidzie Żywieckim, gdzie od roku 2002 miała miejsce dynamiczna gradacja kornika

drukarza, której kulminacja przypadła na lata 2007–2008 (Grodzki 2010). Z uwagi na charakter doświadczeń prowadzono je poza obszarem sieci Natura 2000. Ponieważ niemal cały obszar zachodniej części Beskidu Żywieckiego znajduje się w obszarze PLH240006, poza niewielkim fragmentem położonym między Korbielowem a zachodnią granicą obszaru PLH120001 Babia Góra, jako obszar badań wybrano teren Leśnictwa Koszarawa Bystra w Nadl. Jeleśnia. Kompleks leśny wybrany do badań, obejmujący oddziały 43 i 44 (49°39'12"N, 19°26'15"E), położony jest na południowych stokach Lachów Gronia (1045 m n.p.m.) poniżej Hali Janoszkowej, na wysokości ok. 1000 m n.p.m. Tworzą go drzewostany rosnące na siedliskach lasu górskiego i lasu mieszanego górskiego w wariantach świeżym i wilgotnym. Są to w większości silnie rozluźnione świerczyny w wieku od ok. 90 do 110 lat o udziale świerka 7–10 oraz występujące między nimi buczyny z udziałem świerka i jodły. W drzewostanach objętych badaniami przez cały okres ich trwania stosowane były standardowe metody ochrony lasu przed kornikiem drukarzem, takie jak wystawianie pułapek feromonowych oraz wyszukiwanie i usuwanie (korowanie) drzew zasiedlonych przed wylotem młodego pokolenia korników.

Doświadczenia terenowe nad zastosowaniem preparatów zawierających zarodniki *B. bassiana* prowadzono na podstawie pozwolenia Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Decyzja nr R-657/2011b), w terminach dostosowanych do występowania określonych stadiów rozwojowych korników: podczas sezonu wegetacyjnego – w fazie rójki chrząszczy i zakładania żerowisk oraz po zakończeniu sezonu wegetacyjnego – na chrząszcze zimujące w ściółce. W latach 2011–2012 użyto preparatu BoVeril produkcji węgierskiej firmy Bioved 2005 Kft., który zawierał zarodniki szczepu BB1 grzyba *B. bassiana* w ilości 5×10^8 na 1 g, o żywotności min. 65%. Preparat ten, przygotowany w formie granul rozpuszczalnych w wodzie, został – jak deklaruje producent – dostosowany do zwalczania *I. typographus*. Według informacji na etykiecie preparat należy składować w temperaturze 5–10°C, a wówczas zachowuje on swoje właściwości przez okres 1 roku, natomiast w temperaturze 18°C można go przechowywać nawet przez 2 lata. Skuteczność stosowania warunkowana jest odpowiednio wysoką wilgotnością środowiska, a grzyb zachowuje właściwości owadobójcze przy temperaturze gleby 12–26°C i wilgotności 60–70%. W roku 2013 zastosowano na ograniczonej skale preparat Boverol (Fytovita, Rep. Czeska), uzyskany z firmy Fytofarm s.r.o. (Słowacja), zawierający zarodniki szczepu Bba 138 *B. bassiana* w koncentracji $1,0 \times 10^7$ w 1 g. Na etykiecie nie określono szczególnych warunków stosowania preparatu.

W latach 2011–2013 w drzewostanach objętych badaniami zainstalowano po 15 pułapek feromonowych zmodyfikowanych tak, aby odłowione do nich chrząszcze kornika drukarza, po kontakcie z preparatem, mogły je opuścić i kontynuować lot (fot. 1). W pułapkach stosowano dyspensery Pheroprax ampulka (BASF), które wymieniano po ok. 6 tygodniach od wywieszenia.



Fotografia 1. Pułapki feromonowe zawierające suchy preparat BoVeril do infekowania chrząszczy kornika drukarza: pułapka typu MK (a), element z preparatem (b), pułapka typu Ekotrap (c)

Photo 1. Pheromone traps containing dry BoVeril for the infection of *I. typographus* beetles: MK type trap (a), element with fungal preparation (b), Ekotrap type trap (c)

W celu oceny skutków działania preparatu corocznie wykonywano analizy zasiedlenia posuszu stojącego i drzew pułapkowych, pozwalające na określenie parametrów opisujących populacje kornika drukarza. W latach 2011–2012 określano zasiedlenie drzew posuszowych, stosując metodę analizy trzech półmetrowych charakterystycznych sekcji strzał: I – w odziomku, II – w połowie między odziomkiem a podstawą korony, III – pod koroną (Grodzki 2007). Po ścięciu drzewa wyznaczano sekcje, mierzono ich obwody oraz rejestrowano liczbę żerowisk zasiedlających je gatunków owadów. Analizy wykonywano corocznie w drzewostanach objętych doświadczeniami oraz – równolegle – w drzewostanach kontrolnych oddalonych od nich o 13–15 km: w 2011 r. w oddz. 223b leśn. Romanka Dolna, w 2012 r. oddz. 108f leśn. Korbzielów, a w 2013 r. w oddz. 196ab/199a leśn. Romanka Dolna. W 2012 r. przeprowadzono bardziej szczegółowe analizy, rejestrując dodatkowo strukturę płciową populacji zasiedlającej badane drzewa (przyjmując za liczbę samców liczbę komór godowych, a za liczbę samic – liczbę chodników macierzystych), długość 10 chodników macierzystych w każdej sekcji, rozrodność efektywną (liczbę jaj i rozwijających się z nich larw w chodniku drążonym przez jedną samicę, 10 chodników jw.) oraz śmiertelność owadów w żerowiskach (parazytydy, grzyby entomopatogeniczne).

W połowie maja 2013 r. w drzewostanie objętym doświadczeniami oraz w drzewostanie kontrolnym wyłożono po 10 pułapek klasycznych w postaci okrzyszanych 5-metrowych wyrzynków świerkowych, bez feromonu. W połowie lipca 2013 r. dokonano kontroli zasiedlenia tych pułapek, poprzez zdjęcie kory na połowie obwodu dwóch półmetrowych sekcji umiejscowionych w odległości 0,5 m od końców każdego wyrzynka. Na zdjętym płacie kory określano liczbę żerowisk kornika drukarza przypadających na powierzchnię 1 dm².

W 2011 r. wykonano bezpośrednie opryski preparatem BoVeril. W dniu 7.06.2011 r. w oddz. 44 ścięto trzy świerki, które po okrzyszaniu opryskano roztworem 500 g preparatu w 24 litrach wody przy użyciu fabrycznie nowego opryskiwacza plecakowego Solo 425. Opryskane dłużyce przykryto świeżymi gałęziami świerkowymi, a do każdej z nich doczepiono dyspenser feromonowy Pheroprax ampulka w celu zapewnienia odpowiedniego zasiedlenia pułapek. Zabieg wykonano w temperaturze 19°C, przy wilgotności względnej powietrza wynoszącej 65% (dane ze stacji Koszarawa Tajch). W tym samym czasie przygotowano 3 drzewa pułapkowe (pułapki klasyczne), które pozostawiono pod drzewostanem, przewidując ich opryskanie po zasiedleniu przez korniki. W dniu 21.06.2011 r. powtórnie opryskano drzewa pułapkowe bez zdejmowania przykrywających je gałęzi, w temperaturze 18°C i przy wilgotności względnej powietrza wynoszącej 68%, częściowym zachmurzeniu i przelotnych słabych opadach deszczu. Zużyto 12 litrów roztworu wodnego zawierającego 200 g BoVerilu. W dniu 29.07.2011 r. pobrano próbki kory z dłużyc opryskanych przed i po zasiedleniu, celem określenia stopnia zainfekowania chrząszczy w żerowiskach. Próbki przeglądano w terenie, a w laboratorium umieszczono je w tzw. mokrych kamerach (szalki Petriego z bibułą nasączoną wodą) do kilkudniowej hodowli. Dokonano też oprysku przygotowanych wcześniej drzew pułapkowych bez feromonu, które w międzyczasie zostały zasiedlone przez korniki. Oprysk wykonano na 3 dłużycach, używając roztwór 200 g preparatu w 12 litrach wody, w temperaturze 16,3°C, przy wilgotności względnej powietrza wynoszącej 110%. Dłużyce po oprysku przykryto gałęziami. Wszystkie opryskane pułapki pozostawiono pod drzewostanem, dopuszczając do wylotu młodego pokolenia chrząszczy (spodziewana dyspersja grzyba w populacji korników).

W dniu 16.05.2013 r. wykonano za pomocą opryskiwacza Solo 425 opryski dwóch leżących drzew pułapkowych roztworem wodnym biopreparatu Boverol w koncentracji 500 ml suchego preparatu na 5 l wody, przy temperaturze powietrza 18,3°C i wilgotności względnej wynoszącej 53%. Kolejne dwie pułapki opylono biopreparatem w formie suchej. Opryskane i opylone pułapki, do których przymocowano feromony Pheroprax, przykryto świeżymi gałęziami, a następnie skontrolowano w dniu 8.08.2013 r., oceniając stopień ich zasiedlenia oraz stan rozwoju zasiedlających je owadów.

W latach 2012 i 2013 wykonano doświadczenia nad bezpośrednim infekowaniem chrząszczy kornika drukarza zarodnikami *B. bassiana* w warunkach częściowo kontrolowanych. W tym celu przygotowano 9 półmetrowych świeżych wałków świerkowych, które zawieszono na linie między drzewami w grupach po 3 i zamknięto w muślinowych osłonkach (fot. 2a). Do każdej z osłonek wpuszczono 50 żywych chrząszczy kornika drukarza, odłowionych w innym leśnictwie z wykorzystaniem feromonów syntetycznych i muślinowego ekranu w dniach 22.05.2012 r. i 14.06.2013 r. W każdej z trzech grup na pierwszym wałku umieszczono chrząszcze uprzednio przepuszczone przez suchy preparat, a na pozostałych dwóch – chrząszcze niezainfekowane. Po upływie ok. 3–4 tygodni (odpowiednio 21.06. i 5.07.) na drugim wałku wykonano iniekcje wodnym roztworem preparatu, aplikując go za pomocą strzykawki (fot. 2b) do otworów wejściowych, wydrążonych przez chrząszcze podczas zakładania żerowisk. Trzeci wałek z każdej grupy pozostawiono jako kontrolny. Wałki pozostawiono zawieszane aż do końca sezonu wegetacyjnego, a następnie oceniono zagęszczenie i stopień rozwoju żerowisk oraz stopień porażenia chrząszczy przez *B. bassiana*.

Jesienią 2011 r. w drzewostanie objętym badaniami założono doświadczenie mające na celu określenie wpływu *B. bassiana* na chrząszcze zimujące w ściółce. W tym celu wybrano 5 pniaków po drzewach zasiedlonych, ściętych późną jesienią, w otoczeniu których znajdowały się fragmenty kory odbitej przez dzięcioły. Założono, że część chrząszczy, które znajdowały się w korze, będzie zimowała w ściółce (Onyśko, Starzyk 2011). Fotoeklektory wyłożono parami (fot. 3): jeden na ściółkę, którą opylono preparatem BoVeril, drugi – na ściółkę nieopyloną (kontrola). Ogółem wyłożono 5 par fotoeklektorów. Doświadczenie powtórzono wczesną wiosną 2013 r., przed rójką kornika drukarza, przy czym pod jednym z fotoeklektorów każdej pary opylono powierzchnię ściółki preparatem Boverol w formie suchej. Kontrolni owadów zebranych do pojemników na fotoeklektorach dokonano w lipcu.

W celu scharakteryzowania warunków pogodowych w okresie prowadzenia doświadczeń w 2011 r. wykorzystano dane pochodzące ze stacji pomiarowej Koszarawa Tajch, znajdującej się w sąsiedztwie obszaru badań i pozostającej w gestii Starostwa Powiatowego w Żywcu, które pobrano ze strony internetowej www.traxelektronik.pl. Natomiast w latach 2012 i 2013 prowadzono własne pomiary temperatury i wilgotności powietrza w rejonie badań, stosując rejestrator TinyTag Extra (2012 r.) oraz stację pomiarową Davis Vantage VUE (2013 r.).

Pośrednia ocena skuteczności zastosowanych preparatów została przeprowadzona na podstawie analizy nasilenia wy-



Fotografia 2. Wałki świerkowe zawieszane w drzewostanie do doświadczeń nad bezpośrednim infekowaniem chrząszczy (a) oraz wykonywanie iniekcji roztworem preparatu do żerowisk kornika drukarza (b)

Photo 2. Suspended spruce bolts for the experiments with direct infection of beetles(a) and the injections of fungal dilution into the *I. typographus* gallery systems (b)



Fotografia 3. Fotoeklektory na zimujące chrząszcze, wyłożone na ściółce wiosną 2013 r.

Photo 3. Ground electrotraps for overwintering beetles exposed on the litter in the spring 2013

dzielania się posuszu czynnego w drzewostanach objętych doświadczeniami oraz w drzewostanach kontrolnych, w których nie stosowano preparatów. W tym celu wybrano dwa kompleksy oddziałów: pierwszy – o powierzchni 80,65 ha w leśnictwie Koszarawa Bystra oddz. 41–44, drugi – o powierzchni 92,49 ha – w leśnictwie Sopotnia Potok oddz. 187, 189–191. Drzewostany kontrolne dobrano tak, aby położone były na tej samej ekspozycji (południowej) i w zbliżonej (ok. 1000 m n.p.m.) strefie wysokości. Analizą objęto lata 2009–2013, a zatem poprzedzające (2009–2010) i obejmujące (2011–2013) okres prowadzenia doświadczeń. Dane dotyczące miąższości posuszu czynnego zarejestrowane w SILP uzyskano z Nadleśnictwa Jeleśnia.

Analizy statystyczne wyników w kierunku stwierdzenia istotności różnic w zagęszczeniu żerowisk, długości chodników macierzystych i liczbie potomstwa między wariantem doświadczalnym i kontrolnym prowadzono metodą testów nieparametrycznych Manna-Whitneya (M-W). Obliczenia wykonywano z zastosowaniem oprogramowania MSExcel oraz Statistica v. 5.0 (Stat-Soft, Inc. 1997).

3. Wyniki badań

Warunki pogodowe podczas doświadczeń

W 2011 r. okres obejmujący kolejne opryski dłużyć (kiedy trwało zasiedlanie drzew i miała nastąpić spodziewana infekcja chrząszczy) charakteryzował się chłodną i deszczową pogodą (tab. 1), a także zimnymi (10–12°C) nocami.

W latach 2012 i 2013 warunki pogodowe były zbliżone (tab. 1). Na początku maja 2012 r. panowały zmienne temperatury, z dniami bardzo chłodnymi (nieco ponad 5°C) oraz bardzo chłodnym (poniżej 5°C) okresem w połowie miesiąca. Krótkotrwałe ocieplenie na początku III dekady maja umożliwiło zebranie potrzebnych do doświadczeń chrząszczy kornika drukarza, odbywających spóźnioną rójkę. W kolejnym okresie warunki pogodowe były zmienne, a okres cieplejszej (do 31°C), ale suchszej pogody nastąpił dopiero po połowie czerwca. W dniach zakładania hodowli w wałkach oraz wykonywania iniekcji do żerowisk panowały jednak dobre warunki pogodowe, z umiarkowaną temperaturą i bez opadów.

Wiosna 2013 r. także cechowała się zmiennymi warunkami atmosferycznymi, z okresami chłodnej i deszczowej pogody w maju i czerwcu (tab. 1). Wpłynęło to na opóźnienie

i rozwleczenie rójki kornika drukarza, co wobec trudności ze zbiorem żywych chrząszczy do doświadczeń spowodowało ich stosunkowo późne założenie. Także w późniejszym okresie pogoda była zmienna, co nie wpłynęło jednak na rozwój kornika drukarza w żerowiskach założonych w okresie sprzyjających warunków atmosferycznych (temperatury do 27°C), jakie panowały również w okresie dokonywania iniekcji w wałkach świerkowych użytych do doświadczeń.

Pałapki feromonowe z biopreparatem

Podczas prowadzonych kontroli stwierdzono, że korniki odławiające się do pałapek feromonowych opuszczały je mając na ciele zarodniki *B. bassiana*, przy czym zbyt duża ilość suchego preparatu na ciele chrząszczy powodowała ich zamieranie wskutek mechanicznego zatykania przetchlinek. W drugim i trzecim roku doświadczeń efekt ten częściowo ograniczono, modyfikując moduł pałapki zawierający preparat, poprzez zastosowanie elementu piankowego (fot. 1b). Chrząszcze opuszczające pałapki podejmowały lot, a nieliczne pozostawały na ściółce pod pałapkami.

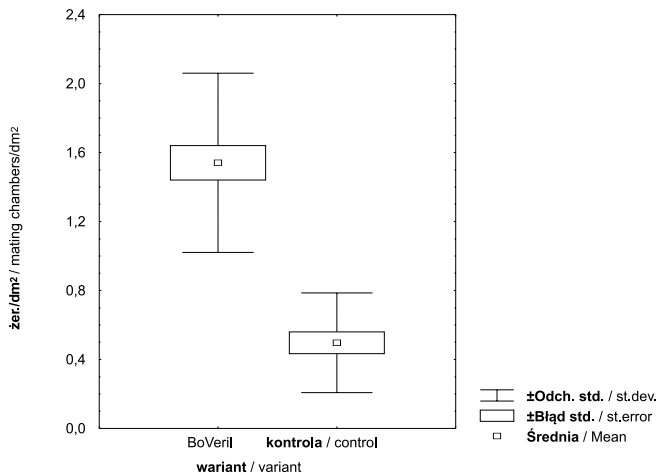
W ostatnich dniach sierpnia 2011 r. przeanalizowano 27 płatów kory ze stojących 9 drzew posuszowych w drzewostanie objętym doświadczeniami oraz 21 płatów kory z 7 świerków w drzewostanie kontrolnym. W analizowanych sekcjach stwierdzono zasiedlenie przez kornika drukarza o średnim (\pm odch. stand.) zagęszczeniu 1,541 (\pm 0,520) żerowiska na 1 dm² w wariantcie doświadczalnym, wobec 0,497 (\pm 0,289) żer./dm² w wariantcie kontrolnym (ryc. 1), a różnice między wariantami były statystycznie istotne (M-W $U=16,0$; $z=5,56$; $p<0,001$).

W wariantcie doświadczalnym na płatach kory o rozmiarach 25×25 cm znajdowano od 0 do 90 żywych chrząszczy (średnio 15,37 osobnika) oraz od 0 do 90 kolebek poczwarkowych (średnio 16,11 szt.). Stwierdzono także obecność chrząszczy martwych, które w liczbie do 4 szt. znajdowano na 8 analizowanych płatach kory (30%). Wśród martwych osobników znaleziono tylko jednego chrząszcza przerośniętego mycelium. Na 11 z 27 płatów (41%) stwierdzono obecność oprzędów parazytoidea *Coeloides bostrychorum* (Gir.) (Hym., Braconidae) (fot. 4). Stopień spasożytowania kornika drukarza przez *C. bostrychorum* wahał się od 10 do 100% w wariantcie doświadczalnym oraz od 10 do 90% w wariantcie kontrolnym, przy czym średnio był niższy w drzewostanach objętych doświadczeniem (ryc. 2). Poczwarki w oprzędach

Tabela 1. Temperatura i wilgotność względna powietrza w rejonie i okresie prowadzenia doświadczeń w latach 2011–2013

Table 1. Air temperature and relative humidity in the area and period of experiments in 2011–2013

Dane obejmujące okres: Data concerning period:	Temperatura powietrza (°C) Air temperature (°C)			Wilgotność względna powietrza (%) Air relative humidity (%)			Daty oprysków / opylów Date of spraying / dusting
	średnia mean	min.	max.	średnia mean	min.	max.	
5.06.–22.06.2011	17,3	10,1	31,7	76,8	28,7	100,0	7 i 21.06.
1.05.–20.06.2012	12,4	-0,7	31,0	74,7	20,0	100,0	22.05.
1.05.–20.06.2013	12,5	1,9	26,9	81,5	45,0	100,0	16.05. i 14.06.



Rycina 1. Średnia gęstość zasiedlenia sekcji strzał świerków w oddz. 43ab/44b (wariant doświadczalny) oraz 223b (wariant kontrolny) w Nadl. Jeleśnia w 2011 r.

Figure 1. Mean infestation density of spruce stem sections in the subcomp. 43ab/44b (experiment) and 223b (control) in Jeleśnia Forest District in 2011

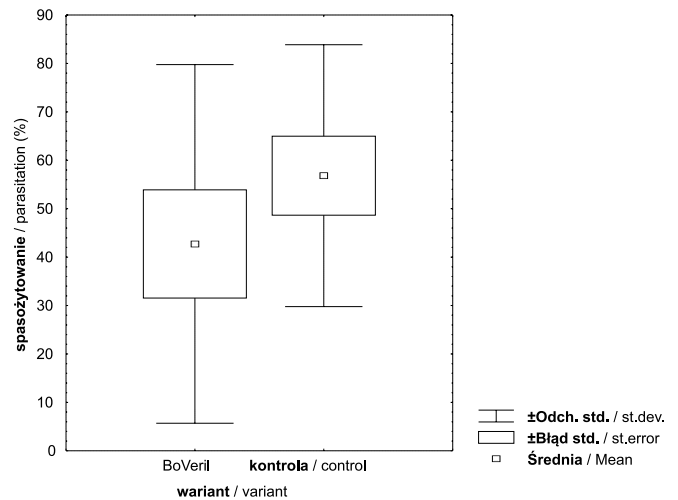


Fotografia 4. Oprzędki *Coeloides bostrychorum* w żerowiskach kornika drukarza na zasiedlonych drzewach stojących w drzewostanie objętym doświadczeniami

Photo 4. *Coeloides bostrychorum* cocoons in *I. typographus* galleries found on infested standing trees in the stand subjected by the experiments

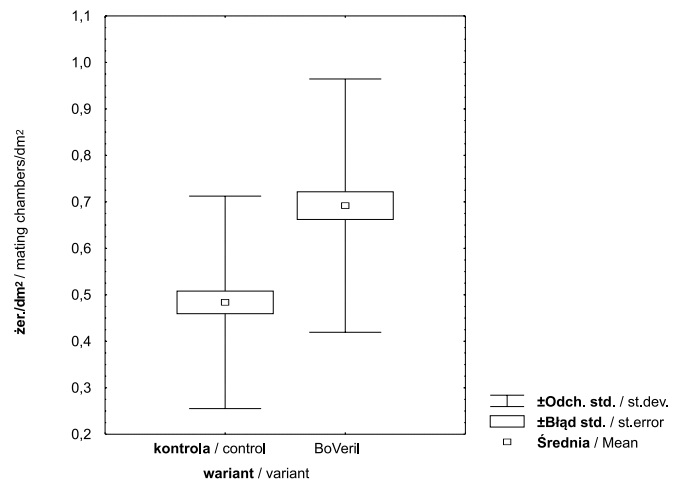
rozwijały się jednak bez przeszkód, a w hodowłach laboratoryjnych uzyskano imagines parazytoidów.

Wykonane w 2012 r. szczegółowe analizy zasiedlenia czterech drzew posuszonych ściętych w sąsiedztwie wystawionych pułapek z zarodnikami grzyba (oddz. 43a/44b) oraz na trzech drzewach w drzewostanie kontrolnym (oddz. 108f) wykazały większe zagęszczenie średnie (\pm odch. stand.) żerowisk kornika drukarza w wariantcie doświadczalnym ($0,692 \pm 0,272$) niż w kontrolnym ($0,484 \pm 0,229$), przy czym różnice między wariantami były statystycznie istotne (M-W $U=1752,0$; $z=-5,97$; $p<0,001$) (ryc. 3), a maksymalne zagęszczenie żerowisk przekraczało 12 komór godowych na 1 dm^2 .



Rycina 2. Średni stopień spasożytwania (%) kornika drukarza przez *Coeloides bostrychorum* w sekcjach strzał świerków w oddz. 43ab/44b (wariant doświadczalny) oraz 223b (wariant kontrolny) w Nadl. Jeleśnia w 2011 r.

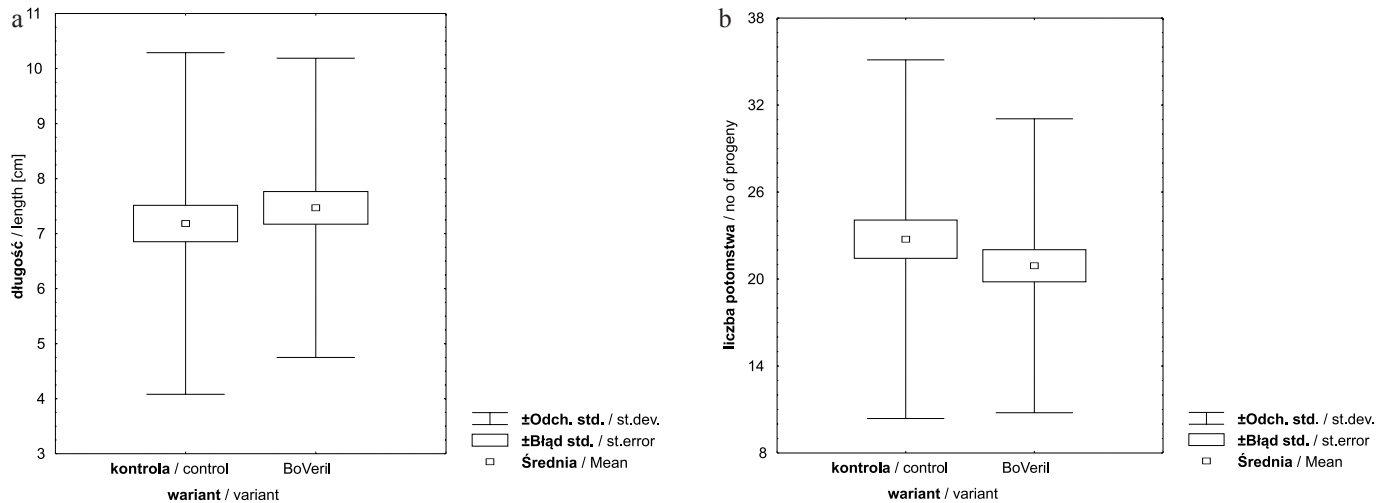
Figure 2. Mean parasitism (%) of *I. typographus* by *Coeloides bostrychorum* in the stem sections of spruces in the subcomp. 43ab/44b (experiment) and 223b (control) in Jeleśnia Forest District in 2011



Rycina 3. Gęstość zasiedlenia przez kornika drukarza sekcji strzał stojących drzew posuszonych w 2012 r.: kontrola – Korbiewów 108f, BoVeril – Koszarawa Bystra 43a/44b

Figure 3. Infestation density by *I. typographus* in the stem sections of standing spruce trees in 2012: kontrola – Korbiewów 108f, BoVeril – Koszarawa Bystra 43a/44b

Analizując wybrane parametry żerowisk stwierdzono, że w wariantcie doświadczalnym samice kornika drukarza wykształcały nieco dłuższe chodniki macierzyste niż w wariantcie kontrolnym – odpowiednio 7,469 i 7,184 cm (ryc. 4a), przy nieco większej niż w wariantcie doświadczalnym liczbie potomstwa jednej samicy w wariantcie kontrolnym – odpowiednio 22,75 i 20,92 (ryc. 4b), w obu przypadkach bez różnic statystycznie istotnych.



Rycina 4. Średnia długość chodnika macierzystego (a) oraz liczba potomstwa jednej samicy (b) w drzewostanach traktowanych preparatem BoVeril (leśn. Koszarawa Bystra) i kontrolnych (leśn. Korbielów) w 2012 r.

Figure 4. Mean maternal gallery length (a) and number of progeny from individual female (b) in the stands treated by BoVeril (Koszarawa Bystra) and control ones (Korbielów) in 2012

Struktura płciowa populacji kornika drukarza zasiedlającej drzewa posuszowe była zbliżona w obu wariantach, z niewielką przewagą samic – w wariantcie doświadczalnym średnio 61% (50–79%), a w kontrolnym 62% (56–65%). W obu wariantach dominowały żerowiska z jednym lub dwoma chodnikami macierzystymi (odpowiednio 92 i 96%), a udział żerowisk 4-chodnikowych dochodził maksymalnie do 1%.

Kornik drukarz przeszedł wszystkie stadia rozwojowe – w żerowiskach stwierdzano poczwarki i niewybarwione chrząszcze, a nigdzie nie znaleziono oznak występowania *B. bassiana*. Stwierdzono także wysokie (dochodzące do 80%) spasożytność kornika głównie przez *C. bostrychorum*, który także nie wykazywał oznak zagrzybienia.

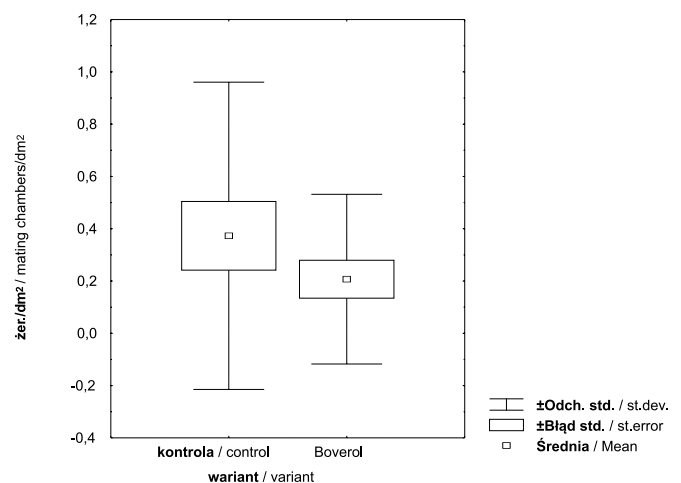
W sierpniu 2013 r. w drzewostanach objętych doświadczeniami wykonano jedynie pobieżne analizy zasiedlenia drzew stojących przez kornika drukarza. Potwierdziły one wyniki zebrane w latach 2011–2012. Na analizowanym poszusz, wydzielającym się w niewielkim nasileniu, stwierdzano typowy obraz zasiedlenia przez *I. typographus*, *I. amitinus* (Eichh.) i *Pityogenes chalcographus* (L.), z pełnym (do wykształconych, żywych imagines) spektrum stadiów rozwojowych oraz obecność parazytoidów, żerujących larw *Thanasimus formicarius* (L.) i chrząszczy z rodziny kusakowatych Staphylinidae. Nie stwierdzano podwyższonej śmiertelności lub oznak zagrzybienia owadów w żerowiskach.

Latem 2013 r. wykonano analizy zasiedlenia 40 sekcji na 20 pułapkach klasycznych, wyłożonych po 10 szt. w drzewostanie objętym doświadczeniami i kontrolnym. Stwierdzono obecność żerowisk *I. typographus* w 10 (50%) na 20 analizowanych sekcji w wariantcie doświadczalnym oraz 11 (55%) w wariantcie kontrolnym. Średnia (\pm odch. stand.) gęstość zasiedlenia przez kornika drukarza była większa w wariantcie kontrolnym ($0,373 \pm 0,588$ żer./dm²) niż w wariantcie z Boverolem ($0,207 \pm 0,325$ żer./dm²), a różnice między wariantami nie były statystycznie istotne (ryc. 5). Analizowane pułapki zasiedlone były także przez *P. chalcographus*, którego żerowiska stwierdzono w 13 (65%) na 20

analizowanych sekcji w wariantcie doświadczalnym i 6 (30%) w wariantcie kontrolnym. Średnie (\pm odch. stand.) zagęszczenie jego żerowisk na 1 dm² było większe w wariantcie kontrolnym ($0,504 \pm 0,822$) niż w drzewostanach objętych doświadczeniem ($0,407 \pm 0,534$), a różnica między wariantami nie była statystycznie istotna. Nie stwierdzono w żerowiskach obecności chrząszczy rytownika pospolitego z objawami zagrzybienia.

Ocena efektu bezpośredniego infekowania chrząszczy

W żerowiskach na próbkach kory pobranych 29.07.2011 r. z opryskanych pułapek znaleziono tylko 1 chrząszcza z oznakami infekcji, tj. obecnością białego mycelium, oraz zdrowe larwy.



Rycina 5. Gęstość zasiedlenia drzew pułapkowych przez kornika drukarza w 2013 r.: kontrola – Romanka Dolna 196ab/199a, Boverol – Koszarawa Bystra 43a/f

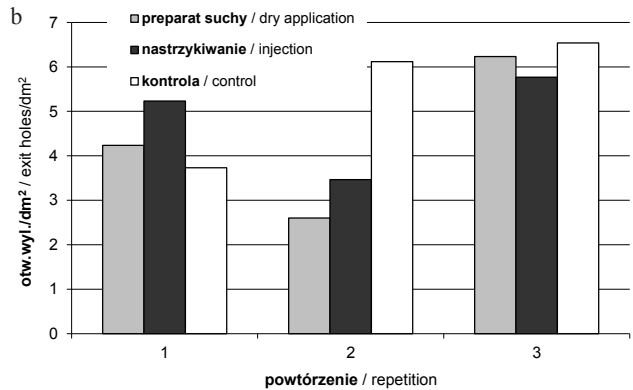
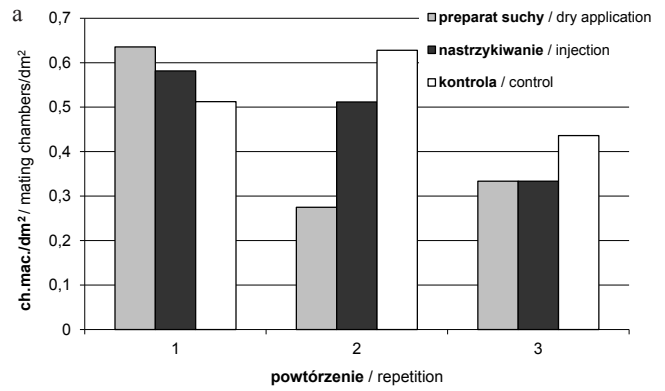
Figure 5. Infestation density by *I. typographus* on lying trap logs in 2013: control – Romanka Dolna 196ab/199a, Boverol – Koszarawa Bystra 43a/f

Wykonana w dniu 8.08.2013 r. kontrola pułapek klasycznych wykazała, że pułapki opryskane w maju roztworem wodnym Boverolu zostały silnie zasiedlone przez *I. typographus* i *P. chalcographus*, za wyjątkiem górnej ich powierzchni o przeschniętym łyku. Stwierdzono na nich także żerowiska rębacza *Rhagium* sp. i żerdzianek *Monochamus* sp. W żadnym z żerowisk nie zaobserwowano oznak zagrzybienia, zwłaszcza zaś obecności owadów przerośniętych białym mycelium. Korniki odbyły pełny rozwój (stwierdzono otwory wylotowe imagines), w przypadku *I. typographus* – łącznie z charakterystycznym żerem dojrzałościowym w postaci tzw. „jelenich rogów”. W żerowiskach kornika drukarza stwierdzano też obecność żywych larw *T. formicarius*. Podobny obraz (łącznie z żerowiskami *Monochamus* i *Rhagium*) zaobserwowano na pułapkach opylonych suchym biopreparatem Boverol, przy czym na jednej z nich znaleziono pojedyncze chrząszcze przerośnięte mycelium (fot. 5), stanowiące ułamek procenta populacji, która rozwinęła się na pułapkach.

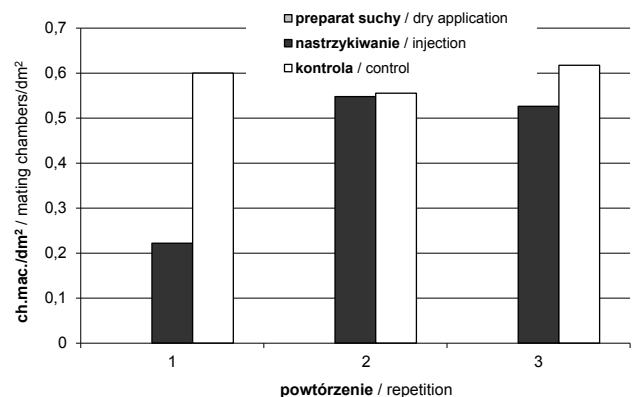


Fotografia 5. Chrząszcz *I. typographus* przerośnięty mycelium
Photo 5. *I. typographus* adult penetrated by mycelium

W 2012 r. we wszystkich wariantach doświadczenia z użyciem zawieszonych wałków świerkowych *I. typographus* założył żerowiska, których zagęszczenie wynosiło 0,28–0,64 chodników macierzystych na 1 dm². Najwyższą jego wartość średnią stwierdzono w wariantcie kontrolnym (0,52), niższą – w wariantcie z nastrzykiwaniem (0,48), a najniższą – w wariantcie z preparatem w formie suchej (0,41), przy czym ten układ wartości nie był zachowany w kolejnych powtórzeniach (ryc. 6a). Podobnie zmienne były średnie liczby otworów wylotowych chrząszczy (ryc. 6b), przyjmując średnie wartości: 5,46 (kontrola), 4,82 (nastrzykiwanie) i 4,36 (preparat suchy). Stwierdzono, że chrząszcze przeszły wszystkie stadia rozwojowe, odbyły żer dojrzałościowy, a nawet wyprowadziły kolejne pokolenie (w listopadzie stwierdzano liczne żywe chrząszcze, z których część wydrążyła w korze płytkie nisze do zimowania). Nie zaobserwowano żadnych różnic w stopniu i tempie rozwoju korników pomiędzy poszczególnymi wariantami doświadczenia.



Rycina 6. Liczba chodników macierzystych (a) oraz otworów wylotowych chrząszczy (b) przypadająca na 1 dm² powierzchni kory w poszczególnych wariantach i powtórzeniach doświadczenia w 2012 r.
Figure 6. Number of mating chambers (a) and exit holes (b) on 1 dm² of bark area in individual experimental variants and repetitions in 2012



Rycina 7. Liczba chodników macierzystych przypadająca na 1 dm² powierzchni kory w poszczególnych wariantach i powtórzeniach doświadczenia w 2013 r.

Figure 6. Number of mating chambers on 1 dm² of bark area in individual experimental variants and repetitions in 2013

W 2013 r. największą średnią liczbę chodników macierzystych stwierdzono na wałkach w wariantcie kontrolnym (0,59), a niższą (0,43) w wariantcie z nastrzykiwaniem żerowisk (ryc. 7), ponownie bez zachowania regularności w powtórzeniach. Natomiast na 2 z 3 wałków w wariantcie z preparatem

w formie suchej stwierdzono jedynie po 4 wgryzienia samców kornika drukarza, które rozpoczęły drążenie komór godowych przy końcach wałków i zamarły, a na trzecim nie stwierdzono żerowisk. Na analizowanych wałkach określono liczbę chodników larwalnych rozwiniętych z 5 losowo wybranych chodników macierzystych. W wariantcie z zastosowaniem preparatu w formie suchej nie stwierdzono rozwoju larw, w wariantcie z nastrykiwaniem żerowisk wodnym roztworem preparatu liczba ta wahała się w zakresie 12–46, a w wariantcie kontrolnym wynosiła 24–44 chodniki larwalne.

W wyniku doświadczenia z zimy 2011/2012 uzyskano ogółem 74 egzemplarze owadów zebranych z 5 par fotoeklektorów, w tym 20 w wariantcie doświadczalnym oraz 54 w wariantcie kontrolnym (tab. 2).

Natomiast w doświadczeniu z wiosny 2013 r. nie uzyskano żadnych owadów z hodowli fotoeklektorowych.

Ocena efektu ochronnego – wydzielanie się posuszu czynnego

Analiza dynamiki wydzielania się posuszu czynnego oparta została na danych o miąższości pozyskanych drzew zasiedlonych przez owady kambiofagiczne (PZ) w wybranych kompleksach drzewostanów. Według opisu taksacyjnego drzewostany o udziale świerka wynoszącym ponad 50% zajmowały w kompleksie Koszarawa Bystra 42,97 ha czyli 53%, a w kompleksie Sopotnia Potok – 82,44 ha czyli 89%. Pomimo różnic w charakterystyce drzewostanów, w obu kompleksach miało miejsce wzmożone wydzielanie się posuszu czynnego. Na obszarze obu wymienionych leśnictw łącznie w latach 2009–2010 pozyskiwano ok. 15 tys. m³ posuszu czynnego rocznie; w 2009 r. większą jego ilość pozyskano w leśn. Sopotnia Potok, a w 2010 – w leśnictwie Koszarawa Bystra. W kolejnych latach rozmiar tych cięć ulegał stopniowemu ograniczeniu, wyraźniejszemu w leśn. Koszarawa Bystra (ryc. 8a). Aby możliwe było dokonanie zaplanowanych porównań, dane dotyczące miąższości posuszu czynnego po-

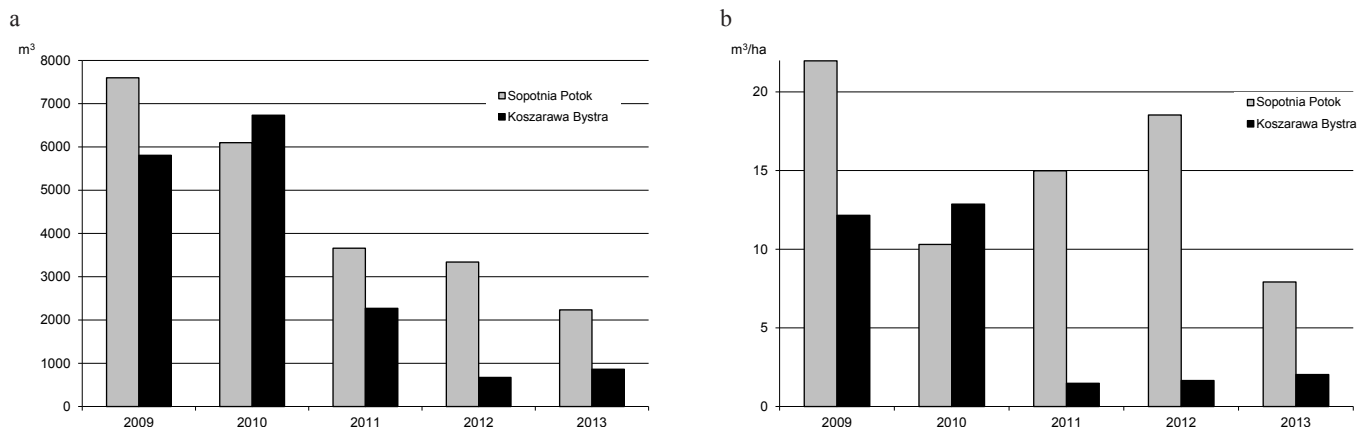
Tabela 2. Liczba owadów w fotoeklektorach wyłożonych na zimę 2011/2012 r. na ściółce

Table 2. Number of insects found in ground electors exposed on litter for 2011/2012 winter

Takson Taxon	wariant z preparatem experimental variant	wariant kontrolny control variant
<i>Ips typographus</i> (L.)	3	8
<i>Orthotomicus laricis</i> (Fabr.)	1	1
<i>Dryocoetes autographus</i> (Ratz.)	1	6
<i>Pityophthorus pityographus</i> (Ratz.)	-	2
<i>Hylastes</i> spp.	-	8
<i>Otiorrhynchus</i> sp.	2	1
Curculionidae (inne)	5	-
<i>Tetropium castaneum</i> (L.)	3	-
<i>Oxymirus cursor</i> (L.)	-	1
<i>Glischrochilus quadripunctatus</i> (L.)	-	1
<i>Rhizophagus</i> spp.	1	19
<i>Notiophilus biguttatus</i> (Fabr.)	-	1
Elateridae	4	6
Razem / Total	20	54

zyskanego w wybranych kompleksach oddziałów o zbliżonej powierzchni poddano standaryzacji, sprowadzając je do wartości przypadających na 1 ha (ryc. 8b).

W latach 2009–2010 nasilenie wydzielania się posuszu czynnego było w obu kompleksach oddziałów wysokie, osiągając wartość od ponad 10 do przeszło 20 m³/ha, przy czym w roku 2009 było ono niemal dwukrotnie wyższe w kontrolnym kompleksie oddziałów (Sopotnia Potok), niż w oddziałach poddanych w późniejszych latach doświadczeniom (Koszarawa Bystra), a w roku 2010 posusz wydzieliał się



Rycina 8. Wydzielanie się posuszu czynnego w leśn. Koszarawa Bystra (obszar objęty doświadczeniami z lat 2011-2013) i w leśn. Sopotnia Potok (obszar kontrolny) w latach 2009–2013: ogółem (a) i w przeliczeniu na 1 ha (b)

Figure 8. Volume of trees infested by bark beetles in Koszarawa Bystra (experiments in 2011-2013) and Sopotnia Potok (control) in 2009-2013: in total (a) and per 1 ha (b)

intensywniej w drugim z wymienionych kompleksów (ryc. 8b). W kolejnych latach, czyli w okresie prowadzenia doświadczeń, wydzielanie się posuszu czynnego uległo bardzo wyraźnemu ograniczeniu w kompleksie oddziałów w leśn. Koszarawa Bystra, a znacznie wzrosło w drzewostanach leśn. Sopotnia Potok w latach 2011–2012, a być może także w 2013 r. (dane nie obejmują całego roku).

4. Podsumowanie i dyskusja

W prowadzonych przez 3 kolejne sezony wegetacyjne doświadczeniach terenowych nad zastosowaniem biopreparatów zawierających zarodniki owadobójczego grzyba *Beauveria bassiana* nie uzyskano spodziewanych rezultatów w postaci bezpośrednich symptomów transmisji grzyba do populacji korników żyjących na świerku pospolitym, ani też wywołanej przez ten organizm ich śmiertelności. Jest to wynik nieoczekiwany, bowiem zakładane osiągnięcie przynajmniej ograniczonego efektu zastosowania tego entomopatogena wynikało z dotychczasowej wiedzy o wielokrotnie dowiedzionym w warunkach laboratoryjnych owadobójczym działaniu *B. bassiana* w stosunku do kornika drukarza, jak również z pozytywnych wyników eksperymentów terenowych, które jednak jak dotąd nigdzie nie doprowadziły do opracowania metody ochronnej przydatnej dla praktyki leśnej.

Bałazy (1962) izolował *B. bassiana* z martwych okazów imagines szeregu gatunków chrząszczy, w tym z korników występujących na świerku, m.in. *I. typographus*, *I. amitinus*, *P. chalcographus*, *Pityophthorus pityographus* (Ratz.) czy *Polygraphus poligraphus* (L.), ale także z pasożytniczej błonkownicy *Rhopalophorus clavicornis* (Wesm.). Wskazywać by to mogło, że sztuczne aplikacje biopreparatu zawierającego zarodniki tego grzyba powinny wywołać efekt w postaci mykoz u szeregu gatunków kambiofagów świerka, a także u ich pasożytów, czego jednak nie udało się uzyskać. We wszystkich wariantach doświadczeń zarówno korniki, jak ich pasożyty odbywały pełny rozwój zakończony wydaniem nowego pokolenia, a spowodowana przez grzyby śmiertelność populacji w żerowiskach była na poziomie praktycznie niezauważalnym.

Mimo że owadobójcze działanie *B. bassiana* w stosunku do korników żyjących na świerku zostało wielokrotnie potwierdzone w warunkach laboratoryjnych, a śmiertelność korników w zamkniętych hodowlach była zazwyczaj wysoka (Wegensteiner 1996; Kreutz et al. 2004a), to w warunkach naturalnych mykozy imagines, a zwłaszcza larw i poczwerek, zdarzały się rzadko, a śmiertelność w populacjach z tego powodu tylko czasami i to nieznacznie przekraczała 3% (Bałazy 1966, 1968; Bałazy et al. 1967). Wyższe wskaźniki śmiertelności miały miejsce w czasie wylotu młodego pokolenia chrząszczy oraz ich żeru dojrzałościowego, a zwłaszcza w populacjach zimujących w tej fazie rozwoju (Bałazy 2013). W pewnym stopniu potwierdzają to wyniki uzyskane w doświadczeniu z przełomu 2011 i 2012 r. z użyciem fotoeklektorów wyłożonych na ściółce, w którego wariantcie kontrolnym zebrano ponad 2,5-krotnie więcej owadów o znacznie szerszym spektrum gatunkowym niż w wariantcie z aplikacją

biopreparatu na ściółkę. Może to wskazywać na skuteczność jego działania na liczne gatunki chrząszczy (także drapieżnych) zimujących w ściółce, prawdopodobnie z uwagi na bardziej sprzyjające dla grzyba warunki środowiskowe.

Bałazy (2013) wspomina o jednym przypadku bardzo wysokiego (17%) udziału mykoz spowodowanych przez *B. bassiana* w zimującej populacji *I. typographus* na obumarłych drzewach. Wskazywałoby to na większą efektywność tego entomopatogena w warunkach zimującej populacji, co do pewnego stopnia znalazło potwierdzenie w wynikach uzyskanych w doświadczeniu z aplikacją suchego biopreparatu na ściółkę. Jego wyniki są jednak dość trudne do ostatecznej interpretacji, z uwagi na stosunkowo niewielką liczbę owadów zebranych w pierwszym doświadczeniu oraz całkowity brak wyników drugiego eksperymentu. Być może rezultat ten byłby inny, gdyby udało się trafić na większe skupisko chrząszczy zimujących w ściółce, co jednak w warunkach naturalnych jest niezwykle trudne. Warto jednak zwrócić uwagę na brak selektywności biopreparatu w stosunku do różnych grup systematycznych i funkcjonalnych owadów.

Kreutz i in. (2001, 2004b), prowadzący doświadczenia nad sztuczną infekcją chrząszczy *I. typographus* z zastosowaniem zmodyfikowanej pułapki feromonowej, uzyskali efekt transmisji grzyba do żerowisk i wywołania silnych mykoz, a także zmniejszenia gęstości zasiedlenia i skrócenia chodników macierzystych. Doświadczenia te prowadzono wprawdzie w warunkach terenowych, jednakże z zastosowaniem klutek hodowlanych zapobiegających przemieszczaniu się testowanej populacji chrząszczy, a zatem w warunkach w znacznej mierze kontrolowanych. W takich warunkach udawało się osiągnąć śmiertelność chrząszczy dochodzącą do 100% (Kreutz et al. 2000), a także obniżenie zdolności rozrodczych rzędu 23–29% (Vaupel, Zimmermann 1996). Żadnego z tych efektów nie udało się osiągnąć w doświadczeniach przeprowadzonych w warunkach całkowicie naturalnych, gdzie dyspersja zainfekowanych chrząszczy w drzewostanach najprawdopodobniej powoduje rozmycie się efektów stosowania biopreparatu. Stwierdzano natomiast wysokie (dochodzące do 80%) spasożytowanie kornika głównie przez *Coeloides bostrychorum*, który także nie wykazywał oznak zagrzybienia. Liczba składanych jaj i rozwijających się z nich larw nie była mniejsza niż w drzewostanach nieobjętych doświadczeniem, a ewentualne jej obniżenie wynikało jedynie z bardzo dużego zagęszczenia żerowisk (konkurencja). Co więcej, efektu obniżenia zdolności rozrodczych kornika nie uzyskano także w doświadczeniu z użyciem wałków świerkowych chronionych muślinowymi osłonkami, izolującymi populacje zainfekowane i niezainfekowane. Możliwe jest więc, że do braku efektu przyczyniła się stosunkowo niska odporność biopreparatu na warunki środowiskowe (wysoka temperatura, wilgotność), choć starano się zachować określony reżim podczas aplikacji oraz ochronę biopreparatu w pułapkach.

W warunkach laboratoryjnych optymalna dla wzrostu *B. bassiana* temperatura określona została na 23–28°C, minimalna na 5–10°C, a maksymalna na 30–38°C, podczas gdy temperatura 50°C powoduje zamieranie zarodników w ciągu 10 minut (Zimmermann 2007). Zastosowanie opartego na grzybie

owadobójczym *B. bassiana* biopreparatu do zwalczania stonki ziemniaczanej w warunkach polowych nie było skuteczne przy temperaturach dochodzących do 45°C, gdyż wówczas zarodniki grzyba w ogóle nie kiełkują (Sosnowska 2005). Średnia temperatura dochodząca do 24°C była jednak wystarczająca do tego, aby uzyskać dużą skuteczność grzyba, natomiast jej spadek do 19°C był już mniej korzystny dla jego rozwoju, powodując znacznie mniejszą jego skuteczność (Martin et al. 1999). Wiadomo też, że nawet w warunkach wysokich temperatur i niskiej wilgotności Boverol zachowuje swoje właściwości przez okres trzech miesięcy (Kreutz et al. 2001), natomiast według informacji na etykiecie BoVeril jest aktywny przy temperaturze gleby wynoszącej 12–26°C. Panujące podczas wykonywania oprysków oraz w okresie bezpośrednio po nim stosunkowo niskie temperatury najprawdopodobniej nie wpłynęły negatywnie na właściwości biopreparatu. Chłodna pogoda (bez silnego nasłonecznienia) jest bowiem korzystna dla zachowania zarodników *B. bassiana* – według zaleceń producenta (informacja ustna) aplikację powinno się prowadzić raczej w dni pochmurne i niezbyt ciepłe, natomiast istotnym czynnikiem zmniejszającym skuteczność zabiegu mogą być opady deszczu, wskutek zmywania preparatu z opryskanych dłuźyc. Chłodna i deszczowa pogoda nie sprzyja także rójce kornika drukarza i innych owadów, co może ograniczać skuteczność działania zastosowanych pułapek feromonowych. Jednak we wszystkich latach doświadczeń temperatura w okresie późniejszym wzrastała do poziomu 21°C i więcej, wystarczającego do skielkowania zarodników grzyba. Warto także zwrócić uwagę, że wskutek nagrzewania się leżących drzew pułapkowych temperatura i wilgotność ich kory i łyka jest zwykle wyższa niż powietrza, a zatem warunki w środowisku kiełkowania zarodników powinny być zbliżone do określonych jako optymalne dla środowiska glebowego.

Bałazy (1962) w doświadczeniach terenowych polegających na opylaniu chrząszczy *I. typographus* zarodnikami *B. bassiana* stwierdził zamieranie w chodnikach wyłącznie chrząszczy opylonych i brak transmisji grzyba na jaja i larwy. Bardzo słabą transmisję między chrząszczami pokolenia rodzicielskiego i młodego obserwowali także Vaupel i Zimmermann (1996), którzy w eksperymentach polegających na bezpośrednim umieszczaniu chrząszczy zainfekowanych Boverolem na powierzchni świeżych wałków świerkowych w korze, uzyskali śmiertelność korników rzędu 23–29%. Podobne doświadczenia przeprowadzone w ramach niniejszych badań nie przyniosły jednak spodziewanych rezultatów. Zainfekowane (opylone) suchym preparatem BoVeril korniki nie tylko nie zamierały, ale odbywały normalny rozwój i wykształcały żerowiska o parametrach porównywalnych z tymi w wariantcie kontrolnym. Jedynie w przypadku zastosowania suchego Boverolu w 2013 r. nie doszło do założenia żerowisk przez opylone chrząszcze, które prawdopodobnie ginęły w wyniku zatkania przetchlinek zarodnikami grzyba. Może to wynikać z odmiennej konsystencji obu biopreparatów.

Opryski wyrzynków świerkowych zawiesiną wodną obu biopreparatów, wykonywane zarówno przed, jak i po zasiedleniu, nie przyniosły żadnych ze spodziewanych efektów. Nie stwierdzono zwiększonej śmiertelności lub zmniejszonych

zdolności rozrodczych kornika, a w żerowiskach spotykano jedynie pojedyncze egzemplarze chrząszczy przerośniętych mycelium. Jednakże wcześniejsze próby stosowania oprysków także nie przyniosły nadzwyczajnych rezultatów. Cichońska i Świeżyńska (1993) uzyskały bardzo niski (1,7%) odsetek chrząszczy porażonych przez *B. bassiana* przy zastosowaniu oprysku wałków przed zasiedleniem, natomiast Jakuś i Błażenec (2011), opryskujący ścięte drzewa zasiedlone, określili stopień zainfekowania korników na niemal 29%, przy czym podają oni niejasne informacje o wielkości badanej próby oraz sposobie obliczania udziału zainfekowanych owadów, wobec czego trudno jest ocenić rzeczywisty efekt tego doświadczenia.

Praktycznie za jedyny efekt zastosowania biopreparatów można uznać zmniejszenie intensywności wydzielania się posuszu zasiedlonego przez korniki, jakie nastąpiło w rejonie badań w okresie ich prowadzenia. Wprawdzie na całym obszarze Nadl. Jeleśnia w okresie tym zarysowała się spadkowa tendencja intensywności wydzielania się drzew zasiedlonych (Grodzki 2013), jednak biorąc pod uwagę zbliżony poziom tego wydzielania w leśnictwach Koszarawa Bystra i Sopotnia Potok w latach poprzedzających rozpoczęcie doświadczeń zauważalne jest wyraźne załamanie tempa ich zamierania w rejonie stosowania biopreparatu. Różnica ta jest jeszcze wyraźniejsza przy porównaniu kompleksów oddziałów położonych w podobnych warunkach wysokości n.p.m. i ekspozycji, objętych – przed zastosowaniem biopreparatu – wydzielaniem się posuszu o zbliżonym nasileniu. Wprawdzie drzewostany „kontrolne” znajdują się w niewielkiej odległości od rezerwatu „Romanka”, w którym nie prowadzi się czynnej ochrony lasu, jednak nie jest to sąsiedztwo bezpośrednie. Biorąc pod uwagę zbliżony wyjściowy (przed rozpoczęciem doświadczeń) poziom wydzielania się posuszu czynnego w obu obiektach, można zatem mówić o znacznym jego obniżeniu w drzewostanach poddanych eksperymentalnej aplikacji biopreparatu zawierającego *B. bassiana*. O efekcie zastosowania *B. bassiana* w połączeniu z innymi metodami ochrony lasu przed kornikami (podobnie jak to miało miejsce w drzewostanach leśnictwa Koszarawa Bystra) wspominają Vakula i in. (2012). Wydaje się jednak, że taki wynik nie stanowi bezpośredniego dowodu na skuteczność biopreparatu, a tym bardziej wystarczającej przesłanki potwierdzającej możliwość zastosowania tej metody w ochronie świerczyn przed kornikiem drukarzem i towarzyszącymi mu owadami kambiofagicznymi.

Sosnowska (2013) zwraca uwagę, że stosowanie grzybów pasożytniczych w praktyce ochrony roślin często jest mało skuteczne, gdyż powodzenie zwalczania biologicznego uwarunkowane jest poznaniem zjawisk zachodzących w układzie pasyżyt-żywiciel-środowisko. Jednak w warunkach naturalnych grzyby owadobójcze odgrywają bardzo ważną rolę i regulują populacje wielu szkodników. Karg i Bałazy (2009) wykazali, że lasy sprzyjają rozwojowi grzybów owadzych i podkreślają, że lasy są ponad 2-krotnie bogatsze w gatunki grzybów owadobójczych niż agroekosystemy, a w związku z tym mogą bez działania człowieka w sprzyjających warunkach zredukować populacje wielu szkodników.

Podjmując badania przedstawione w niniejszym opracowaniu zakładano, że ich wyniki posłużą jako podstawa do opracowania wytycznych dla praktyki leśnej co do możliwości stosowania metod opartych na owadobójczym działaniu grzyba *B. bassiana*. W szczególności chodziło o ich ewentualne wprowadzenie do postępowania ochronnego w zakresie ograniczania populacji owadów kambiofagicznych w drzewostanach świerkowych objętych restrykcjami wynikającymi z ich funkcji ochronnych. Mimo że stwierdzono pośredni efekt ochronny w postaci zmniejszenia się ilości posuszu czynnego w obszarze objętym doświadczeniami w porównaniu z drzewostanami kontrolnymi, należy stwierdzić, że przedstawione wyniki trzyletnich doświadczeń nie dają wystarczających podstaw do rekomendowania tej metody jako elementu postępowania ochronnego w drzewostanach świerkowych zagrożonych przez owady z zespołu kornika drukarza. Stwierdzenie to jest istotne wobec podejmowanych przez producentów lub dystrybutorów biopreparatów prób zainteresowania jednostek Lasów Państwowych wprowadzeniem ich do praktyki ochrony lasu. Na podstawie przeprowadzonych badań należy stwierdzić, że wykorzystanie biopreparatów zawierających *B. bassiana* w ochronie świerczyn przed kambiofagami pozostaje nadal „obiecującą perspektywą”. Potrzeba większej ilości badań w środowisku leśnym, które pozwolą lepiej poznać zależności zachodzące między grzybami pasożytniczymi, owadami i roślinami, jak również wpływ warunków naturalnych na skuteczność zabiegów z zastosowaniem grzybów owadobójczych. Dzięki temu będzie można opracować strategię praktycznego zastosowania biopreparatów opartych na grzybach owadobójczych do ograniczania liczebności populacji szkodników lasów.

5. Wnioski

1. W wyniku trzyletnich badań nad zastosowaniem biopreparatów zawierających zarodniki owadobójczego grzyba *Beauveria bassiana* w warunkach lasu gospodarczego nie uzyskano zadowalających efektów prowadzących do ograniczenia liczebności populacji korników występujących na świerku pospolitym.

2. Chrzążce kornika drukarza na dłuźcach opryskanych lub opylonych preparatem (zarówno przed, jak i po zasiedleniu) w zdecydowanej większości kończyły rozwój lub ulegały spasożytowaniu przez błonkówki (zwłaszcza *Coeloides bostrychorum*), które także kończyły rozwój.

3. Stwierdzono, że chrząszcze odławiające się do zmodyfikowanych pułapek feromonowych zawierających biopreparat opuszczają je mając na ciele zarodniki *B. bassiana*. Zbyt duża ilość suchego preparatu na ciele korników powoduje ich zamieranie, prawdopodobnie wskutek fizycznego działania preparatu (zatykanie przetchlinek).

4. Nie stwierdzono objawów transmisji preparatu grzybowego do żerowisk chrząszczy. Na analizowanych pułapkach klasycznych oraz drzewach zasiedlonych stojących w sąsiedztwie pułapek praktycznie nie znajdowano chrząszczy przerośniętych mycelium.

5. Stwierdzono ograniczony efekt owadobójczy preparatu w odniesieniu do owadów (kambio- i ksylofagów oraz drapieżców) zimujących w ściółce.

6. W doświadczeniach z bezpośrednim infekowaniem chrząszczy przed i po założeniu żerowisk nie stwierdzono oznak działania biopreparatów na rozwój kolejnych stadiów kornika drukarza ani na jego zdolności rozrodcze.

7. Stwierdzono pośredni efekt ochronny w postaci zmniejszenia się ilości posuszu czynnego w obszarze objętym doświadczeniami, w porównaniu z drzewostanami kontrolnymi. We wszystkich tych drzewostanach stosowane jednak były także standardowe metody ochrony lasu przed owadami kambiofagicznymi.

8. Testowana metoda ograniczania liczebności populacji kornika drukarza i współwystępujących z nim owadów kambiofagicznych z zastosowaniem grzyba *B. bassiana* wymaga dalszych badań. Na obecnym etapie nie ma wystarczających podstaw do rekomendowania jej jako elementu postępowania ochronnego w drzewostanach świerkowych zagrożonych przez owady z zespołu kornika drukarza.

Konflikt interesów

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów.

Podziękowania i źródła finansowania

Badania zrealizowano w ramach tematu BLP-373 finansowanego przez Dyрекcję Generalną Lasów Państwowych w latach 2011–2013.

Autorzy serdecznie dziękują pracownikom Nadleśnictwa Jeleśnia za udostępnienie danych z baz SILP oraz wsparcie w badaniach terenowych.

Literatura

- Bałazy S. 1962. Obserwacje nad występowaniem niektórych grzybów owadobójczych z grupy *Fungi Imperfecti* na owadach leśnych. *Polskie Pismo Entomologiczne Seria B, Entomologia Stosowana* 2–3 (27–28): 149–164.
- Bałazy S. 1966. Organizmy żywe jako regulatory liczebności populacji korników w drzewostanach świerkowych ze szczególnym uwzględnieniem owadobójczych grzybów. I. *Prace Komisji Nauk Rolniczych i Leśnych Poznańskiego Towarzystwa Przyjaciół Nauk XXI*, 1: 3–50.
- Bałazy S. 1968. Analysis of bark beetle mortality in spruce forests in Poland. *Ekologia Polska (A)* 16(33): 657–687.
- Bałazy S. 2012. Antagonistyczne oddziaływania pomiędzy bezkręgowcami a ich patogenami grzybowymi w żerowiskach kambio- i ksylofagów, w: A. Mazur (red.) *Ochrona lasu – wybrane problemy historyczne i współczesne*. Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu: 51–63. ISBN 978-83-7160-669-4.
- Bałazy S. 2013. Organizmy entomopatogeniczne, w: W. Grodzki (red.) *Kornik drukarz *Ips typographus* (L.) i jego rola w ekosystemach leśnych*. Centrum Informacyjne Lasów Państwowych, Warszawa: 46–49. ISBN 978-83-63895-08-2.
- Bałazy S., Bargielski J., Ziółkowski G., Czerwińska C. 1967. Śmiertelność dorosłych chrząszczy kornika drukarza – *Ips typographus*.

- graphus* (L.) (Col., Scolytidae) w żerowiskach i jej przyczyny. *Polskie Pismo Entomologiczne* 37(1): 201–205.
- Cichońska A., Świeżyńska H. 1993. Próby zastosowania biopreparatów grzybowych do ograniczania liczebności populacji niektórych szkodliwych owadów leśnych. *Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa* 761–769: 137–144.
- Głowacka B., Świeżyńska H. 1993. Grzyby owadobójcze występujące na owadach leśnych. *Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa* 761–769: 117–136.
- Grodzki W. 2007. Wykorzystanie pułapek feromonowych do monitoringu populacji kornika drukarza w wybranych parkach narodowych w Karpatach. *Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa, Rozprawy i Monografie* 8: 1–127. ISBN 978-83-87647-69-8.
- Grodzki W. 2010. The decline of Norway spruce *Picea abies* (L.) Karst. stands in Beskid Śląski and Żywiecki: theoretical concept and reality. *Beskydy* 3(1): 19–26.
- Grodzki W. 2013. Zagrożenie lasów górskich i podgórskich, w: Krótkoterminowa prognoza występowania ważniejszych szkodników i chorób infekcyjnych drzew leśnych w Polsce w 2012 roku. *Instytut Badawczy Leśnictwa, Analizy i Raporty* 20: 124–137. ISBN 978-83-62830-16-9,
- Jakuš R., Blaženc M. 2011. Treatment of bark beetle attacked trees with entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Folia Forestalia Polonica, Series A – Forestry*, 53(2): 150–155.
- Karg J., Bałazy S. 2009. Wpływ struktury krajobrazu na występowanie agrofagów i ich antagonistów w uprawach rolniczych. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 49(3): 1015–1034.
- Karpiński J.J. 1935. Przyczyny ograniczające rozmnażanie się korników drukarzy (*Ips typographus* L. i *Ips duplicatus* Sahlb.) w lesie pierwotnym. *Instytut Badawczy Lasów Państwowych Warszawa, Seria A Rozprawy i sprawozdania* 15: 1–65.
- Kreutz J., Vaupel O., Zimmermann G. 2004a. 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(6): 384–389. DOI: 10.1111/j.1439-0418.2004.00813.384–389.
- Kreutz J., Zimmermann G., Marohn H., Vaupel O., Mosbacher G. 2000. Preliminary investigations on the use of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and other control methods against the bark beetle *Ips typographus* L. (Col., Scolytidae) in the field. *Bulletin OILB/SROP* 23(2): 167–173. ISBN 92-9067-119-X.
- Kreutz J., Zimmermann G., Marohn H., Vaupel O., Mosbacher G. 2001. Freilandversuche zum Einsatz von *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. zur biologischen Bekämpfung des Buchdruckers *Ips typographus* L. (Col., Scolytidae). *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie* 13: 465–470.
- Kreutz J., Zimmermann G., Vaupel O. 2004b. Horizontal transmission of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* among the spruce bark beetle, *Ips typographus* (Col., Scolytidae) in the laboratory and under field conditions. *Biocontrol Science and Technology* 14(8): 837–848. DOI: 10.1080/788222844.
- Kunca A., Vakula J., Leontovyč R., Gubka A. 2009. Využitie entomopatogénnej huby *Beauveria bassiana* v ochrane smreka, w: A. Kunca (ed.) Aktuálne problémy v ochrane lesa. Národné lesnícke centrum Zvolen: 91–97. ISBN 978-80-8093-081-3.
- Landa Z., Kalista M., Křenová Z., Vojtěch O. 2008. Praktické využití entomopatogenní houby *Beauveria bassiana* proti lýkožroutu smrkovému *Ips typographus*, w: O. Vojtěch, P. Šustr (eds.) Ekologické metody ochrany lesa před podkorním hmyzem. Sborník referátů ze semináře, Sborníky z výzkumu na Šumavě-sešit 1. Správa NP a CHKO Šumava, Vimperk: 62–71.
- Landa Z., Křenová Z., Vojtěch O. 2007. Využití houby *Beauveria bassiana* v ochraně proti lýkožroutu smrkovému. *Lesnická práce* 10: 14–15.
- Markova G. 2000. Pathogenicity of several entomogenous fungi to some of the most serious forest insect pests in Europe. *Bulletin OILB/SROP* 23(2): 231–239. ISBN 92-9067-119-X.
- Markova G., Samshinyakova A. 1990. Laboratory studies on the effect of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on larvae of *Lymantria dispar*. *Nauka za Gorata* 27(1): 81–84.
- Martin P.A.W., Schroder R.F.W., Poprawski T.J., Lipa J.J., Sosnowska D., Hausvater E., Rasocha V. 1999. The effect of high temperatures on the susceptibility of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) to *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin in Poland, the Czech Republic and the United States. *Vědecké práce, Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod*, 13: 69–77.
- Onyško Z., Starzyk J.R. 2011. Przewidywanie rozmieszczenia zimujących chrząszczy kornika drukarza (*I. typographus* L.) i kornika zroszobębnego (*I. duplicatus* C. R. Sahlb.). *Sywan* 155(1): 21–30.
- Sierpińska A., Grodzki W. 2012. Badania nad wykorzystaniem *Bacillus thuringiensis* i entomopatogennych grzybów w ochronie lasu, w: I. Skrzecz, A. Sierpińska (red.) Kierunki rozwoju patologii owadów w Polsce. Instytut Badawczy Leśnictwa, Sękocin Stary: 144–155. ISBN 978-83-62830-11-4.
- Sosnowska D. 2005. Biopreparaty grzybowe w biologicznym zwalczaniu upraw szklarniowych i polowych. *Postępy Nauk Rolniczych* 5: 17–27.
- Sosnowska D. 2013. Postępy w badaniach i wykorzystanie grzybów pasożytniczych w integrowanej ochronie roślin. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 53(4): 747–750.
- Vakula J., Gubka A., Galko J., Varkonda Š. 2012. Aplikácia entomopatogénov do populácie škodcov s využitím feromónových lapačov, w: A. Kunca (ed.) Aktuálne problémy v ochrane lesa. Národné lesnícke centrum Zvolen: 92–96. ISBN 978-80-8093-161-2.
- Vakula J., Varkonda Š., Galko J., Gubka A., Kunca A., Zúbrik M. 2010. Rozvoj súčasných technických možností pri štúdiu niektorých spôsobov aplikácie entomopatogénnej huby *Beauveria bassiana* v rámci biologických metód ochrany lesa, w: A. Kunca (ed.) Aktuálne problémy v ochrane lesa. Národné lesnícke centrum Zvolen: 64–68. ISBN 978-80-8093-108-7.
- Vaupel O., Zimmermann G. 1996. Orientierende Versuche zur Kombination von Pheromonfallen mit dem insektenpathogenen Pilz *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. gegen die Borkenkäferart *Ips typographus* L. *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz* 69(8): 175–179.
- Wegensteiner R. 1992. Untersuchungen zur Wirkung von *Beauveria*-Arten auf *Ips typographus* (Col., Scolytidae). *Bulletin OILB/SROP* 8(1-3): 104–106.
- Wegensteiner R. 1996. Laboratory evaluation of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the bark beetle, *Ips typographus* (L.) (Coleoptera, Scolytidae). *Bulletin OILB/SROP* 19(9): 186–189.
- Zimmermann G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology* 17: 553–596. DOI:10.1080/09583150701309006.

Wkład autorów

W.G. – koncepcja badań, opracowanie metodyki, badania terenowe, opracowanie wyników, przygotowanie maszynopisu; M.K. – badania terenowe, koncepcja i wykonanie modyfikacji pułapek i fotoeklektorów, zestawienie wyników.

An attempt to use the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. in forest protection against the bark beetle *Ips typographus* (L.) in the field

Wojciech Grodzki*, Mieczysław Kosibowicz

Forest Research Institute, Department of Mountain Forests, ul. Fredry 39, 30–605 Kraków, Poland

*tel. +48 12 252 82 12, e-mail: W.Grodzki@ibles.waw.pl

Abstract. In 2011–2013, trials on the use of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against bark beetle (*Ips typographus*) populations were carried out under open field conditions in Norway spruce stands suffering from an outbreak in the Beskid Żywiecki Mts. in Poland. Modified pheromone traps were deployed to capture and thereafter release fungus-infected bark beetles to the forest environment. Infested spruce trees felled next to the traps remained unaffected by the transmission of the fungus to insect populations. Direct spraying or dusting of lying trap logs and suspended caged rearing bolts did not have any effect on spruce infestation by *I. typographus*, its reproduction success and development or natural enemies inside the bark.

A very small effect on mortality rates of target as well as non-target insects overwintering in the dusted litter was observed. Treated stands, unlike control stands, were indirectly affected by the treatment, evidenced by the reduction of tree mortality due to bark beetle infestation.

At present, no recommendations concerning the potential use of the fungus in forest protection can be given. However such an environmentally friendly approach represents a promising future prospect.

Keywords: bark beetles, *Picea abies*, biological control, montane forests, field trials

1. Introduction

Mountain forests in Poland are characteristic of a high, and often dominant share of Norway spruce, which results in permanent or else periodically escalating threat posed by cam-biophagous insects, and, especially the European bark beetle *Ips typographus* (L.). Currently applied control measures to decrease exceeding populations of this pest are labour-consuming and costly, thus there always is a need for seeking new methods assuring higher pesticide efficacy with less effort. A promising direction to take can be the use of entomopathogenic organisms, and, especially the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., which is a natural control agent that fits the now implemented model of forestry based on ecological principles.

Already in the 1930's, Karpiński (1935) reported *B. bassiana* as the reason of *I. typographus* mortality. Bałazy (1962) isolated the fungus from dead imagines of several beetle species, including bark beetles feeding on Norway spruce and comprehensively described the relationships between bark beetles and

pathogens, including *B. bassiana* (Bałazy 1966, 1968; Bałazy et al. 1967). When concluding on 20-year-long studies, Głowacka and Świeżyńska (1993) listed only two entomopathogenic fungal species associated with *I. typographus*. The fungus *B. bassiana* was highlighted as one having a wide range of forest insects as host organisms. On the other hand, however, low efficacy of entomopathogenic fungi under natural conditions has been pointed out, for example, Bałazy (2012) reported only 0.7–3% reduction in the population of *I. typographus* young generation. Laboratory studies on *B. bassiana* infection of bark beetle adults and larval stages indicated adequate effectiveness of this fungus biopreparation and high bark beetle mortality in closed cultures (Bałazy 2013). The results of the study on efficacy of the pathogen and its capability to spread out, carried out under laboratory conditions in the years 1990–2004 (Wegensteiner 1992, 1996; Markova, Samshinyakova 1990; Markova 2000; Kreutz et al. 2004a,b), allowed to elaborate *B. bassiana* application technique, later tested under field conditions (Vaupel, Zimmermann 1996; Kreutz et al. 2000, 2001, 2004b). In Poland, the trials on

Received: 24.07.2014, reviewed: 25.08.2014, accepted: 17.09.2014.

B. bassiana spray treatments on Norway spruce logs brought unsatisfactory results (Cichońska, Świeżyńska 1993). On the other hand, positive results were obtained in the trials conducted in the National Park Šumava in Czech Republic (Landa et al. 2007, 2008), as well in Slovakia (Kunca et al. 2009, Vakula et al. 2010). In 2007, in Slovakia, there were also carried out tests on *B. bassiana* water suspension applied on cut down bark beetle infested trees. The results obtained showed almost 29% infection in the pest population studied (Jakuš, Blaženc 2011).

Several biopreparations have been tested against *I. typographus* when combined with the use of pheromone traps (Vaupel, Zimmermann 1996). Good results were obtained for Boverol (containing *B. bassiana* spores) when tested under semi-natural conditions (cages with bark beetle rearing situated in forest environment) (Kreutz et al. 2000, 2004b). However, under natural conditions, Boverol treatments combined with the use of modified pheromone traps showed no expected direct effects (Vakula et al. 2010). Nonetheless, in the years 2009–2011, Boverol treatments performed along with the use of other pest control measures applied in active forest protection helped to stop the progress of *I. typographus* outbreak in military forests located in central Slovakia (Vakula et al. 2012). Other biopreparation - BoVeril - was preliminarily tested with no successful results in Poland (2009) in the Beskid Śląski, Beskid Żywiecki and Beskid Sądecki mountains (Grodzki, not published data). The same biopreparation was also evaluated in Slovakia (2008) and no positive results were obtained as well (Kunca et al. 2009).

In view of the aforesaid inconclusive results, there was recognised a need to further evaluate the possibilities of using biopreparations based on *B. bassiana* as a control agent under the conditions of managed forests affected by *I. typographus* outbreak. Employment of the fungus as a means of biological control could be of most importance, especially in mountain forest stands that often are subject to many restrictions with regard to pest control methods because of environmental concerns (Sierpińska, Grodzki 2012).

Taking into account that up to date, the trials have been generally conducted under laboratory conditions, the main goal of the present study is to determine whether at all and to what extent there functioned the entomopathogenic attribute of *B. bassiana* when artificially introduced into managed forests. It was assumed that the results could give a basis for evaluation of prospects for utilisation of this fungus in the active protection of forests. The study comprised testing different methods of biopreparation application, evaluating treatment efficacy (directly - through the assessment of *I. typographus* mortality, and indirectly - through the assessment of tree mortality) and appraising biopreparation selectivity (the effect on non-target insects).

2. Study area and methods

The study area was situated in the Beskid Żywiecki mountains, where active *I. typographus* outbreak started in 2002

and culminated in 2007–2008 (Grodzki 2010). In view of specifics of this study, the trials were set up outside Natura 2000 sites established in the region (PLH240006 Beskid Żywiecki, PLH120001 Babia Góra). The forest complex selected for *B. bassiana* treatments was situated within the area of the Forest District Jeleśnia, the forest division Koszarawa Bystra, management units: 43 and 44 (49°39'12"N, 19°26'15"E). The area is situated on southern slopes of Lachów Groń peak (1045 m above sea level [a.s.l.]), below the alp Hala Janoszkowa, at altitude approximately 1000 m a.s.l. The forest complex comprises mountain forest and mixed forest (fresh and wet) sites. Most often, these are 90–110 years old stands of low stem density and 70–100% share of Norway spruce, and beech stands with spruce and fir admixture. All through the observation period, in the stands tested, there were applied standard control measures used in the protection of forests against *I. typographus*, such as setting up pheromone traps as well as identification and felling (debarking) of infested trees before the emergence of young generation.

Field trials on biopreparations containing *B. bassiana* spores were carried out based on the permission granted by the Minister of Agriculture and Rural Development (Decision R-657/2011b). Fungus treatment timings were synchronised with the time of the occurrence of *I. typographus* developmental stages, that is, adults when swarming and channelling out galleries at some point in the vegetation season and afterwards - the stages overwintering in the litter. For the treatments carried out in the years 2011–2012, there was used BoVeril - water soluble granulate preparation (Bioved 2005 Kft., Hungary), containing spores of *B. bassiana* strain Bb1 at the concentration 5×10^8 /1g (vitality min. 65%), promoted by the producer as appropriate for control of the European bark beetle. According to the label, preparation efficacy depends on storage temperature (1 year at 5–10°C or 2 years at 18°C) as well as on air humidity and temperature during the treatment (needed to maintain fungal entomopathogenic activity: 60–70% and 12–26°C, respectively). In 2013, on a limited scale, there was tested biopreparation Boverol (Fytovita, Czech Republic), obtained from the company Fytofarm Ltd. (Slovakia), containing *B. bassiana* spores (strain Bba 138) at the concentration 1×10^7 /g. The label of the latter did not provide information concerning specific application requirements.

In the years 2011–2013, in the stands studied, there were installed 15 pheromone traps (Photo 1), which were modified to allow attracted *I. typographus* specimens getting out to continue their flight after contact with the fungal biopreparation tested. Pheroprax dispensers (BASF) were used as baits and were exchanged just about every 6 weeks.

The effects of *B. bassiana* biopreparation treatments on *I. typographus* population were evaluated every year, through the analysis of an infestation level both in standing Norway spruce dying trees and trap logs. In the years 2011–2012, dying tree infestation was evaluated on three parts of the tree trunk: I - the stem base, II - the middle part between the butt



Photo 1. Pheromone traps containing dry BoVeril for the infection of *I. typographus* beetles: MK-type trap (a), element with fungal preparation (b), Ekotrap-type trap (c)

and the crown and III - under the crown (Grodzki 2007). After tree felling, the tree trunk was divided into sections, their perimeters were measured and the galleries of *I. typographus* and other bark beetles were counted. The assessments were carried out every year, both in the tree stands treated with *B. bassiana* and in the control stands located 13–15 km away (in 2011: forestry management unit 223b in the forest division Romanka Dolna; in 2012: 108f, forest division Korbielów; 2013: 196ab/199, forest division Romanka Dolna). In 2012, a comprehensive assessment of sex ratio was carried out in *I. typographus* population infesting the trees studied (the number of mating chambers was assumed as the number of males and the number of maternal galleries as that of females). There were also assessed: the length of 10 galleries/tree trunk section; bark beetle fecundity (the number of eggs and developing larvae/gallery channelled out by 1 female in the same 10 galleries analysed) and *I. typographus* mortality in galleries due to parasitoids and entomopathogenic fungi.

In the middle of May 2013, both within tested and control stands, there were displayed trap logs (5 m long, pruned Norway spruce logs with no pheromone dispenser attached). In the middle of July 2013, bark beetle infestation levels were analysed on the traps. The assessments were carried out on two log sections (0.5 m far off from log ends) which were debarked on the surface area of $0.5 \text{ m} \times 1/2$ of perimeter length. The number of *I. typographus* galleries was assessed on 1 dm^2 of the bark section.

On 7 July 2011, there were performed direct spray treatments with the use of BoVeril. Within the area of the management unit no. 44 (forest division Koszarawa Bystra), there were felled three Norway spruce trees, then pruned and sprayed

at the rate of 500 g BoVeril/24 l water with the use of a brand new backpack sprayer (Solo 425). Then the logs were covered with fresh spruce branches. Pheromone dispensers (Pheroprax) were attached to each log so as to assure appropriate trap infestation by *I. typographus* beetles. The treatment was performed at air temperature of 19°C and relative air humidity of 65% (data from the weather station Koszarawa Tajch). At the same time, next three tree traps were prepared and displayed outside of the stand, for later treatment after presumed infestation by *I. typographus*. On 26 July 2011, the traps covered with branches were sprayed once again (without removing the branches). This treatment was performed at air temperature of 18°C and relative humidity of 68%, partial cloud cover and light rain sprinkles. There was used 12 l of water solution with 200 g of BoVeril. Bark samples from the logs sprayed before and after infestation were taken on 29 July 2011. The samples were preliminarily evaluated under field conditions, and then placed in the so-called wet chambers (Petri dishes with wetted filter paper) to allow further development of *I. typographus* beetles under laboratory conditions. At the same time, at air temperature of 16.3°C and relative air humidity of 110%, there were sprayed (200 g BoVeril/12 l water) three tree traps (with no pheromone dispenser) earlier displayed and infested. The traps were covered with spruce branches and left outside of the stand until the emergence of next adult generation (fungus dispersion in *I. typographus* population was anticipated).

On 16 May 2013, there were performed Boverol sprays on two displayed tree traps. The treatment was carried out at air temperature 18.3°C and relative air humidity 53%, with the use of Solo 425 sprayer and biopreparation water solu-

tion (500 g/5 l of water). Other two tree traps were dusted with Boverol dry formulation. Pheroprax dispensers were attached to both, sprayed and dusted traps, and then the traps were covered with fresh spruce branches and left until 8 August 2013, when the level of trap colonisation by insects and their developmental stages were assessed.

In the years 2012 and 2013, the infection of *I. typographus* beetles by *B. bassiana* spores was evaluated under semi-natural conditions. In order to do so, nine 0.5 m-long fresh Norway spruce bolts were cut out and suspended in three groups (three bolts/group) on a rope mounted between standing trees. The bolts in each group were covered with muslin sacks (Photo 2a). Into each sack, there were released 50 alive adult *I. typographus* beetles, which were earlier captured (22 May 2012 and 14 June 2013, respectively) within other forest district area, using Pheroprax and muslin screen. In each of the three groups, *I. typographus* adults were released in line with the following pattern: one of three bolts in the group was infested with adults covered with Boverol dry formulation and two remaining bolts - with not contaminated adults. After 3–4 weeks, (on 21 June 2012 and 5 July 2013), biopreparation water solution was injected with a syringe (Photo 2b) into *I. typographus* entrance holes found on the bolts. In each group, syringe treatments were performed on the second of three bolts. The third bolt in each group remained untreated as the control. The bolts stayed suspended until the end of the vegetation season, and then *I. typographus* gallery density and gallery development degree as well a level of bark beetle infection by *B. bassiana* were assessed.

In the fall of 2012, in the stand selected for the treatments, there was established a trial with the aim to determine the effect of *B. bassiana* on *I. typographus* beetles overwintering in the litter. There were selected five Norway spruce stumps (remains of bark beetle infested Norway spruce trees, cut down in the late fall), which were surrounded by bark pieces falling down from the trees due to woodpecker feeding. It was assumed that a number of *I. typographus* adults will leave the bark in order to overwinter in the litter (Onyśko, Starzyk 2011). Emergence traps (ground photo-electors) were displayed in pairs (Photo 3): one on the litter dusted with BoVeril preparation and the second one on the untreated litter (control). Altogether, five pairs of the traps were displayed. The trial was repeated in 2013 (early spring), before *I. typographus* swarming, but this time, the litter was treated with Boverol preparation (dry formulation). The analysis of insects found in the traps was carried out in July 2013.

Weather conditions during the observations carried out in the year 2011 were monitored based on data collected by the meteorological station Koszarawa-Tajch (County Office Żywiec), situated in the neighbourhood of the study area (downloaded from www.traxelektronik.pl). In the years 2012–2013, air temperature and humidity were monitored on site by the authors of the study with the use of TinyTag Extra (in 2012) and Davis Vantage VUE (in 2013) measurement devices.



Photo 2. Suspended spruce bolts for the experiments with direct infection of beetles (a) and the injections of fungal dilution into the *I. typographus* gallery systems (b)



Photo 3. Ground electors for overwintering beetles exposed on the litter in the spring 2013

The evaluation of indirect biopreparation effects was based on the analysis of the intensity of spruce mortality due to *I. typographus* infestation both within the study and control Norway spruce stands. Two forest complexes were selected for the analyses: one with an area of 80.65 ha in the forest division Koszarawa Bystra (management units: 41–44) and one with an area of 92.49 ha in the forest division Sopotnia Potok (management units: 187, 189–191). The stands observed were situated in comparable growth environments (southern exposure, approximately 1000 m a.s.l.). The analysis of data concerned the years 2009–2013, and this period comprised both the years before the trials on *I. typographus* control treatments with the use of *B. bassiana* and the years when the observations were carried out (2009–2010 and 2011–2013, respectively). Data on the volume of felled trees infested by *I. typographus* were obtained from the Forest District Jeleśnia (state forests database – SILP).

Differences between the mean values obtained for the density of bark beetle galleries, length of maternal galleries and offspring numbers in galleries assessed in the treated and control stands were statistically tested using non-parametric Mann-Whitney U test. All calculations were performed using MS Excel and Statistica v. 5.0 (Stat-Soft, Inc. 1997).

3. Results

Weather conditions during observations carried out in the vegetation season

In 2011, in the period when *B. bassiana* treatments against *I. typographus* were carried out (subsequent sprays during tree infestation when fungal infection of insects was expected), local conditions were characteristic of cold and rainy weather, with low (10–12°C) night temperatures and relatively high precipitation (Table 1).

In the following years (2012–2013), weather conditions were comparable (Table 1). At the beginning of May 2012, air temperature fluctuated, and there were occasionally observed quite cool days (slightly above 5°C). In the middle of the month, temperature dropped below 5°C. Short-term warming occurred in the third decade of May, which allowed collecting *I. typographus* adults merely at their late swarming. Later in the season, the weather changed but higher temperatures (up to 31°C) and lack of precipitation were observed only after the middle of

June. At the time when *I. typographus* galleries were established on Norway spruce bolts and during biopreparation syringe injections into adult entrance holes, the weather conditions were fine, with moderate temperature and lack of precipitation.

In the spring of 2013, meteorological conditions changed likewise, and in May and June, there were observed cold and rainy periods (Table 1). This affected the timing and duration of *I. typographus* swarming, which, in turn, caused difficulties in adult collection followed by a delay in establishing the trials planned. The weather changed later in the season, however, with no negative effects on the development of pest offspring in galleries channelled out during good weather conditions (temperatures up to 27°C). At the time of biopreparation syringe injections into experimental Norway spruce bolts, weather conditions were advantageous as well.

Pheromone traps with fungus biopreparation

I. typographus adults were contaminated with *B. bassiana* spores when they were leaving the pheromone traps with fungal biopreparation added. At the same time, too much biopreparation on bark beetle body resulted in death of insects due to the clogging of trachea. In the second and third year of observations, insect mortality due to the latter factor was partially halted through adding a foam element to the traps with biopreparation (Photo 1b). The adults leaving the traps flew away and only a small number of the insects observed fell down and resided in the litter around the traps.

At the end of August 2011, in the stand treated, there were analysed 27 bark sections taken from 9 Norway spruce trees dying due to *I. typographus* infestation. In the control stand, there were analysed 21 bark sections from 7 Norway spruce trees. The results showed that in the stands treated, mean infestation density in dying trees was 1.541 (\pm 0.520 SD)/feeding site on 1 dm², whereas in the control, mean infestation density was 0.497 (\pm 0.289 SD)/dm² (Fig. 1). The differences were statistically significant (M–W U = 16.0; z = 5.56; p < 0.001).

In the stand treated, in Norway spruce bark sections of the size 25 × 25 cm, there were found from 0 to 90 alive *I. typographus* beetles, (on average 15.37 specimens) and from 0 to 90 pupal chambers (on average 16.11). In eight bark sections (30% of the total number of sections analysed), there were also observed dead bark beetle adults - approximately four specimens/section. Among dead *I. typographus* beetles,

Table 1. Air temperature and relative humidity in the area and period of experiments in 2011–2013

Data concerning period:	Air temperature (°C)			Air relative humidity (%)			Date of spraying / dusting
	mean	min.	max.	mean	min.	max.	
5.06.–22.06.2011	17.3	10.1	31.7	76.8	28.7	100.0	7 and 21.06.
1.05.–20.06.2012	12.4	-0.7	31.0	74.7	20.0	100.0	22.05.
1.05.–20.06.2013	12.5	1.9	26.9	81.5	45.0	100.0	16.05. and 14.06.

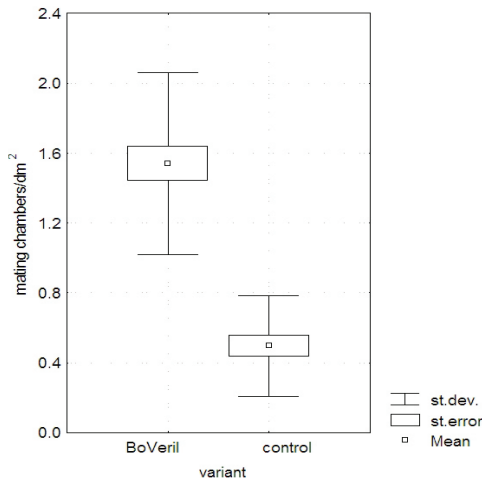


Figure 1. Mean infestation density of spruce stem sections in the subcomp. 43ab/44b (experiment) and 223b (control) in Jeleśnia Forest District in 2011

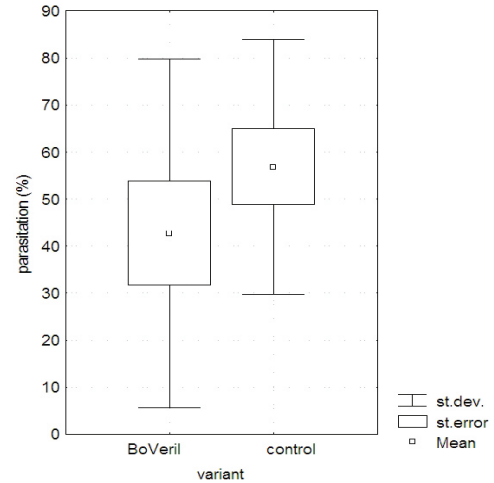


Figure 2. Mean parasitism (%) of *I. typographus* by *Coeloides bostrychorum* in the stem sections of spruces in the subcomp. 43ab/44b (experiment) and 223b (control) in Jeleśnia Forest District in 2011



Photo 4. *Coeloides bostrychorum* cocoons in *I. typographus* galleries found on infested standing trees in the stand subjected to the experiments

there was only one overgrown by fungal mycelium. In 11 (41%) out of 27 bark sections analysed, there were observed cocoons of the parasitoid *Coeloides bostrychorum* (Gir.) (Hym., Braconidae) (Photo 4). A level of *C. bostrychorum* parasitism in *I. typographus* ranged from 10 to 100% in the stand treated. It was, on average, lower than that observed in the control stand (10–90%) (Figure 2). Collected parasitoid pupae in cocoons continued their development and successfully emerged as imagines under laboratory conditions.

In 2012, there were carried out in depth examinations of four dead Norway spruce trees cut down in the vicinity of the pheromone traps with *B. bassiana* spores (management units 43a/44b) and of three control spruce trees (management unit 108f). The results showed higher average density of *I. typographus* galler-

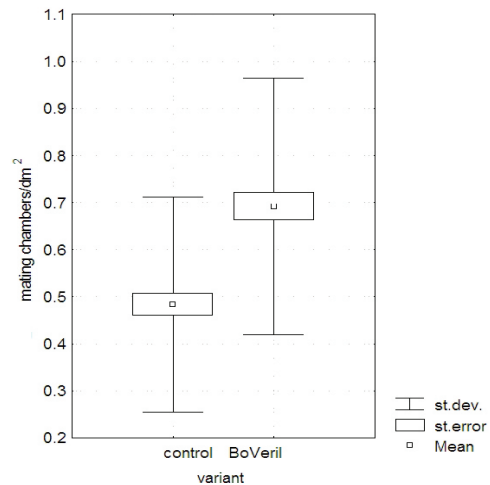


Figure 3. Infestation density by *I. typographus* in the stem sections of standing spruce trees in 2012: control – Korbiew 108f, BoVeril – Koszarawa Bystra 43a/44b

ies in the treated stand ($0.692 \pm \text{SD } 0.272$) than that observed in the control (0.484 ± 0.229). The differences were statistically significant (M–W $U = 1752.0$; $z = -5.97$; $p < 0.001$) (Fig. 3). Maximal gallery density exceeded 12 mating chambers/dm².

The analysis of selected parameters of *I. typographus* galleries showed no statistically significant differences between the length of maternal galleries observed in the stand treated and that in the control stand (7.469 and 7.184 cm, respectively) (Fig. 4a). At the same time, the number of offspring per one female in the control stand was slightly (not significant difference) higher than that in the treated stand: 22.75 and 20.92, respectively (Fig. 4b).

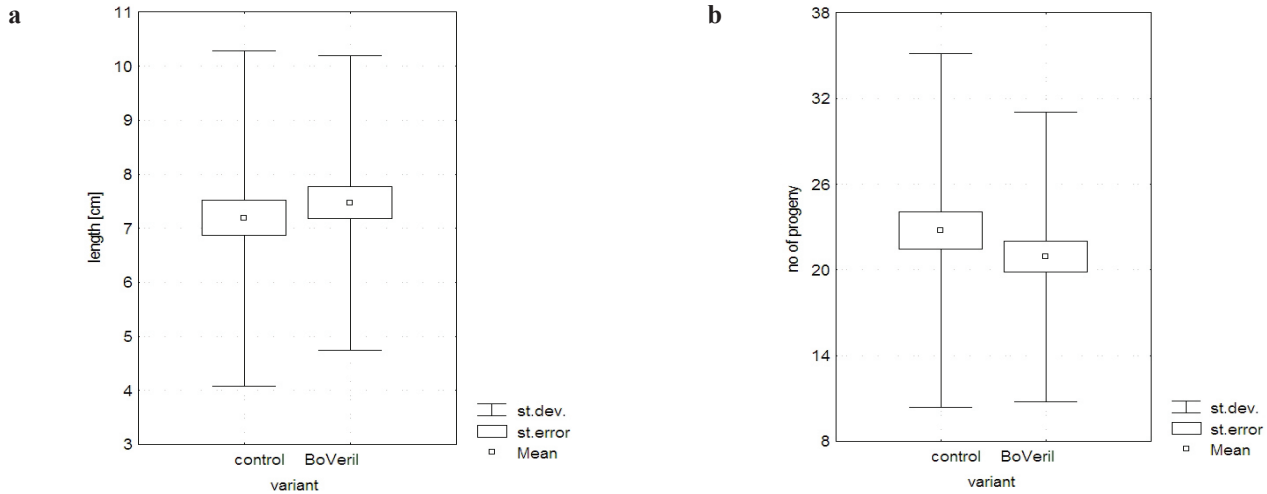


Figure 4. Mean maternal gallery length (a) and number of progeny from individual female (b) in the stands treated by BoVeril (Koszarawa Bystra) and control ones (Korbielów) in 2012

The sex ratio in the population of *I. typographus* infesting dying trees was comparable in the treated and control stands. In both cases, the percentage share of females was to some extent higher than that of males - on average: 61% (ranging from 50–79%) in the treated stand and 62% (56–65%). The galleries with one or two maternal galleries dominated in the treated and control stands (92 and 96%, respectively), whereas the share of galleries with four maternal galleries was maximum 1%.

Apparently, *I. typographus* successfully accomplished all developmental stages since in the galleries observed, there were found pupae and immature yellow adults. No traces of *B. bassiana* infection were found. On the other hand, there was observed high *C. bostrychorum* parasitism level (80%) in the analysed *I. typographus* population. In case of parasitoids, no signs of fungal infections were observed whatsoever.

In August 2013, perfunctory analyses carried out in the treated stands concerned *I. typographus* infestation levels in standing Norway spruce trees. The outcome of surveys confirmed the results obtained in 2011–2012. On relatively small numbers of dying trees, there were observed typical patterns of infestation by *I. typographus*, *I. amitinus* (Eichh.) and *Pityogenes chalcographus* (L.), with the full spectrum of bark beetle development stages (including alive imagines). The presence of parasitoids was recorded along with that of *Thanasimus formicarius* (L.) predatory larvae and Staphylinidae beetles. Then again, no traces of insect fungal infections were found in the feeding sites analysed.

In the summer of 2013, there were also carried out the assessments of *I. typographus* infestation in 40 sections of bark beetle lying trap logs, displayed both in the treated and control stands (10 traps in each). In the treated stand, 10 (50%) out of 20 sections of trap logs were infested by *I. typographus*, and in the control stand - 11 sections (55%). Average density of trap infestation was higher in the control stand ($0.373 \pm \text{SD } 0.588$

galleries/dm²) compared to the Boverol-treated stand (0.207 ± 0.325 galleries/dm²); however, the difference was not statistically significant (Fig. 5). The trap logs were also colonised by *P. chalcographus*, whose feeding signs were observed in 13 (65%) out of 20 analysed trap sections in the treated stand and in 6 (30%) out of 20 trap sections analysed in the control stand. Average density of *P. chalcographus* gallery systems/trap dm² was higher in the control stand compared to the treated stand ($0.504 \pm \text{SD } 0.822$ and $0.407 \pm \text{SD } 0.534$); however, the difference was not statistically significant. In no way, *P. chalcographus* specimens with signs of fungal infection were observed.

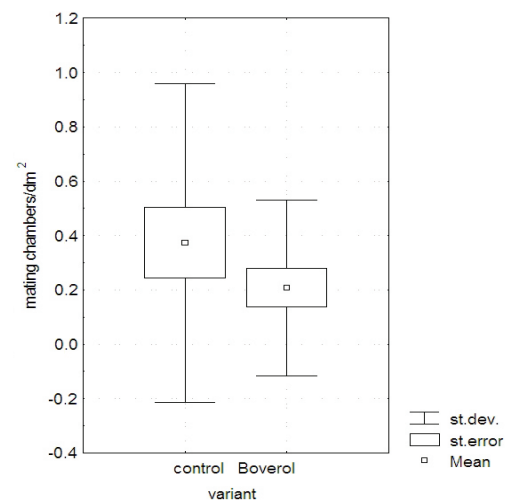


Figure 5. Infestation density by *I. typographus* on lying trap logs in 2013: control - Romanka Dolna 196ab/199a, Boverol - Koszarawa Bystra 43a/f

Evaluation of the effect of direct contamination of *I. typographus* adults with *B. bassiana* spores

In the galleries channelled out in the bark samples collected on 29 July 2011 from the trap logs treated with Boverol biopreparation, there were found healthy *I. typographus* larvae and just only one adult specimen with visible signs of fungal infection (overgrown by white mycelium). Trap logs that were treated with Boverol water solution in May 2013 and examined on 8 August 2013, showed high level of *I. typographus* infestation as well extensive colonisation by *P. chalcographus* (except for upper log parts with dried out phloem tissue). At the same time, there were observed feeding signs of longhorn beetles - *Rhagium* sp. and *Monochamus* sp. No signs of insect fungal infections were observed in bark beetle galleries. Bark beetles feeding on the trap logs must have gone through all developmental stages, since there were observed adult exit holes. In case of *I. typographus*, there were found characteristic signs of adults' maturation feeding, the so-called 'deer horns'. Generally, in *I. typographus* galleries, there were observed alive *T. formicarius* larvae. Similar patterns of insect infestation and colonisation were observed on the trap logs treated with Boverol dust formulation; however, there were found more than a few adult *I. typographus* infected with fungal mycelium (Photo 5), but these constituted just a minute fraction of 1% of the overall population that developed on the tree traps analysed.

In 2012, *I. typographus* infestation was observed in all variants of the trial on suspended Norway spruce bolts. Maternal gallery density ranged from 0.28–0.64/1 dm². The highest mean density was observed in the control treatment (0.52) compared to that in the spruce bolts treated with Boverol solution injected into bark beetle entrance holes (0.48) and dust formulation treatment (0.41); however, this pattern was not observed in every repetition of the experiment (Fig. 6a). Same variability was observed for the numbers of bark beetle exit holes found on the bolts tested (means obtained: 5.46 - control, 4.82 - injection, 4.36 - dust formulation, Fig. 6b). It was found that *I. typographus* went through all developmental stages, completed maturation feeding and produced



Photo 5. *I. typographus* adult penetrated by mycelium

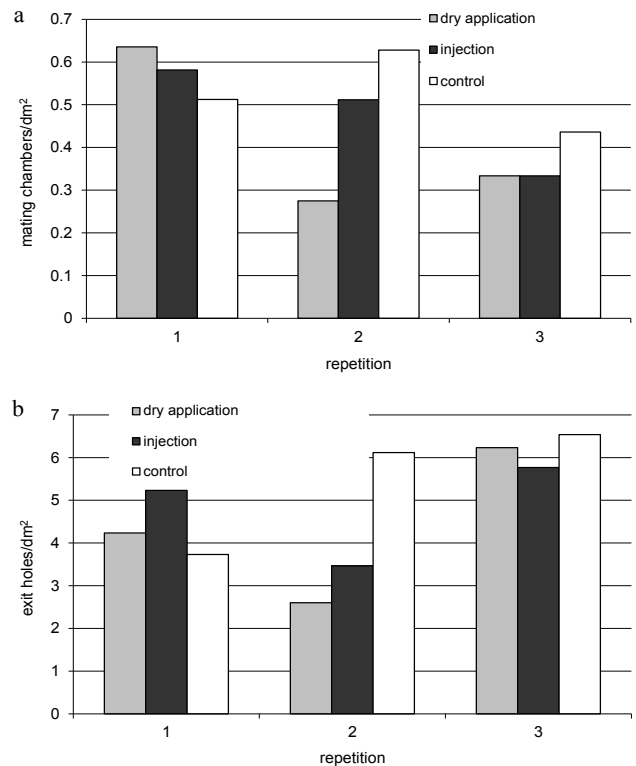


Figure 6. Number of mating chambers (a) and exit holes (b) on 1 dm² of bark area in individual experimental variants and repetitions in 2012

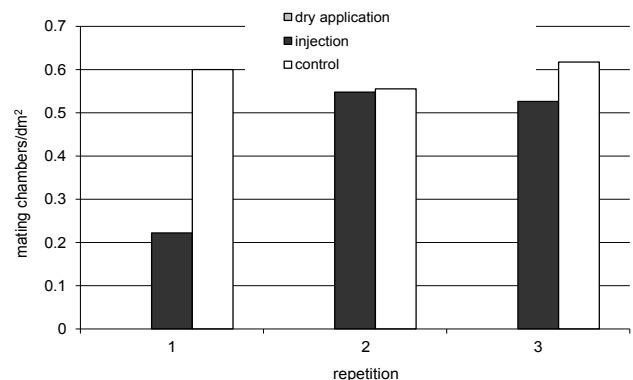


Figure 7. Number of mating chambers on 1 dm² of bark area in individual experimental variants and repetitions in 2013

next generation (in November, there were observed numerous alive adults, the part of which channelled out shallow chambers for overwintering in the bark). No differences in bark beetle development rates were found between the treatments tested.

In 2013, the mean number of maternal galleries on control Norway spruce bolts (0.59) was higher than that in Boverol injection treatment (0.43) (Fig. 7). Then again, this pattern was not observed in all trial repetitions. At the same time, in the spruce

bolts treated with Boverol dust, in two out of three, there were found four entrance holes of males who started to engrave mating chambers (situated close to bolt tips) but died, and no signs of bark beetle infestation was noted on the third bolt. The analysis of larval galleries (established around five randomly chosen maternal galleries/Norway spruce bolt/treatment) showed no larvae development in Boverol dust treatment, and 12–46 or 24–44 larval galleries in Boverol injection and control treatments, respectively.

The trial on overwintering insects in 2011/2012 resulted in collection of altogether 74 insects from five pairs of ground photo-electors (20 specimens in the treatment and 54 in the control) (Table 2).

In the spring of 2013, no insects were found in ground photo-electors.

Accomplishment of forest protection aims - evaluation of Norway spruce mortality due to bark beetle infestation

Dynamics of Norway spruce mortality was analysed based on data on the volume infested by cambiohagous insects trees, harvested in selected forest complexes. According to the forest inventory data, in Koszarawa Bystra forest complex, the stands with 50% Norway spruce share were situated on an area of 42.97 (53% of the total complex area) while in Sopotnia Potok complex - on 82.44 ha (89% of the total area). Irrespective of the differences between the stands in these complexes, the intensity of spruce mortality due to insect infestation was quite similar. In the years 2009–2011, within the area of the two forest complexes jointly, there were annually harvested approximately 15.000 m³ of infested spruce trees (in 2009, more logging was performed in the forest division Sopotnia Potok, and in 2010, in the forest division Koszarawa Bystra). In subsequent years, logging of dying trees gradually decreased, especially in the forest division Koszarawa Bystra (Fig. 8a). For the purpose of comparative analyses done in the present study, data on the volume of logged infested trees within the areas of similar sizes of selected management units were standardised,

Table 2. Number of insects found in ground eclectors exposed on litter for 2011/2012 winter

Taxon	Experimental variant	Control variant
<i>Ips typographus</i> (L.)	3	8
<i>Orthotomicus laricis</i> (Fabr.)	1	1
<i>Dryocoetes autographus</i> (Ratz.)	1	6
<i>Pityophthorus pityographus</i> (Ratz.)	-	2
<i>Hylastes</i> spp.	-	8
<i>Otiorrhynchus</i> sp.	2	1
Curculionidae (others)	5	-
<i>Tetropium castaneum</i> (L.)	3	-
<i>Oxymirus cursor</i> (L.)	-	1
<i>Glischrochilus quadripunctatus</i> (L.)	-	1
<i>Rhizophagus</i> spp.	1	19
<i>Notiophilus biguttatus</i> (Fabr.)	-	1
Elateridae	4	6
Total	20	54

and the values per 1 ha were used in the analysis (Fig. 8b). In the years 2009–2010, the intensity of spruce mortality was high in both forest complexes analysed, and ranged from 10 m³ to more than 20 m³ per ha. In 2009, in the stand situated in the forest division Sopotnia Potok (later selected as the control for the trials with *B. bassiana* treatments against *I. typographus*), the number of dying trees was almost twice higher than that in the forest division Koszarawa Bystra (later treated stands). In 2010, the intensity of spruce mortality was higher in Koszarawa Bystra forest complex (Fig. 8b). In the following years (2011–2012), that is, during the period of observations carried out in the framework of the present study, the intensity of spruce mortality visibly decreased in Koszarawa Bystra and considerably increased in Sopotnia Potok. Available data allow assuming that the pattern continued also in the year 2013.

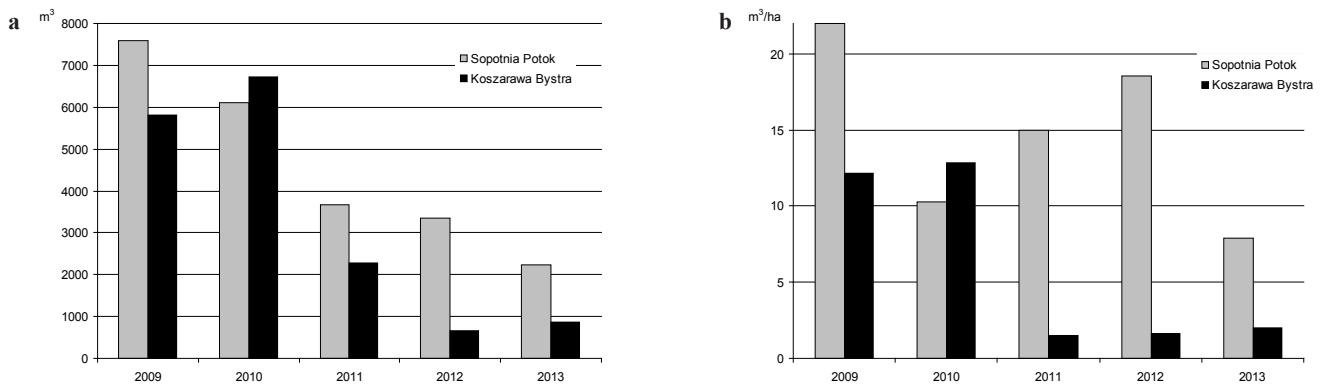


Figure 8. Volume of trees infested by bark beetles in Koszarawa Bystra (experiments in 2011–2013) and Sopotnia Potok (control) in 2009–2013: in total (a) and per 1 ha (b)

4. Discussion

The results of the field study on application of biopreparations containing spores of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* carried out during three subsequent vegetation seasons showed no transmission of the fungus into bark beetle population infesting Norway spruce trees. Also, no bark beetle mortality due to fungal infections was observed. The results obtained were quite surprising, since at least partial pest control was anticipated, based on up-to-date knowledge on entomopathogenic activity of *B. bassiana* against *I. typographus*, which has been confirmed by numerous laboratory as well as field trials. On the other hand, however, thus far, studies of *B. bassiana* and *I. typographus* relationships have not provided any sound basis for elaboration of pest control method useful in forestry practice.

Bałazy (1962) isolated *B. bassiana* from dead adult specimens of numerous insect species, including bark beetles occurring on Norway spruce. Among others, these were: *I. typographus*, *I. amitinus*, *P. chalcographus*, *Pityophthorus pityographus* (Ratz.), *Polygraphus poligraphus* (L.) as well as hymenopteran parasitoid *Rhopalophorus clavicornis* (Wesm.). The results of such studies indicated a possibility that artificial applications of biopreparation with *B. bassiana* spores should instigate fungal infections in numerous cambiphagous insects feeding on Norway spruce, as well as in parasitoid insects; however, this was not the case in the present study. Regardless of the treatment tested, both bark beetles observed as well as their parasitoids completed their development and produced new generations, whereas observed mortality due to the fungus tested was of no practical consequence.

Even though entomopathogenic activity of *B. bassiana* against *I. typographus* have been already confirmed many times under laboratory conditions, and bark beetle mortality observed in closed cultures was considerably high (Wegensteiner 1996; Kreutz et al. 2004a), fungal infections of *I. typographus* imagines, larvae and pupae (especially) occurred seldom under natural conditions. Also, insect mortality due to the infections only sometimes exceeded 3% of a given population (Bałazy 1966, 1968; Bałazy et al. 1967). Higher mortality was observed in young bark beetle generation at the time of maturation feeding or flying out, and especially in the populations overwintering in this developmental stage (Bałazy 2013). The results of the trials with the use of photo-electors situated in the litter (carried out at the turn of 2011 and 2012) confirmed the above to some degree. In the control treatment, there was found more than 2.5-fold higher number of bark beetles when compared to that observed in the treatment with fungal biopreparation onto the litter. This result can indicate biopreparation effectiveness against numerous beetle species (also predatory) overwintering in the litter, which could probably be due to better environmental conditions in the litter for the development of the fungus.

Bałazy (2013) calls attention to one case of very high (17%) proportion of *B. bassiana* infections in *I. typographus* population overwintering in dead trees. The results indicated higher

effectiveness of the fungus against overwintering pest population, and this was somewhat confirmed by the result of the present study - in the trial on application of dust formulation of *B. bassiana* biopreparation. However, the results then obtained were difficult to interpret due to small numbers of insects available for collection in the first year of the study and total lack of insects in photo-electors observed next year. Then again, low insect numbers or lack of insects in photo-electors could be caused by trap location in the site with not many overwintering insects, which is quite possible in natural environment. Nonetheless, the results obtained showed no selectivity of biopreparation with regard to species from various systematic as well as functional insect groups.

Kreutz et al. (2001, 2004b) investigated the effects of artificially initiated fungal infections of *I. typographus* adults with the use of modified pheromone traps. The authors achieved transmission of the fungus into bark beetle galleries and observed a high degree of fungal infections. At the same time, a decreased intensity of bark beetle infestation as well as reduced length of galleries was observed. The trials were carried out under natural conditions, however, the cages with observed bark beetle prevented dispersal of the population tested, and therefore, the trial was actually carried out under somewhat controlled conditions. Under the conditions of the cages, there was possible to obtain almost 100% insect mortality (Kreutz et al. 2000), as well as fecundity reduction ranging from 23 to 29% (Vaupel, Zimmermann 1996). Under natural conditions of the present study, none of the aforesaid effects were observed, most probably due to the fact that dispersal of infected bark beetles did not allow to further investigate true effects of fungal biopreparation applied. On the other hand, there was observed considerably high (80%) level of parasitism in *I. typographus* population tested, which was mainly attacked by *Coeloides bostrychorum*. The latter showed no signs of fungal infections as well. The numbers of oviposited by the bark beetle eggs and that of its larvae were not lower than in the control stands, and eventual reduction might probably be connected with high gallery density in *I. typographus* infested trees situated in not treated stands (consequently, with some competition mechanism). What is more, no reduction of *I. typographus* fecundity was observed in the trial on muslin covered Norway spruce bolts, in which case infected and not infected *I. typographus* populations were separated. It is possible that the results obtained were due to relatively low resistance of biopreparation to environmental factors (high temperature, inadequate humidity), although during application, proceeding in line with the guidelines on biopreparation label was ensured.

According to Zimmermann (2007), under laboratory conditions, the optimal temperature for *B. bassiana* growth is 23–28°C. The minimum temperature ranges from 5 to 10°C, and maximum from 30 to 38°C. At 50°C, fungus spores die in 10 minutes. Application of *B. bassiana* biopreparation to control the Colorado beetle gave no effects at temperature almost 45°C as fungus spores failed to germinate under such conditions (Sosnowska 2005). Average temperature of approximately 24°C was sufficient to obtain

high entomopathogenic effectiveness of *B. bassiana*; however, temperature decrease to 19°C resulted in reduction of fungus effectiveness (Martin et al. 1999). It is a common knowledge that Boverol preparation retains its characteristics even under the conditions of high temperature and low humidity for the period of 3 months (Kreutz et al. 2001). According to the label, BoVeril preparation is active at soil temperature ranging from 12°C to 26°C. Under conditions of the present study, relatively low air temperatures during the treatments had probably no effect on biopreparation activity. Cool weather with relatively little sunlight is beneficial for survival of *B. bassiana* spores, thus the treatments should be generally carried out on cool and cloudy days (personal communication with the producer of biopreparation). Precipitation is an important factor decreasing biopreparation efficacy due to rinsing off from the surfaces of treated objects (for example, displayed bark beetle trap logs). Cold and rainy weather restrains insect swarming, and probably that is why pheromone trap efficiency observed in this study was relatively low. However, in all the years of observations, later in the vegetation season, air temperature raised to 21°C and more, which was sufficient for *B. bassiana* spore germination. It is worth pointing out that the temperature of trap logs used in the trials was higher (temperature and humidity of tree bark and phloem are usually higher when compared to those of surrounding environment), thus it can be assumed that the conditions for germination of *B. bassiana* spores on treated logs were comparable to those determined as optimal for development of this fungus.

The results of the study of Bałazy (1962) carried out on *I. typographus* beetles treated with *B. bassiana* spore powder under field conditions, showed mortality of treated adult in galleries as a result of fungal infection. No fungus transmission was observed on *I. typographus* eggs or larvae. Very low transmission of the fungus from *I. typographus* parental generation toward young population was observed by Vaupel and Zimmermann (1996). These authors reported 23%–29% bark beetle mortality in *I. typographus* adults treated with Boverol and then placed onto the bark of fresh spruce bolts. Similar experiments carried out in the present study, showed no expected results. *B. bassiana* infected *I. typographus* adults (dusted with BoVeril dry formulation) not only stayed alive, but they normally went through all developmental stages in channelled out galleries with comparable parameters as those observed in the control. Only in one case (in 2013), *I. typographus* treated with dry formulation of Boverol did not establish galleries. Most probably, dusted bark beetles died due to the clogging of trachea with fungus spore powder. The differences between the effects of BoVeril and Boverol may be due to dissimilar formulation consistencies in the two biopreparations.

Spraying Norway spruce bolts with water suspension of Boverol and BoVeril performed both before and after *I. typographus* infestation also showed no expected results. Neither increased mortality nor decreased fecundity were observed, and in the galleries channelled out, there were found only individual adult specimens overgrown by *B. bassiana* mycelium. On the other hand, earlier attempts to control bark beetles with the fungus also showed

no spectacular results. Cichońska and Świeżyńska (1993) observed very low (1.7%) proportion of bark beetles infected by *B. bassiana* when testing Norway spruce bolts treated before *I. typographus* infestation. Jakuš and Blaženec (2011), treated cut down trees that were infested by bark beetles and reported 29% fungal infection in pest population observed. On the other hand, however, the authors provided no clear information on either the size of investigated sample or calculation mode, hence it is difficult to judge the real effect of the treatment applied in their study.

In view of the present study, the only positive effect of biopreparation treatments was the reduction of the intensity of spruce mortality due to *I. typographus* infestation. In general, all through the whole area of the Forest District Jeleśnia (selected for the trials), there was observed a decreasing trend in the mortality of infested trees (Grodzki 2013). Nonetheless, in the forest divisions Koszarawa Bystra and Sopotnia Potok (showing similar extents of bark beetle infestations in the years preceding the trials), there was evidently observed impediment of spruce mortality rate in the region of biopreparation treatments. The difference was even more explicit, when there were compared the treated and control stands growing in comparable environmental conditions (similar a.s.l. and slope exposure), which showed analogous extents of spruce mortality in the years preceding the trials. The control stands were situated not far from the nature reserve Romanka excluded from forest protection activities, therefore, one could suppose that this area could be more threatened to *I. typographus* attacks. Nevertheless, both control and treated stands showed similar bark beetle infestation level before the trials, and after artificial introduction of *B. bassiana* biopreparation, there was observed a considerable decrease in spruce mortality in the stands treated compared to those untreated. Taking into consideration forest protection goals, positive effects of *B. bassiana* treatments combined with other forest protection methods (as done in this study in the area of the forest division Koszarawa Bystra) was obtained by Vakula et al. (2012). However, it seems that the results obtained so far have shown no coherent proof for the effectiveness of *B. bassiana* biopreparation in bark beetle control that could support promotion of using the fungus in the protection of Norway spruce stands against *I. typographus* and associated cambiofagous insects.

Sosnowska (2013) points out that using parasitic fungi in plant protection practice is often hardly effective given that the success of biological control relies upon still poorly understood mechanisms involved in relationships among the parasite, its host and environment. Nevertheless, under natural conditions, entomopathogenic fungi play an important role in regulating population numbers of numerous pests. Karg and Bałazy (2009) believe that forests enhance the development of fungi associated with insects. The authors emphasise that compared to agro-ecosystems, forests are more than two-fold richer in entomopathogenic fungi with high potential to decrease insect pest populations with no anthropogenic intervention.

When undertaking the trials presented in this study, it was assumed that the results obtained would allow to elaborate

guidelines for forestry practice with regard to possibilities of application of the entomopathogenic fungus *B. bassiana* in forest protection, especially against cambio-phagous insects in Norway spruce stands, where protection means are limited due to protective functions of forests. Although indirect effects of *B. bassiana* treatments were observed (less pest infested trees compared to the control), the results of 3-year study showed not sufficient enough evidence to recommend *B. bassiana* biopreparations for integration with other pest control methods used in Norway spruce stands susceptible to *I. typographus* and other insects associated with this species. The results obtained are important in view of the attempts made by the producers of *B. bassiana* biopreparations to introduce their products into pest control practice in Poland's forests. Based on the results of this study, it can only be pronounced that biopreparations based on *B. bassiana* continue to remain a 'promising prospect'. Further research under the conditions of forest environment is needed to better understand the relationships between the parasitic fungi, insect pests and host plants, as well as the effects of natural environment on efficacy of treatments with the use of entomopathogenic fungi. Only then, an appropriate strategy on the use of relevant biopreparations in control of populations of forest insect pests could be developed.

5. Conclusions

1. The results of 3-year-long study on the use of biopreparations with spores of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* under conditions of managed forests showed no satisfactory outcome in terms of control of bark beetle populations on Norway spruce.

2. *I. typographus* adults observed on Norway spruce log traps treated with *B. bassiana* biopreparation spray or dust (before and after infestation by bark beetles), as a general rule successfully completed their development or else were parasitised by hymenopterans (especially *Coeloides bostrychorum*), which also smoothly accomplished all developmental stages.

3. *I. typographus* adults captured in pheromone traps containing biopreparation dry formulation were contaminated with fungus spores; however, too much of powder on the body caused insect death owing to the clogging of trachea (not fungus entomopathogenic activity).

4. No traces of fungus transmission to *I. typographus* galleries was observed in treated and infested trees. Bark beetles overgrown by fungus mycelium were hardly ever found on Norway spruce log traps or adjacent infested standing trees.

5. Limited entomopathogenic effects of *B. bassiana* biopreparation on cambio- and xylophages overwintering in the litter were detected.

6. No *B. bassiana* biopreparation effects were observed as a result of direct contamination of *I. typographus* adults with the fungus either before or after establishing galleries. There was also not observed any influence of the treatment on bark beetle development and fecundity.

7. In view of the protection of forest against insect pests,

indirect effects of *B. bassiana* treatments were observed. Mortality of infested spruces was decreased in the treated stands compared to those untreated. On the other hand, in all the stands, there were performed standard activities on forest protection against cambio-phagous insects.

8. The method of control of *I. typographus* population based on *B. bassiana* treatments should be further tested, also in consideration of the effect on non-target insects associated with bark beetle populations. At this stage, there is no sound basis for recommendation of *B. bassiana* biopreparations for application in the protection of Norway spruce stands against *I. typographus* and related forest insect species.

Conflict of interest

None declared.

Acknowledgement and financial support

The study was carried out in the years 2011–2013 within the framework of the grant BLP-373 financed by General Directorate of the State Forests in Warsaw.

The authors would like to heartily thank the employees of the Forest District Jeleśnia for the provision of information from SILP database as well as their support in field works.

References

- Bałaży S. 1962. Obserwacje nad występowaniem niektórych grzybów owadobójczych z grupy *Fungi Imperfecti* na owadach leśnych. *Polskie Pismo Entomologiczne Seria B, Entomologia Stosowana* 2–3 (27–28): 149–164.
- Bałaży S. 1966. Organizmy żywe jako regulatory liczebności populacji korników w drzewostanach świerkowych ze szczególnym uwzględnieniem owadobójczych grzybów. I. *Prace Komisji Nauk Rolniczych i Leśnych Poznańskiego Towarzystwa Przyjaciół Nauk XXI*, 1: 3–50.
- Bałaży S. 1968. Analysis of bark beetle mortality in spruce forests in Poland. *Ekologia Polska (A)* 16(33): 657–687.
- Bałaży S. 2012. Antagonistyczne oddziaływania pomiędzy bezkręgowcami a ich patogenami grzybowymi w żerowiskach kamio- i ksylofagów, in: A. Mazur (ed.) *Ochrona lasu – wybrane problemy historyczne i współczesne*. Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu: 51–63. ISBN 978-83-7160-669-4.
- Bałaży S. 2013. Organizmy entomopatogeniczne, in: W. Grodzki (ed.) *Kornik drukarz *Ips typographus* (L.) i jego rola w ekosystemach leśnych*. Centrum Informacyjne Lasów Państwowych, Warszawa: 46–49. ISBN 978-83-63895-08-2.
- Bałaży S., Bargielski J., Ziółkowski G., Czerwińska C. 1967. Śmiertelność dorosłych chrząszczy kornika drukarza – *Ips typographus* (L.) (Col., Scolytidae) w żerowiskach i jej przyczyny. *Polskie Pismo Entomologiczne* 37(1): 201–205.
- Cichońska A., Świeżyńska H. 1993. Próby zastosowania biopreparatów grzybowych do ograniczania liczebności populacji niektórych szkodliwych owadów leśnych [Trials of application of fungal biopreparations for reducing the population density of some forest pests]. *Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa* 761–769: 137–144.

- Głowacka B., Świeżyńska H. 1993. Grzyby owadobójcze występujące na owadach leśnych [Fungi occurring on forest insects]. *Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa* 761–769: 117–136.
- Grodzki W. 2007. Wykorzystanie pułapek feromonowych do monitoringu populacji kornika drukarza w wybranych parkach narodowych w Karpatach. *Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa, Rozprawy i Monografie* 8: 1–127. ISBN 978-83-87647-69-8.
- Grodzki W. 2010. The decline of Norway spruce *Picea abies* (L.) Karst. stands in Beskid Śląski and Żywiecki: theoretical concept and reality. *Beskydy* 3(1): 19–26.
- Grodzki W. 2013. Zagrożenie lasów górskich i podgórskich, in: Krótkoterminowa prognoza występowania ważniejszych szkodników i chorób infekcyjnych drzew leśnych w Polsce w 2012 roku. *Instytut Badawczy Leśnictwa, Analizy i Raporty* 20: 124–137. ISBN 978-83-62830-16-9.
- Jakuš R., Blaženec M. 2011. Treatment of bark beetle attacked trees with entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Folia Forestalia Polonica, Series A – Forestry*, 53(2): 150–155.
- Karg J., Bałazy S. 2009. Wpływ struktury krajobrazu na występowanie agrofagów i ich antagonistów w uprawach rolniczych. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 49(3): 1015–1034.
- Karpiński J.J. 1935. Przyczyny ograniczające rozmnażanie się korników drukarza (*Ips typographus* L. i *Ips duplicatus* Sahlb.) w lesie pierwotnym. *Instytut Badawczy Lasów Państwowych Warszawa, Seria A Rozprawy i Sprawozdania* 15: 1–65.
- Kreutz J., Vaupel O., Zimmermann G. 2004a. 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(6): 384–389. DOI: 10.1111/j.1439-0418.2004.00813.384–389.
- Kreutz J., Zimmermann G., Marohn H., Vaupel O., Mosbacher G. 2000. Preliminary investigations on the use of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and other control methods against the bark beetle *Ips typographus* L. (Col., Scolytidae) in the field. *Bulletin OILB/SROP* 23(2): 167–173. ISBN 92-9067-119-X.
- Kreutz J., Zimmermann G., Marohn H., Vaupel O., Mosbacher G. 2001. Freilandversuche zum Einsatz von *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. zur biologischen Bekämpfung des Buchdruckers *Ips typographus* L. (Col., Scolytidae). *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie* 13: 465–470.
- Kreutz J., Zimmermann G., Vaupel O. 2004b. Horizontal transmission of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* among the spruce bark beetle, *Ips typographus* (Col., Scolytidae) in the laboratory and under field conditions. *Biocontrol Science and Technology* 14(8): 837–848. DOI: 10.1080/788222844.
- Kunca A., Vakula J., Leontovych R., Gubka A. 2009. Využitie entomopatogénnej huby *Beauveria bassiana* v ochrane smreka, in: A. Kunca (ed.) Aktuálne problémy v ochrane lesa. Národné lešnické centrum Zvolen: 91–97. ISBN 978-80-8093-081-3.
- Landa Z., Kalista M., Křenová Z., Vojtěch O. 2008. Praktické využití entomopatogenní houby *Beauveria bassiana* proti lýkožroutu smrkovému *Ips typographus*, in: O. Vojtěch, P. Šustr (eds.) Ekologické metody ochrany lesa před podkorním hmyzem. Sborník referátů ze semináře, Sborníky z výzkumu na Šumavě - sešit 1. Správa NP a CHKO Šumava, Vimperk: 62–71.
- Landa Z., Křenová Z., Vojtěch O. 2007. Využití houby *Beauveria bassiana* v ochraně proti lýkožroutu smrkovému. *Lesnická práce* 10: 14–15.
- Markova G. 2000. Pathogenicity of several entomogenous fungi to some of the most serious forest insect pests in Europe. *Bulletin OILB/SROP* 23(2): 231–239. ISBN 92-9067-119-X.
- Markova G., Samshinyakova A. 1990. Laboratory studies on the effect of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on larvae of *Lymantria dispar*. *Nauka za Gorata* 27(1): 81–84.
- Martin P.A.W., Schroder R.F.W., Poprawski T.J., Lipa J.J., Sosnowska D., Hausvater E., Rasocha V. 1999. The effect of high temperatures on the susceptibility of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) to *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin in Poland, the Czech Republic and the United States. *Vědecké práce, Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod*, 13: 69–77.
- Onyško Z., Starzyk J.R. 2011. Przestrzenne rozmieszczenie zimujących chrząszczy kornika drukarza (*I. typographus* L.) i kornika zrosłożebnego (*I. duplicatus* C. R. Sahlb.). *Sylwan* 155(1): 21–30.
- Sierpińska A., Grodzki W. 2012. Badania nad wykorzystaniem *Bacillus thuringiensis* i entomopatogennych grzybów w ochronie lasu, in: I. Skrzecz, A. Sierpińska (eds.) Kierunki rozwoju patologii owadów w Polsce. Instytut Badawczy Leśnictwa, Sękocin Stary: 144–155. ISBN 978-83-62830-11-4.
- Sosnowska D. 2005. Biopreparaty grzybowe w biologicznym zwalczaniu upraw szklarniowych i polowych. *Postępy Nauk Rolniczych* 5: 17–27.
- Sosnowska D. 2013. Postępy w badaniach i wykorzystanie grzybów pasożytniczych w integrowanej ochronie roślin. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 53(4): 747–750.
- Vakula J., Gubka A., Galko J., Varkonda Š. 2012. Aplikácia entomopatogénov do populácii škodcov s využitím feromónových lapačov, in: A. Kunca (ed.) Aktuálne problémy v ochrane lesa. Národné lešnické centrum Zvolen: 92–96. ISBN 978-80-8093-161-2.
- Vakula J., Varkonda Š., Galko J., Gubka A., Kunca A., Zúbrík M. 2010. Rozvoj súčasných technických možností pri štúdiu niektorých spôsobov aplikácie entomopatogénnej huby *Beauveria bassiana* v rámci biologických metód ochrany lesa, in: A. Kunca (ed.) Aktuálne problémy v ochrane lesa. Národné lešnické centrum Zvolen: 64–68. ISBN 978-80-8093-108-7.
- Vaupel O., Zimmermann G. 1996. Orientierende Versuche zur Kombination von Pheromonfallen mit dem insektenpathogenen Pilz *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. gegen die Borkenkäferart *Ips typographus* L. *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz* 69(8): 175–179.
- Wegensteiner R. 1992. Untersuchungen zur Wirkung von *Beauveria*-Arten auf *Ips typographus* (Col., Scolytidae). *Bulletin OILB/SROP* 8(1-3): 104–106.
- Wegensteiner R. 1996. Laboratory evaluation of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the bark beetle, *Ips typographus* (L.) (Coleoptera, Scolytidae). *Bulletin OILB/SROP* 19(9): 186–189.
- Zimmermann G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology* 17: 553–596. DOI:10.1080/09583150701309006.

Authors' contribution

W.G. – research concept, preparation of methodology, fieldwork, data treatment, manuscript preparation. M.K. – fieldwork, modification of traps and ground photo-electors, data collection.