

ŠTÚDIA VYUŽITIA ENTOMOPATOGÉNNYCH HÚB V INTEGROVANEJ OCHRANE LESA PROTI MNÍŠKE VEĽKOHLAVEJ *LYMANTRIA DISPAR*

Milan Zúbrik • Marek Barta • Jozef Vakula • Juraj Galko • Ján Kulfan • Peter Zach • Slavomír Rell • Andrej Kunca • Roman Leontovyč • Andrej Gubka • Christo Nikolov • Michal Lalík • Jaroslav Holuša

Zúbrik, M., Barta, M., Vakula, J., Galko, J., Kulfan, J., Zach, P., Rell, S., Kunca, A., Leontovyč, R., Gubka, A., Nikolov, Ch., Lalík, M., Holuša, J.: Study of the use of entomopathogenic fungi in integrated forest protection against gypsy moth *Lymantria dispar*. APOL, 2022, vol. 3, no. 1, p. 47–55.

Abstract: This article summarizes research in the field of entomopathogenic fungi of the gypsy moth. Non-native entomopathogenic fungus *Entomophaga maimaiga* appears to be the most promising species. It is relatively evenly distributed in the territory of Slovakia, while its occurrence coincides with the occurrence of its host species. It is very effective in the natural bioregulation of the gypsy moth. However, it has certain specific requirements on habitats characteristics, such as humidity, altitude, age of the forest stand, etc., which can significantly reduce its effectiveness in some years or in some localities. The artificial introduction of the fungus into new localities appears to be relatively easy, but it encounters legislative problems due to its status as a “non-native organism”, resulting from the Nature Conservation Act no. 543/2002 Z. z.

Key words: *Entomophaga maimaiga*; forest pests; non-native organisms; pest control

1. Problematika

1.1. Mníška veľkohlavá

Mníška veľkohlavá *Lymantria dispar* (L.) 1758, patrí do radu Lepidoptera, čeľad' Erebidae, podčeľad' Lymantriinae, ktorá je u nás zastúpená 15 druhami (Pastorális et al. 2013). Areál jej rozšírenia zaberá celú Európu okrem severských štátov a Írska, severnú Afriku a naprieč Áziou sa tiahne až k Japonsku a východnej Číne. Roku 1869 bola zavlečená do USA nedaleko Bostonu odkiaľ svoj areál výskytu stále rozširuje. Škodca spôsobuje defoliáciu stromov v období konca mája – jún. Poškodenie môže mať negatívny dopad na stabilitu porastov, znižuje vitalitu stromov a spôsobuje následnú mortalitu vyvolanú pôsobením sekundárnych škodcov (McManus & Csóka 2007; Zúbrik et al. 2021).

Húsenice mníšky veľkohlavé sú širokými polyfágmi. V našich podmienkach patria k najviac poškodzovaným druhom *Quercus cerris* L., *Quercus petraea* Matt., *Quercus robur* L., *Quercus rubra* L. *Tilia cordata* Mill., *Populus* spp. a *Salix* spp. (Zúbrik et al. 2021). Populácia *L. dispar* sa vyznačuje veľmi radikálnymi medzigeneračnými zmenami. Tieto zmeny v počte jedincov pripadajúcich na jednotku plochy nazývame populáčnou dynamikou. Prvé zmienky o výskytu gradácií z nášho územia siahajú až do minulého storočia (Zúbrik et al. 2021).

Mníška veľkohlavá je vo svojom areáli napádaná širokým spektrom prirodzených nepriateľov. Patria k nim parazitoidy, predátory a entomopatogénne organizmy (Doane & McManus 1981). Patogény zohrávajú veľmi dôležitú úlohu pri prirodzenom zániku populácie. Patogény našli aj pomerne široké uplatnenie v umelej regulácii škodcu. Najvýznamnejšie patogény sú vírusy, baktérie, mikrosporídie a huby (Weiser 1966; Doane & McManus 1981; Hoch et al. 2001).

1.2. Hubové patogény

K bežným druhom húb, ktoré sa vyskytujú v prirodzenom bioregulačnom spektri mníšky veľkohlavé u nás, patrí napríklad *Beauveria bassiana*. Jej význam pre kolaps populácie mníšky je skôr okrajovo-

vý (Zúbrik 1997). Vzhľadom na svoju polyfáglosť a nestálosť v prostredí je využitie tejto huby v umelej regulácii značne limitované a zatiaľ pomerne málo preskúmané. Z ďalších druhov húb, ktoré boli na mníške veľkohlavej zaznamenané, sú napríklad *Aspergillus flavus* alebo *Paecilomyces farinosus* (Doane & McManus 1981). Najväčší potenciál pre prirodzenú reguláciu populácie mníšky veľkohlavej majú však najmä huby rodu *Entomophaga* (Zúbrik et al. 2016, 2018a).

Entomophaga maimaiga je vysoko virulentný, hubový patogén, ktorý patrí do druhového komplexu *Entomophaga aulicæ*. Na základe biochemickej analýzy bola *E. maimaiga* identifikovaná ako samostatný druh. *E. maimaiga* bola opísaná a izolovaná ako prirodzený nepriateľ mníšky veľkohlavej v centrálnej oblasti ostrova Honšú v Japonsku. Prirodzený areál rozšírenia tohto druhu zahŕňa Japonsko, Tichomorskú oblasť Číny, Južnú Kóreu, ďaleký východ Ruska a pravdepodobne aj Indiu (Soper et al. 1988; Hajek 2007).

E. maimaiga bola okolo roku 1910 zámerne introdukovaná do USA s cieľom pôsobiť ako prirodzenej nepriateľ mníšky veľkohlavej. Vo voľnej prírode USA sa ale v nasledujúcich rokoch nenašla a tak sa tento pokus o jej introdukciju považoval za neúspešný (Speare & Colley 1912). Okolo roku 1990 bola v niektorých populáciach mníšky veľkohlavej v USA neočakávane zistená vysoká mortalita húseníc (Andreadis & Weseloh 1990). Laboratórne testy potvrdili, že mortalitu spôsobila *E. maimaiga* (Hajek et al. 1990). Od tej doby sa huba začala šíriť v USA a spôsobila kolaps mnohých lokálnych gradácií škodcu, pričom na niektorých miestach konkurovala aj doteraz najvýznamnejšiemu patogénu mníšky veľkohlavej v USA – vírusu NPV. *E. maimaiga* sa stala od tej doby jedným z najvýznamnejších prirodzených patogénov mníšky veľkohlavej v USA (Hajek 2007; Tobin & Hajek 2012).

V roku 1999 bola túto huba introdukovaná aj do Európy – do Bulharska (Pilarska et al. 2000). Introdukcia bola úspešná a huba sa následne začala šíriť v Európe. Postupne sa objavila vo viacerých krajinách (Tabakovic-Tosic et al. 2012; Georgieva et al. 2013; Hrašovec et al. 2013). *E. maimaiga* bola na Slovensku prvýkrát zistená až v roku 2013, pričom nie je možné vylúčiť, že sa na Slovensku vyskytowała už dlhšiu dobu (Zúbrik et al. 2014). Naše experimenty potvrdili výskyt *E. maimaiga* na viacerých miestach Slovenska (Zúbrik et al. 2018b).

Huba má niektoré vlastnosti, ktoré ju predurčujú byť úspešnou v prirodzenej regulácii mníšky veľkohlavej. Huba je mimoriadne druhovo špecifická a napáda takmer výlučne larvy mníšky veľkohlavej (Hájek et al. 1996; Zúbrik et al. 2018b). Šíri sa vzduchom a má schopnosť v krátkej dobe zasiahnuť veľkú časť populácie škodcu (Zúbrik et al. 2016).

Cieľom tejto štúdie bolo spresniť areál rozšírenia huby *E. maimaiga* na Slovensku, zistiť jej ekologické nároky a hľadať spôsob vhodného zakomponovania tohto patogéna do umelej regulácie mníšky veľkohlavej na našom území.

2. Materiál a metódy

2.1. Zber vzoriek pre zistovanie prítomnosti huby *E. maimaiga*

V teréne bol z každej lokality odobratý asi 1 kg pôdy do pevného papierového vrecka. Kovová lopatka, ktorá sa používala na odber vzorky, bola medzi každou plochou sterilizovaná 96%-ným alkoholom. Pôda sa odobrala najmenej z okolia 10 stromov tak, že sa lopatkou odobralo cca 100 g pôdy zo vzdialenosťí nie viac ako 15 cm od päty kmeňa. Pôda sa nasypala do jedného vrecka tak, aby sa vytvorila asi 1 kg vzorka pre danú lokalitu. Zaznamenali sme číslo porastu, dielca a GPS súradnice lokality. Vrecká so zeminou sa dopravili do laboratórií NLC. V laboratóriu sa pôda spracovala (preosievaním) pre analýzu na PCR analyzátor, kde sa následne stanovila prítomnosť huby *E. maimaiga* PCR analýzou.

Stanovenie početnosti mníšky veľkohlavej

V letných mesiacoch sme umiestnili feromónové lapače na vybrané lokality, aby sme zistili početnosť samcov mníšky veľkohlavej. Použili sme lapače typu delta a feromónový odparník typu Lymowit (Witasek, Rakúsko). Lapače sme pravidelne navštěvovali a zaznamenávali počet odchytených samcov.

2.2. Návrh vhodného spôsobu umelej introdukcie spór entomopatogénej huby *E. maimaiga* do lokálnych populácií mnišky veľkohlavej

V mesiaci októbersa založil pokus, zameraný na overenie 4 spôsobov introdukcie inokula huby *E. maimaiga*. Pripravili sa 25 l kvetináče, ktoré sa naplnili sterilnou pôdou. Na pôdu sa nanesli (postrek vodou suspenziou) zimné spóry huby *E. maimaiga*. Na jednu sériu experimentov sa použila pôda získaná z kontaminovanej lokality (Párovské Háje, odber október toho istého roka). Odber pôdy sa vykonal tak, že sa z lokality, na ktorej bola v predchádzajúcom roku zistená vysoká infekcia lariev mnišky veľkohlavej odoberala pôda v objeme asi 3 kg z okolia približne 30 stromov (100 g pôdy /strom), pričom sa pôda odoberala z oblasti menšej ako 10 – 15 cm od päty kmeňa. Pre každý variant sa pripravili 3 kvetináče + jedna séria ako kontrola.

Tabuľka 1. Charakteristika jednotlivých variant

Table 1. Characteristics of individual variants.

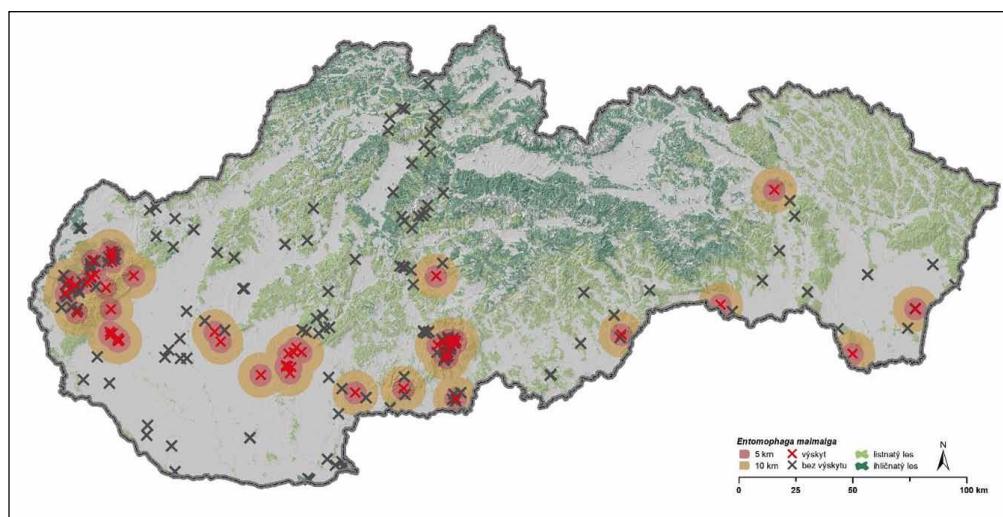
Označenie	Opis – spôsob ošetroenia jedného 25 l kvetináča
A	Kontrola – neošetrená, sterilná pôda
B	200 ml suspenzie $9,83 \times 10^3$ spór/ml (asi 2 mil. spór)
C	200 ml suspenzie $9,83 \times 10^4$ spór/ml (asi 20 mil. spór)
D	200 ml suspenzie $9,83 \times 10^5$ spór/ml (asi 200 mil. spór)
E	Pôda z lokality s prírodnou vysokou frekvenciou E. maimaiga (Párovské Háje)

Skoro na jar roku 2021 sme pokryli povrch kvetináčov nepriepustnou fóliou, aby sa zabránilo úniku spór. Pod fóliu boli umiestnené húsenice 4. instaru *L. dispar* (20 ks/kvetináč). Po 48 hodinách bez potravy boli húsenice premiestnené do laboratória, kde boli chované oddelené na umelej potrave do zakuklenia, resp. do prejavenie sa infekcie.

3. Výsledky a diskusia

3.1. Rozšírenie huby *E. maimaiga* na území Slovenska

Výsledky PCR analýzy potvrdili prítomnosť huby na 61 z 233 sledovaných lokalít. To predstavuje 26,1 % monitorovaných lokalít. Naznačuje to, že početnosť huby je na území Slovenska pomerne vysoká a je na našom území pomerne široko udomáčnená (obr. 1).

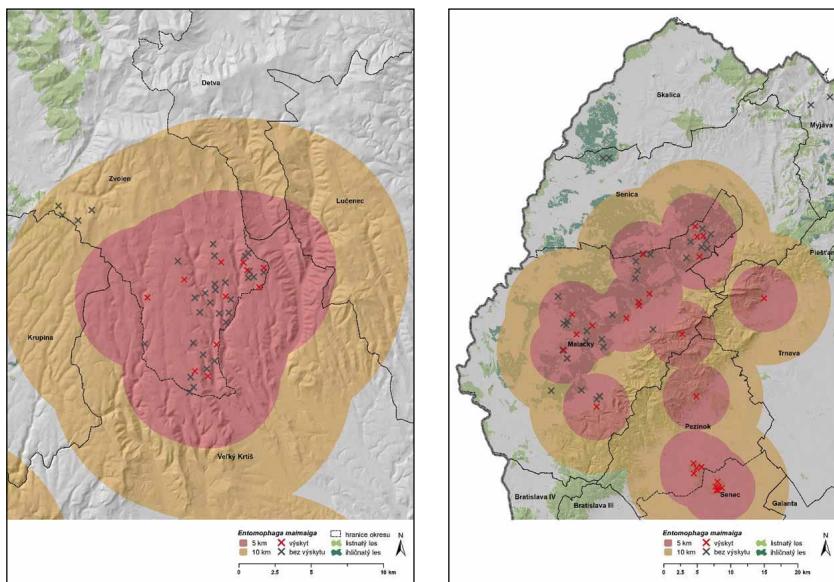


Obrázok 1. Rozšírenie huby *E. maimaiga* na území Slovenska
*Figure 1. Distribution of the fungus *E. maimaiga* in Slovakia.*

Jej rozšírenie v podstate kopíruje rozšírenie mnišky veľkohlavej u nás, najmä je gradačné centrá. Vyskytuje sa hojne vo všetkých štyroch gradačných územiac, ktoré definoval Zúbrik et al. (2021).

Chýba zatiaľ na juhu Podunajskej nížiny, kde sa mníška vyskytuje ostrovčekovite najmä na topoľoch. Pomerne prekvapivý a neočakávaný je jej severný výskyt v okolí Prešova. Mohlo by to znamenať, že huba môže mníšku veľkohlavú sprevádzať až na sever jej areálu a že teda ďalšie šírenie huby napríklad do Poľska by mohlo byť len otázkou času.

Podrobne sme sa v rámci nášho výskumu venovali rozšíreniu huby na dvoch územiacach, v okolí Malaciek na Záhorí a v okolí Pliešoviec (obr. 2). Mníška veľkohlavá je v obidvoch oblastiach rozšírená, ale vzhľadom na minoritné zastúpenie dubov v lesných porastoch sa jej gradáciám venuje len menšia pozornosť. V okolí Malaciek, kde dominuje v porastoch borovica, je rozšírenie huby rovnomenné a je viazané na dubové porasty. V oblasti Pliešoviec, je rozšírená tiež veľmi rovnomerne. Vzhľadom na dosah spôr, ktorými sa huba šíri (2 – 5 km ročne) sa dá predpokladať, že prakticky celé územie v lokalite Pliešovce je prirodzeným spôsobom chránené pred vznikom silnejšej gradácie. V lokalite Malacky sa nachádzajú časti, kde je premorenie druhom *E. maimaiga* nízke a kde sa nedá zatiaľ očakávať jej silnejší vplyv na populačnú hustotu škodcu.

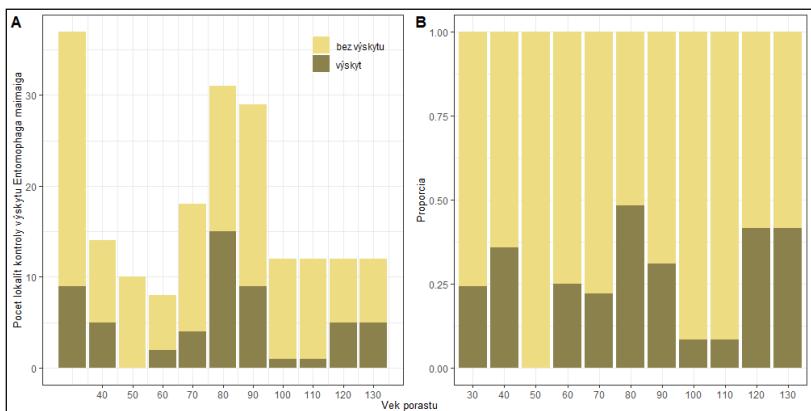


Obrázok 2. Výskyt huby *E. maimaiga* na území VLM Pliešovce (vľavo oblasť Pliešovce, vpravo oblasť Záhorie). Lokality s výskytom huby (červené krížiky) a lokality bez výskytu (čierne krížiky). Vyznačené sú 2 zóny, ružová – do 5 km a okrová do 10 km od miest potvrdeného výskytu

Figure 2. Occurrence of the fungus *E. maimaiga* in the territory of VLM Pliešovce (on the left the Pliešovce area, on the right the Záhorie area). The sites with fungus presence (red crosses) and without fungus presence (black crosses) are displayed. There are 2 marked zones, pink – up to 5 km and ochre up to 10 km from the places of confirmed occurrence of the fungus.

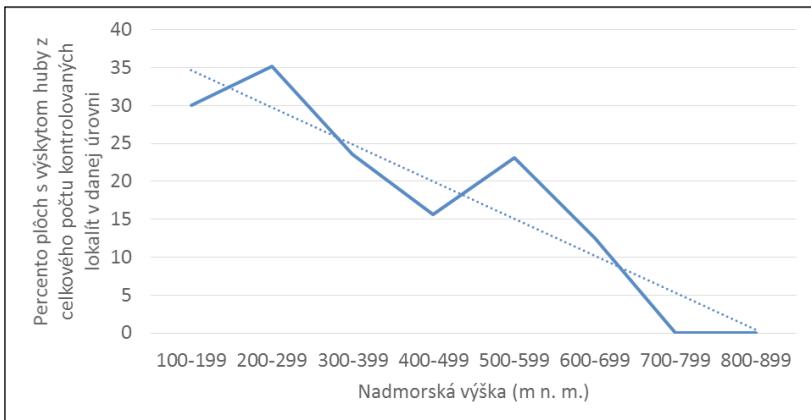
3.2. Ekologické nároky huby *E. maimaiga*

Na základe údajov o výskytu huby *E. maimaiga* a zozbieraných porastových charakteristik sme odvodili niektoré závislosti. Pre analýzu vplyvu veku bol použitý stredný vek porastu prevzatý z údajov programu starostlivosti o lesy. Najvyšší relatívny ale aj absolútny výskyt *E. maimaiga* bol zaznamenaný v porastoch vo veku 80 rokov (obr. 3a, 3b). Je známe už z našich predchádzajúcich štúdií, že s vekom porastu obyčajne rastie aj frekvencia výskytu *E. maimaiga*. Je teda hojnejšia v starších porastoch. Najvyšší absolútny výskyt huby zo všetkých sledovaných lokalít bol zaznamenaný v porastoch so zakmenením 8 a 9. Najvyššie proporcionálne zastúpenie výskytu huby bolo v porastoch so zakmenením 6. Najväčší proporcionálny výskyt bol zaznamenaný v porastoch s juhozápadnou a východnou expozíciou. Výskyt *E. maimaiga* v porastoch so severnou a západnou expozíciou bol najnižší. Na základe monitorovaných lokalít predpokladáme, že optimálna nadmorská výška pre výskyt *E. maimaiga* je v porastoch 100 – 300 metrov nad morom. S rastúcou nadmorskou výškou klesá zastúpenie *E. maimaiga* (obr. 4). Vo výške nad 700 m n. m. sa huba nevyskytovala.



Obrázok 3a: Absolútny výskyt *E. maimaiga* podľa vekových kategórií porastu
 Figure 3a. Absolute occurrence of *E. maimaiga* according to age categories of the stand.

Obrázok 3b: Proporcionalný výskyt *E. maimaiga* podľa vekových kategórií porastu
 Figure 3b. Proportional occurrence of *E. maimaiga* according to age categories of the stand.



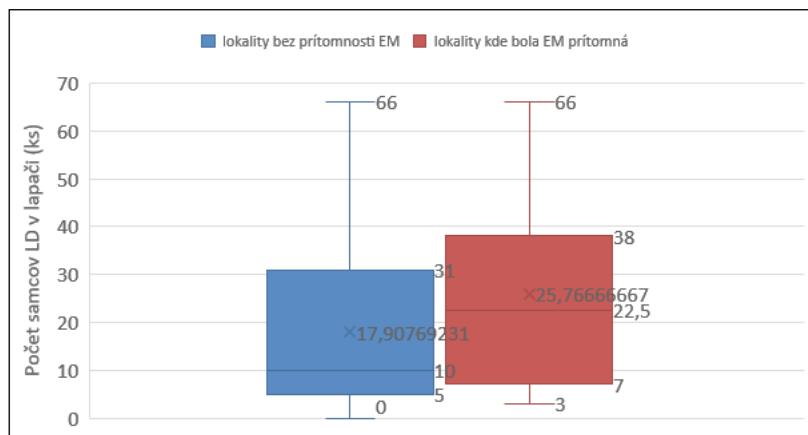
Obrázok 4. Percento plôch s výskytom huby *E. maimaiga* z celkového počtu kontrolovaných lokalít v danej nadmorskej výške
 Figure 4. Percentage of areas with the occurrence of the fungus *E. maimaiga* from the total number of inspected localities in the given altitude.

Ďalej sme analyzovali závislosť medzi početnosťou mníšky veľkohlavnej a prítomnosťou huby *E. maimaiga*. Frekvencia výskytu huby je vyššia na lokalitách, kde sa jej hostiteľ vyskytuje vo vyššej početnosti. Je to očakávaný výsledok, ktorý potvrdila aj analýza dát získaných v roku 2021. Platí teda, že čím je na lokalite vyššia početnosť mníšky veľkohlavej, tým vyššia je pravdepodobnosť, že sa na lokalite vyskytuje aj huba *E. maimaiga* (obr. 5).

Naše zistenia korešpondujú aj s údajmi iných autorov, ktorí študovali výskyt huby *E. maimaiga* a jej vplyv na populáciu škodcu. Ukázalo sa, že v prípade priaznivých podmienok (prítomnosť hostiteľa v určitej početnosti, vhodná pôdna a vzdušná vlhkosť, pH pôdy, nadmorská výška a pod.) dokáže huba početnosť mníšky zásadným spôsobom znížiť. Známy je napríklad vzťah medzi aktivitou *E. maimaiga* a vlhkosťou, čím vlhkejšie je (resp. v období po daždi), tým viac azygospór vznikne, narastá produkcia a emisia konídií, zvyšuje sa hustota konídií vo vzduchu, infekcia azygospórami je vyššia vo vlhkom počasí a pod. (Hajek et al. 1990; Hajek 2007).

Aj keď sme v rámci nášho výskumu potvrdili pomerne plošné rozšírenie huby *E. maimaiga* na území Slovenska, neznamená to, že sa gradácie mníšky veľkohlavej u nás už v budúcnosti nebudú vyskytovať. Naše pozorovania ekologických nárokov tejto huby potvrdili, že má určité špecifické nároky na mikroklimatické podmienky, ktoré môžu jej vplyv na populáciu škodcu výrazne obmedzovať. Za priaznivých podmienok môže gradácia hostiteľa vplyvom huby skončiť kolapsom už v štádiu

progradácie a ďalšom roku prejsť do štadia latencie. Ak však huba nemá optimálne podmienky pre svoj rozvoj, jej vplyv na početnosť škodu môže byť, aj napriek tomu, že sa na lokalite vyskytuje, mino-ritný (Hajek et al. 1990; Hajek 2007; Zúbrik et al. 2016).

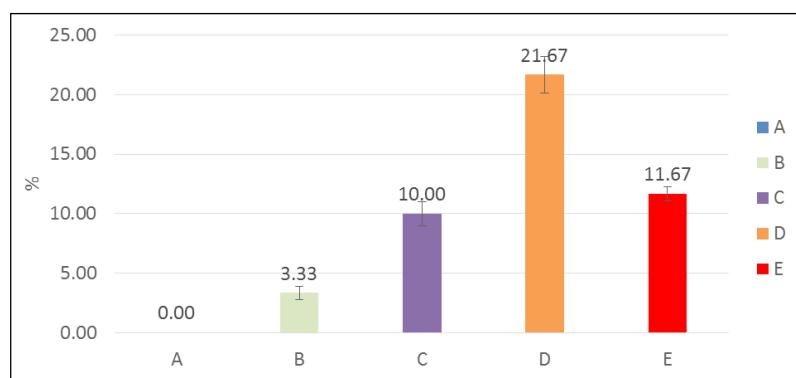


Obrázok 5. Porovnanie početnosti mnišky veľkohlavnej na lokalitách s výskytom huby *E. maimaiga* a bez výskytu huby
Figure 5. Comparison of the abundance of gypsy moth in localities with the occurrence of the fungus *E. maimaiga* and without the occurrence of the fungus.

3.3. Návrh vhodného spôsobu umelej introdukcie spór entomopatogénnej huby *E. maimaiga* do lokálnych populácií mnišky veľkohlavej

Testy ukázali, že infekčná schopnosť testovanej suspenzie sa zvyšuje priamo úmerne koncentrácií spór, ktoré obsahuje (tab. 1, B, C, D). Najlepšiu účinnosť dosiahlo variant D, infikovaných bolo 21,67 % testovaných húseníc. Infikovaná pôda z lokality Párovské Háje (E), mala tiež pomerne vysokú účinnosť. Húsenice v kontrolnej vzorke neboli infikované (obr. 6). Použitie spór vo vodnom roztočku (var. B – D), ako aj kontaminovaná pôda (E) zaistila prenos huby na novú lokalitu. Každý z uvedených variant možno odporučiť ako účinný a vhodný spôsob na umelý prenos huby *E. maimaiga* do nových oblastí.

Dodatočné polievanie miesta introdukcie (Pilarska et al. 2000) sme nerealizovali a aj napriek tomu sme dosiahli pomerne uspokojivé výsledky. V tejto oblasti sa otvára priestor pre podrobnejší výskum toho, akým spôsobom zvýšiť efektivitu umelej introdukcie huby do nových populácií hostiteľa.



Obrázok 6. Priemerný počet húseníc infikovaných hubou *E. maimaiga* v závislosti na variante ošetrovania
Figure 6. Average number of caterpillars infected by *E. maimaiga* depending on the treatment variant.

4. Súhrn

V rámci štúdie využitia entomopatogénnych húb v boji s mníškou veľkohlavou *L. dispar* sme sa zamerieli najmä na druh *E. maimaiga*. Dospeli sme k nasledovným záverom.

- *E. maimaiga* je na území Slovenska pomerne rovnomerne rozšírená. Jej výskyt z väčej časti kopíruje rozšírenie hostiteľa – mníšky veľkohlavej na našom území.
- *E. maimaiga* – má viaceré vlastnosti, ktoré ju priamo predurčujú, aby bola mimoriadne účinným bioregulátorom početnosti mníšky veľkohlavej. Má však svoje vlastné nároky na podmienky prostredia, ktoré môžu za určitých okolností jej efektivitu v bioregulácii škodcu zásadným spôsobom znížovať.
- Prenos huby *E. maimaiga* do nových oblastí sa javí ako pomerne jednoduchý a to jednak pomocou vodnej suspenzie spór alebo prenosom kontaminovanej pôdy. Umelé rozširovanie areálu tejto ne-pôvodnej huby však naráža na administratívne problémy vyplývajúce zo Zákona o ochrane prírody a krajiny (zákaz rozširovania nepôvodných organizmov podľa Zákona o ochrane prírody a krajiny č. 543/2002 Z. z.).
- *E. maimaiga* sa na území Slovenska vyskytuje od roku 2013. Táto huba už v súčasnosti zohráva dôležitú úlohu v prirodzenej bioregulácii mníšky veľkohlavej a má teda dôležité miesto aj v integrovanej ochrane lesa proti mníške veľkohlavej (Zúbrik et al. 2019).

Podakovanie

Tento článok vznikol vďaka podpore v rámci projektu „Zvyšovanie úrovne ochrany kritickej infraštruktúry – výskum nových, ekologicky akceptovateľných metód boja so škodcami lesa na území v správe podniku Vojenské lesy a majetky SR, š. p.,“ ktorý je realizovaný s finančnou podporou Ministerstva obrany Slovenskej republiky. Táto publikácia vznikla aj vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt „Centrum excelentnosti lesníctko-drevárskeho komplexu LignoSilva“; (kód ITMS: 313011S735), spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja a pre projekt „Výskum a vývoj bezkontaktných metód pre získavanie geopriestorových údajov za účelom monitoringu lesa pre zefektívnenie manažmentu lesa a zvýšenie ochrany lesov (FO-MON)“ č. p. 313011V465. Práca vznikla vďaka finančnej podpore v rámci projektov APVV-18-0086, APVV-19-0116 a APVV-19-0119 financovaných agentúrou APVV a projektu „PROMOLES“ - projekt financovaný z rozpočtovej kapitoly MPRV SR (prvok 08V0301). Práca ďalej vznikla vďaka finančnej podpore z Európskeho fondu regionálneho rozvoja (ERDF) pre projekt č. 313011X531 „Rozvoj biologicky a biotechnicky orientovaných systémov ochrany lesov pred domácimi a nepôvodnými (inváznymi) organizmami“.

Literatúra

- Andreadis, T. G., Weseloh R. M., 1990: Discovery of *Entomophaga maimaiga* in North American gypsy moth, *Lymantria dispar*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87: 2461–2465.
- Čapek, M., 1971: Výsledky pokusov s introdukciami vaječných parazitov mníšky veľkohlavej na Slovensku. Lesn. čas., 17: 127 – 137.
- Doane, C. C., McManus, M. L., (eds.), 1981: The gypsy moth: Research toward integrated pest management. USDA For. Serv. Sci. Educ., Washington D. C., Agriculture Technical Bulletin, 1584, 757 s.
- Georgieva, M., Georgiev, G., Pilarska, D., Pilarski, P., Mirchev, P., Papazova-Anakieva, I., Matova, M., 2013: First record of *Entomophaga maimaiga* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) in *Lymantria dispar* population in Greece and the former Yugoslavian Republic of Macedonia. Sumar list, 5–6: 307–311.
- Hajek, A. E., 2007: Introduction of the Entomopathogenic Fungus *Entomophaga maimaiga* into North America. In: Vincent, C., Goettel, M. S., Lazarovits, G. (ed.): Biological control: A global perspective. CABI Publishing, Wallingford, p. 53–62.
- Hajek, A. E., Elkinton, J. S., Witcosky, J. J., 1996: Introduction and spread of the fungal pathogen *Entomophaga maimaiga* along the leading edge of gypsy moth spread. Environ Entomol, 25: 1235–1247.

- Hajek, A. E., Carruthers, R. I., Soper, R. S., 1990: Temperature and moisture relations of sporulation and germination of *Entomophaga maimaiga* (Zygomycetes: Entomophthoraceae), a fungal pathogen of *Lymantria dispar*. Environ. Entomol., 19: 85–90.
- Hajek, A. E., Butler, L., Walsh, S. R. A., Silver, J. C., Hain, F. P., Hastings, F. L., O'Dell, T. M., Smitley, D. R., 1996: Host range of the gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) pathogen *Entomophaga maimaiga* (Zygomycetes: Entomophthorales) in the field versus laboratory. Environ. Entomol., 25: 709–721.
- Hoch, G., Zúbrik, M., Novotný, J., Schopf, A., 2001: The natural enemy complex of the gypsy moth, *Lymantria dispar* (Lep., Lymantriidae) in different phases of its population dynamics in eastern Austria and Slovakia – a comparative study. J. Appl Entomol., 125: 217–227.
- Hrašovec, B., Pernek, M., Lukic, I., Milotić, M., Diminić, D., Franjević, M., Hajek, A., Linde, A., Pilarska, D., 2013: First record of the pathogenic fungus *Entomophaga maimaiga* Humber, Shimazu, and Soper (Entomophthorales: Entomophthoraceae) within an outbreak populations of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Erebidae) in Croatia. Period. Biol., 115: 379–383.
- McManus, M., Csóka, G., 2007: History and Impact of Gypsy Moth in North America and Comparison to Recent Outbreaks in Europe. Acta Silv. Lignaria Hung., 3: 47–64.
- Pastorális, G., Kalivoda, H., Panigaj, L., 2013: Zoznam motýľov (Lepidoptera) zistených na Slovensku. Folia faunistica Slovaca, 18: 101–232.
- Pilarska, D., McManus, M., Hajek, A. E., Herard, F. E., Vega, F., Pilarski, P. and Markova, G., 2000: Introduction of the Entomopathogenic Fungus *Entomophaga maimaiga* Hum., Shim. & Sop. (Zygomycetes: Entomophthorales) to a *Lymantria dispar* [L.] (Lepidoptera: Lymantriidae) Population in Bulgaria, Journal of Pest Science, 73: 125–126.
- Soper, R. S., Shimazu, M., Humber, R. A., Ramos, M. E., Hajek, A. E., 1988: Isolation and characterization of *Entomophaga maimaiga* sp. nov., a fungal pathogen of gypsy moth, *Lymantria dispar*, from Japan. J. Invertebr. Pathol., 51: 229–241.
- Speare, A. T., Colley, R. H., 1912: The artificial use of the brown-tail fungus in Massachusetts with practical suggestions for private experiments, and a brief note on a fungous disease of the gypsy caterpillar. Wright & Potter, Boston, Mass.
- Tabaković-Tošić, M., Georgiev, G., Mirchev, P., Tošić, D., Golubović-Ćurgu, V., 2012: *Entomophaga maimaiga* – new entomopathogenic fungus in the Republic of Serbia. Afr. J. Biotechnol., 34: 8571–8577.
- Tobin, P. C., Hajek, A. E., 2012: Release, establishment, and initial spread of the fungal pathogen *Entomophaga maimaiga* in island populations of *Lymantria dispar*. Biol. Control, 63: 31–39.
- Weiser, J., 1998: Pathogens of the gypsy moth in Central Europe: host range and interaction. In: McManus, M.L., Liebold, A.M. (ed.): Population dynamics, impacts, and integrated management of forest defoliating insects. Gen. Tech. Rep. NE-247. USDA Forest Service, Northeastern Research Station, Radnor, PA, p. 322–333.
- Zúbrik, M., 1997: The study of gypsy moth, *Lymantria dispar* L. (Lep., Lymantriidae) natural enemies complex, with special reference to the parasitoids. PhD thesis, TU Zvolen, 110 s.
- Zúbrik, M., Novotný, J., 1997: Egg parasitization of *Lymantria dispar* (Lep., Lymantriidae) in Slovakia. Biológia, 52: 343–350.
- Zúbrik, M., Barta, M., Pilarska, D., Goertz, D., Uradník, M., Galko, J., Vakula, J., Gubka, A., Rell, S., Kunca, A., 2014: First record of *Entomophaga maimaiga* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) in Slovakia. Biocontrol Science and Technology, 24(6): 710–714.
- Zúbrik, M., Hajek, A., Pilarska, D., Špilda I., Georgiev, G., Hrašovec, B., Hirka, A., Goertz, D. Hoch, G., Barta, M., Saniga, S., Kunca, A., Nikolov, Ch., Vakula, J., Galko, J., Pilarski, P., Csóka, G. 2016: The potential for *Entomophaga maimaiga* to regulate gypsy moth *Lymantria dispar* [L.] (Lepidoptera: Erebidae) in Europe. Journal of Applied Entomology, 140(8): 565–579.
- Zúbrik, M., Pilarska, D., Kulfan, J., Bartad, M., Hajek, A.E., Bittner, T.D., Zach, P., Takov, D., Kunca, A., Relila, S., Hirka, A., Csóka, G., 2018a: Phytophagous larvae occurring in Central and Southeastern European oak forests as a potential host of *Entomophaga maimaiga* Entomophthorales: Entomophthoraceae) – A field study. Journal of Invertebrate Pathology, 155: 52 – 54, <https://doi.org/10.1016/j.jip.2018.05.003>.
- Zúbrik, M., Špilda, I., Pilarska, D., Hajek, A. E., Takov, D., Nikolov, C., Kunca, A., Pajtik, J., Lukášová, K., Holuša, J., 2018b: Distribution of the entomopathogenic fungus *Entomophaga maimaiga* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) at the northern edge of its range in Europe. Annals of Applied Entomology, 173: 35–41, <https://doi.org/10.1111/aab.12431>.

- Zúbrik, M., Špilda, J., Barta, M., Vakula, J., Kunca, A., Galko, J., Kulfan, J., Zach, P., Rell, S., Leontovyč, R., Gubka, A., Nikolov, Ch., 2019: Integrovaná ochrana lesa proti mniške veľkohlavej, zahrňujúca využitie hubového patogéna *Entomophaga maimaiga*. In: Kunca, A. (ed.): Aktuálne problémy v ochrane lesa 2019. Zborník referátov z medzinárodnej konferencie konanej 31. 1. – 1. 2. 2019 v Kongresovom centre Kúpeľov Nový Smokovec, a. s., Národné lesnícke centrum, Zvolen, s. 63–67.
- Zúbrik, M., Kunca, A., Kulfan, J., Rell, S., Nikolov, C., Galko, J., Vakula, J., Gubka, A., Leontovyč, R., Konôpkova, B., Lalík, M., Longauerová, V., Sitková, Z., Liška, J., Zach, P., Barta, M., Holuša, J., 2021: Occurrence of gypsy moth (*Lymantria dispar* L.) in the Slovak Republic and its outbreaks during 1945 – 2020. Central European Forestry Journal, 67: 55–71.

Adresa:

Ing. Milan Zúbrik, PhD., Ing. Jozef Vakula, PhD., Ing. Juraj Galko, PhD., Ing. Slavomír Rell, PhD., Ing. Andrej Kunca, PhD., Ing. Roman Leontovyč, PhD., Ing. Andrej Gubka, PhD., Ing. Christo Nikolov, PhD., Ing. Michal Lalík, Ph.D.

Národné lesnícke centrum – Lesnícky výskumný ústav Zvolen, Stredisko lesníckej ochranárskej služby, Lesnícka 11, 969 01 Banská Štiavnica, Slovenská republika
e-mail: meno.priezvisko@nlcsk.org

Ing. Marek Bárta, PhD., RNDr. Ján Kulfan, CSc., Ing. Peter Zach, CSc., Ústav ekológie lesa SAV, Štúrova 2, 960 53 Zvolen, Slovenská republika
e-mail: marek.barta@savba.sk, kulfan@ife.sk, zach@ife.sk

prof. Ing. Bc. Jaroslav Holuša, Ph.D., Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta lesnická a dřevařská, Katedra ochrany lesa a entomologie, Kamýcká 1176, 165 21 Praha 6 - Suchdol, Česká republika
e-mail: holusa@fld.czu.cz