

Milan Pernek¹, Boris Liović, Dinka Matošević

PATOGENI ŠUMSKIH ŠTETNIKA - ZNAČAJ I BUDUĆNOST U ZAŠTITI ŠUMA

PATHOGENS OF FOREST PESTS – THEIR IMPORTANCE AND FUTURE IN FOREST PROTECTION

SAŽETAK

U radu je dan kratak pregled razvoja patologije kukaca s težištem na patogenima šumskih štetnika, aktualnim problemima primjene i smjernicama za budućnost. Također su prikazane najznačajnije skupine entomopatogena sa stajališta mogućnosti njihove primjene u šumarstvu.

Iako je primjena bioloških sredstava protiv štetnika poželjna, problem njihova etabliranja još su uvijek vrlo visoka cijena, teškoće u registraciji preparata i nepostojanost u atmosferskim uvjetima. Također su manjkava istraživanja na tom polju tako da su spoznaje o prisutnosti i potencijalima entomopatogenih mikroorganizama nedovoljne. Zbog navedenog i činjenice da autohtoni patogeni u biološkom suzbijanju štetnika daju najbolje rezultate, prvi je korak u znanosti identifikacija patogena mogućih antagonista ciljanih kukaca i istraživanje njihovih potencijala. U Hrvatskoj su prva istraživanja obavljena na potkornjacima roda *Pityokteines* i *Tomicus*.

Ključne riječi: šumski štetnici, entomopatogeni, virusi, bakterije, gljive, protozoe

UVOD

INTRODUCTION

Posljednjih nekoliko godina u uvjetima klimatskih promjena značaj štetnika kao nepovoljnog čimbenika u gospodarenju šumama raste. Šumarska operativa u Hrvatskoj također se susreće s većim problemima; primjerice, jelovim potkornjacima ili gotovo već zaboravljenim defolijacijama gubara (podaci Dijagnozno-pro-

¹ Šumarski institut, Jastrebarsko, Cvjetno naselje 41, 10450 Jastrebarsko

gnozne službe Šumarskog instituta Jastrebarsko). Istodobno raste potreba čovječanstva za čistim okolišem te se sužuje prostor primjene pesticida, naročito onih koje se svrstavaju u „kemijske“.

Šumarstvo kao gospodarska grana proizvodnjom se okreće prema svjetskom tržištu na kojem je opstanak, između ostaloga, uvjetovan certificiranjem šuma. Dio šuma u Hrvatskoj je stekao FSC* certifikat čiji se uvjeti stalno kontroliraju i provjeravaju. U novoj reviziji smjernica za primjenu pesticida dodatno se postrožuju mjere tako da su neka sredstva koja su se dosad smatrala ekološki povoljnijima našla na listama zabrana primjene (primjerice, neki inhibitori sinteze hitina gusjenica leptira).

Sve to upućuje šumarstvo u području zaštite šuma na dvije osnovne strategije u budućnosti: više ulaganja u preventivne mjere i primjenu bioloških sredstava u kurativi. Ova posljednja se odnosi na suzbijanje štetnih organizama primjenom živih prirodnih neprijatelja, antagonista i konkurenata, njihovih produkata te drugih organizama koji se mogu sami razmnožavati (prema Zakonu o biljnom zdravlju NN 75/2005). U tome vrlo važnu ulogu imaju entomopatogeni, s obzirom na to da su najčešće djelatna tvar u biopesticidima.

U ovom radu prikazane su najznačajnije skupine entomopatogena, njihovi potencijali te je dan kratak pregled razvoja patologije kukaca s težištem na šumskim štetnicima, aktualnim problemima primjene te smjernicama za budućnost.

POVIJESNI RAZVOJ PATOLOGIJE KUKACA

HISTORY OF INSECT PATHOLOGY

Još 2700 g. prije nove ere, u Kini su zabilježene bolesti dudovog svilca (*Bombyx mori* L.). Nakon toga prošla su stoljeća u kojima su se sa znanstvenog stajališta spominjale tek bolesti pčela. Godina 1830. označila je početak znanosti o patologiji kukaca, kada je Agostino Bassi demonstrirao kako jedan mikroorganizam uzrokuje bolest dudovog svilca. Inokulacijom patogena, gusjenica je ubrzo uginula te je bila prekrivena nepoznatom bijelom tvari. Radilo se o miceliju gljive, kasnije nazvane *Beauveria bassiana* Vuill.

Louis Pasteur uočio je potencijal mikroorganizama za kontrolu kukaca te razradio metodu razabiranja zdravih od bolesnih gusjenica dudovog svilca napadnutih protozoama.

Razvoj patologija kukaca kao znanstvene grane povezano je s napretkom mikrobiologije u 20. stoljeću. Dobiva na značaju osobito nakon uspješne aplikacije biološkog agensa na bazi bakterije *Bacillus thuringiensis* Berl., koja je izolirana davne 1915. godine.

Kaya i Tanada (1993) naglašavaju kako je temelj kod razvoja patogena kao preparata za kontrolu štetnika dobro poznavanje biologije, ekologije, patogenosti

* Forest Stewardship Council A.C., Bonn.

i virulentnosti patogena, a istovremeno i dobro poznavanje biologije i ekologije domaćina.

Prvu praktičnu primjenu bioloških preparata u Hrvatskoj imala je bakterija *B. thuringiensis*, koja je 1960. godine uspješno korištena protiv borova četnjaka *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepidoptera, Thaumetopoidea) (Harapin 1991). Kasnije je pokusno primijenjena i protiv gubara (*Lymantria dispar* L., Lepidoptera, Lymantriidae) (Andrić 1965).

Najznačajniji patogeni kukaca su virusi, rikecije, bakterije, protozoe i gljive koje se ukratko opisuju u nastavku. Kako su nematode, makroorganizmi nisu obuhvaćene u ovom radu.

VIRUSI

VIRUSES

Virusi su submikroskopski obligatni, intercelularni patogeni. Iako se nekada mislilo kako su pojedini virusi vrlo specifični za domaćine, danas je općenito poznato kako ista vrsta može biti patogena na kukcima različitih redova. Poznato je da 90% virusa pronađenih u kukcima imaju uklopljeno tijelo koje je vidljivo pod svjetlosnim mikroskopom i kojim se klasificiraju u tri skupine: NPV (*nuclear polyhedrosis*), CPV (*cytoplasmic polyhedrosis*) i GV (*granulosis*). Ostali to nemaju te su vidljivi samo elektronskim mikroskopom.

Virusi u domaćina ulaze digestivnim traktom, a transovariolni prijenos čini izuzetak. Napad virusa uočljiv je morfološkim i fiziološkim simptomima te specifičnim promjenama ponašanja. Gusjenice nekih vrsta leptira (Lepidoptera), primjerice, napadnute NPV-om, odlaze na vrh stabla gdje mlohavo leže ili vise ("vrškovanje" kod gubara (Kovačević 1956)). U nekoliko europskih zemalja i SAD-u postoje registrirani preparati na bazi virusa protiv štetnih gusjenica leptira. U potkornjacima su opisani CPV virusi nazvani EPV- entomopoxvirusi (Weiser i Wengensteiner 1994) u smrekinom pisaru (Slika 1).

BAKTERIJE

BACTERIA

Rikecije asocirane s kukcima žive intercelularno, epitelularno ili ekstracelularno. Ti mikroorganizmi imaju vrlo široki krug domaćina u koje spada i čovjek. Granaju se u dva razreda: Rickettsiales i Chlamydiales, gdje su samo prve opisane mogući patogeni na kukcima.

Bakterije su najčešće asocirani mikroorganizmi s kukcima. Zbog svoje ubikvitne prirode mogu biti simbiotički, saprofitički i patogeni. U kukcima uvijek dolaze kao jednostanični organizmi. U većini slučajeva napad na kukce počinje preko probavnog trakta, odakle se bakterije šire u hemolimfu. Kukci tada inicijalno rea-

giraju prestankom hranjenja i paralizom tkiva, kasnije imaju usporene pokrete, gube koordinaciju i u konačnici se ukoče i ugibaju.

Bakterije iz roda *Bacillus* ulaze kao spore preko malih ozljeda na tijelu, a mogu također ući putem parazita ili predatora kukca. Također, jedan način prijenosa poznat kod bakterije *Xenorhabdus nematophilus* koja sama nema infektivnu moć, a razvija je samo zajedno s nematodama roda *Steinernema* (Poinar i Thomas 1984.).

U šumarskoj entomologiji zasigurno je najpoznatija vrsta *B. thuringiensis*, čiji metabolički produkt delta endotoksin, registriran kao djelatna tvar bioloških sredstava zaštite.

PRAŽIVI

PROTOZOA

Najznačajniji iz ove skupine zasigurno su mikrosporidije. To su jednostanični organizmi koji produciraju spore i spadaju u eukariote (Vossbrinck i dr. 1987). Nemaju mitohondrije te su obligatni intracelularni paraziti. Pojavljuju se kao uzročnici bolesti u različitim životinjama, a velik broj opisan je u kukcima. Weiser (1954) je prvi put opisao jednu mikrosporidiju (*Chytridiopsis typographi* Weiser) u smrekinom pisaru (*Ips typographus* L.).

Ciklus razvoja mikrosporidija vrlo je kompliciran i u cijelosti se odvija unutar domaćina. Stvaraju trajne stadije koje hranom dospijevaju u domaćina (Kaya i Tanada 1993). Kad se nalaze u crijevu domaćina spore, iz svog polarnog filameta izbacuju klicu, tzv. planont, u epitel gdje se odvija prva faza vegetativnog razvoja (merogonija). Nakon toga slijedi primarna sporogonija kojom se formiraju primarne spore. One kliju u tkivu, a sam prijenos od crijeva nije potpuno razjašnjen. Slijedi sekundarna merogonija kada dolazi do masovnog razmnožavanja mikrosporidije u tkivu. Konačno, dolazi do sekundarne sporogonije kada se oblikuju trajni stadiji. Napadnutom se kukcu u zadnjem stadiju bolesti razlaže tkivo, nakon čega nastupa smrt, a probavni sustav postaje suspenzija ispunjena sporama. Sistematika ovih organizama do danas nije završena (Mathis 1993; Händel 2002). Dokazuju se bojanjem preparata kada se pod mikroskopom vide tipične V ili U strukture spora (Slika 2).

Daljnju skupinu poznatih protozoa čine gregarine. Iz tijela potkornjaka opisane su septirane gregarine, tj. njihovi trofozoiti s razdjeljenom tzv. septom, koji dijeli tijelo u prednji dio - protomerit i zadnji - deutomerit, gdje se nalazi jezgra (Geus 1969).

Životni ciklus gregarina u kukcima počinje oralnim unosom oocista. Probavni sokovi kukca u crijevu razlažu ovoje oociste iz kojih se oslobađaju srpasti sporozoiti koji zajedno s epimeritom probijaju epitelne stanice srednjeg crijeva te se tu usidruju. To je stadij trofozoita (Slika 3), kada se gregarine hrane sadržajem stanica epitela crijeva koje odumiru. S izmetom zaraženih kukaca izlaze gametociste, stadij spolnog razmnožavanja. Nastale oociste obavijaju se vrlo otpornom membranom unutar koje se nakon mejoze i mitoze nalazi velik broj sporozoit.

Gregarine se ubrajaju u slabe patogene jer trofozoiti uništavaju samo manji broj stanica epitela koje se uz to dobro regeneriraju. Problemi za kukca mogu nastati kada je njihov broj vrlo velik te dolazi do začepjenja crijeva, što najčešće završava smrću (Fuchs 1915).

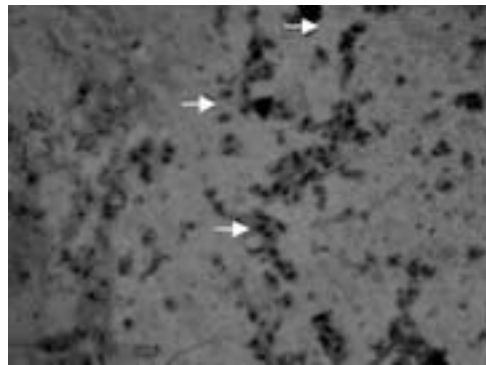
GLJIVE

FUNGI

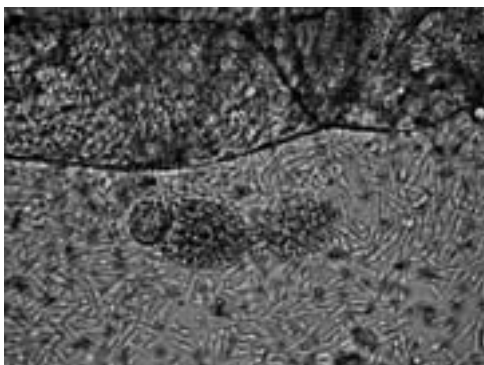
Puno je poznatih oblika asocijacije gljiva i kukaca. Važno je razlikovati asocijaciju gdje su kukci vektori gljiva, kao što su mnoge vrste potkornjaka. Kukci u



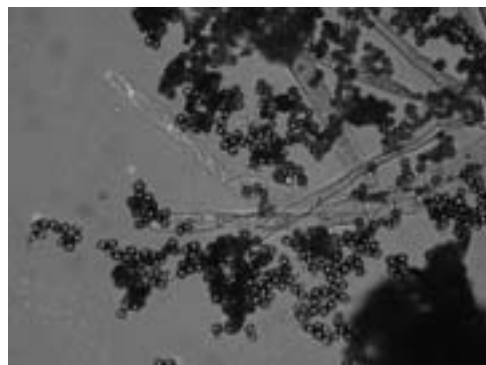
Slika 1. Entomopoxvirus u *Ips typographus*
Figure 1 Entomopox virus in *Ips typographus*



Slika 2. Spore giemsa obojane mikrosporidije *Canningia spinidentis* u *Pityokteines spinidens* (strelica: vidljiva u ili v struktura spora)
Figure 2 Giemsa stained spores of the microsporidia *Canningia spinidentis* in *Pityokteines spinidens* (arrow: u or v structure of spores)



Slika 3. Trofozoiti *Gregarina* sp. u *Ips sexdentatus*.
Figure 3 Trophozoites of a *Gregarina* species in *Ips sexdentatus*



Slika 4. Spore *Beauveria bassiana* u potkornjaku *Tomicus minor*
Figure 4 Spores of *Beauveria bassiana* in the bark beetle *Tomicus minor*

takvim slučajevima posjeduju udubine različitih oblika koji služe za prijenos spora gljiva (micetangiji sin. mikangij). Tu se radi o simbiotičkom odnosu gljiva - kukac, gdje gljiva često služi kao hrana kukcima, nakon što se razvio micelij unutar hodnika. Takav odnos poznat je kod hrastovih potkornjaka koji se hrane ambrosia gljivama. Za šumarstvo je vrlo značajan primjer prijenosa nizozemske bolesti brijesta (uzrokuje *Ophiostoma ulmi* Nanf.) putem potkornjaka roda *Scolytus*, jer je dovela gotovo do odumiranja brijesta (*Ulmus* spp.) (Glavaš 1999).

Sasvim je različiti sustav obligatnog parazitizma gljive prema kukcima. Većina nadenih entopatogenih gljiva spada u jednu od triju skupina Eumycotina: Deuteromycotina (Fungi Imperfecti), Mastigomycotina ili Ascomycotina. Vrlo je rijedak slučaj nalaza entomiopatogenih gljiva iz skupine Basidiomycotina (Poinar i Thomas 1984).

Klijanjem spore gljiva penetrira kroz kutikulu u kukca. Najčešće prvo napada masno tkivo, odakle se grana u hemocel i unutarnje organe. Hife mnogih vrsta se rastenjem prelome i tako brže cirkuliraju u hemocelu. Poslije smrti, kad je kukac ispunjen micelijem, hife probijaju kukca i produciraju spore te se vjetrom prenose dalje.

Rani stadij bolesti teško je odrediti bez seciranja kukca. Generalno, kukci prestaju s hranjenjem, dezorijentirani su ili mijenjaju boju tijela. U kasnijim stadijima napada razvija se micelij.

Potencijal gljiva kao prirodnih neprijatelja vrlo je velik. U šumarstvu postoje pokušaji korištenja gljive *Beauveria bassiana* Vuill. (Slika 4) protiv potkornjaka. Problem njihove primjene u suzbijanju leži u potpunoj neselektivnosti i teškom unosu spora ili njihovih produkata pod koru.

RASPRAVA I ZAKLJUČAK

DISCUSSION AND CONCLUSION

Kukce općenito napadaju različiti mikroorganizami-entomopatogeni, koji su uzrokom beznačajnih fizioloških poremećaja, subletalnih kroničnih do virulentno-letalnih bolesti.

Prednosti biološke kontrole štetnika jesu:

- vrlo visoka specijaliziranost na ciljani organizam, često bez izravnih sekundarnih efekata,
- selektivnost za neciljane organizme (uključujući čovjeka),
- nema akumulacije kemijskih agensa u tlu, vodi i zraku,
- nema rezidua u biljnim i životinjskim proizvodima,
- rezistencija sporija radi mogućnosti izmjena sojeva.

Problem kontrole štetnika biološkim sredstvima zaštite je s jedne strane vrlo visoka cijena, teška registracija preparata i nepostojanost u atmosferskim uvjetima, a s druge nedovoljne spoznaje o prisutnosti i potencijalima različitih entomopatogenih mikroorganizama.

Iako su primjenom modernih molekularno-bioloških metoda razjašnjene mnoge pogreške nastale korištenjem morfometrijskih metoda, usustavljanje mnogih grupa patogena je nedorečeno ili tek djelomično završeno. Uz to, velik broj vrsta još uvijek nije znanstveno obrađen zbog čega mora biti zadatak znanosti identifikacija entomopatogena i istraživanje njihovih potencijala u suzbijanju štetnika.

U Hrvatskoj su istraživani patogeni jelovih potkornjaka roda *Pityokteines* spp. (Pernek 2005) te su utvrđene sljedeće grupe uzročnika bolesti: gljive (*B. bassiana*) kao vrlo učestala vrsta, mikrosporidija *C. spinidentis* koja je česta u Panonskom dijelu jelovog areala, *Chytridiopsis typographi*, dvije vrste neutvrđenih *Gregarina* sp. te na nekoliko jedinki *Menzbieria?* sp. prvi put utvrđena na vrsti *P. spinidens*.

Daljnji korak u istraživanju su umjetna inokulacija nađenih patogena u kontroliranim uvjetima i na terenu te testiranje njihove efikasnosti. Također, treba napomenuti kako se patogeni drugih vrsta štetnika u šumama Hrvatske trebaju više istraživati.

LITERATURA

REFERENCES

- Androić, M. 1965. Pokusi suzbijanja gubara (*Lymantria dispar* L.) u prirodi domaćim preparatom *Bacillus thuringiensis*. Rezultati naučnih istraživanja u akciji suzbijanja gubara 1954. god. Zagreb: Poslov. udruž. šum. privred. organizacija.
- Fuchs, G. 1915. Die Naturgeschichte der Nematoden und einiger anderer Parasiten. Zoologisches Jahrbuch 38. Str. 109-122.
- Geus, A. 1969. Sporentierchen, Sporozoa: Die Gregarinida der land- und süßwasserbewohnenden Artropoden Mitteleuropas. Jena: Gustav Fischer Verlag.
- Glavaš, M. 1999. Gljivične bolesti šumskog drveća. Zagreb: Šumarski fakultet Zagreb. Str. 89-94.
- Händel, U. 2002. Untersuchungen zum Gegenspielerkomplex assoziiert lebender Fichtenborckenkäfer (Col., Scolytidae) aus naturnahen und sekundären Fichtenbeständen unter besonderer Berücksichtigung der Pathogene. Wien: Universität BOKU.
- Harapin, M. 1991. Primjena bioloških metoda suzbijanja štetnih insekata u šumarstvu. Rad. Šumar. inst. Jastrebar. 26(2). Str.199-209.
- Kaya, H.K., Tanda, Y. 1993. Insect pathology. Academic Press inc. Harcourt Brace Jovanovich, Publishers.
- Kovačević, Ž. 1956. Primijenjena entomologija: Šumski štetnici. Zagreb: Poljoprivredni nakladni zavod.
- Mathias, A. 1993. Microsporidia: emerging advances in understanding the basic biology of these unique organisms. International Journal for Parasitology 30. Str.795-804.
- Pernek, M. 2005. Zagreb: Šumarski fakultet. Doktorska disertacija.
- Poinar, O., Thomas, G.M. 1984. Laboratory Guide to insect Pathogens and Parasites. New York: Plenum Press.
- Vossbrinck, C.R., Maddox, J.V. , Friedmann, S., Debrunner – Vossbrinck, B.A., Woese, C.R. 1987. Ribosomal RNA Sequence Suggests Microsporidia are Extremely Ancient Eukaryotes. Nature 326(6111). Str. 411-4.

Weiser, J. 1954. Prispjevek k znalosti cizopasnika kurovcer *Ips typographus* L. Vestnik Českoslov. Zool. Spolecnosti 18. Str. 217-224.

Weiser, J., R. Wegensteiner 1994. A new type of entomopoxvirus in the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera, Scolytidae) in Czechoslovakia. Zeitschrift fur Angewandte Zoologie 80(4). Str. 425-434.

PATHOGENS OF FOREST PESTS – THEIR IMPORTANCE AND FUTURE IN FOREST PROTECTION

Summary

Insects are generally susceptible to attacks by a variety of micro-organisms-entomopathogens that cause physiological disturbances ranging from sublethal chronic to virulent-lethal diseases.

*The use of entomopathogenic micro-organisms to control harmful organisms has been investigated for over 100 years. For example, in 1879 Metschnikoff successfully used the fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) against beetle larvae.*

*The year 1830 marked the beginning of the insect pathology science, when A. Bassi demonstrated that a micro-organism, later identified as the fungus *Beauveria bassiana* Vuill., caused a disease in silkworms.*

*There were systematic attempts at biological control of commercial pests as early as the 19th century, but the real breakthrough was made only in the 1960s with the development and application of a substance based on the bacterium *Bacillus thuringiensis* Berl. Many of the substances based on this bacterium have also been studied and used in Croatian forestry to control harmful moths such as the gypsy moth or the pine procession moth.*

The advantages of biological pest control have promptly been recognised and the study of potential entopathogens on different pest has been intensified. Naturally, agricultural pests were studied in more depth, so forest pests have only received more attention in the past decade.

The problem of pest control with biological means is their high price, difficulty of registration and their volatility in atmospheric conditions on the one hand, and insufficient knowledge of the presence and potentials of different entomopathogenic micro-organisms on the other.

Thus, the systematisation of many pathogen groups is incomplete and only partially finished. Although the application of modern molecular-biological methods has clarified many errors resulting from the use of morphometric methods, a large number of species still remains to be scientifically processed. The task of the current and future science is to identify possible antagonists and study their potentials in pest control.

The paper contains a short overview of insect pathology development with a focus on forest pests, the current problems of application and guidelines for the future.

Key words: *pests, pathogens, virus, bacteria, fungus, protozoa*