

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Katedra analytické chemie

**Metoda hlavních komponent v klasifikaci shluků
patogenů lýkožrouta smrkového (*Ips typographus*;
Coleoptera: Curculionidae)**

Závěrečná práce

Autor: Mgr. Karolina Lukášová

ARCHIMEDES - Statistické zpracování dat a informatika



Školitel: Prof. RNDr. Milan Meloun, DrSc.

2012

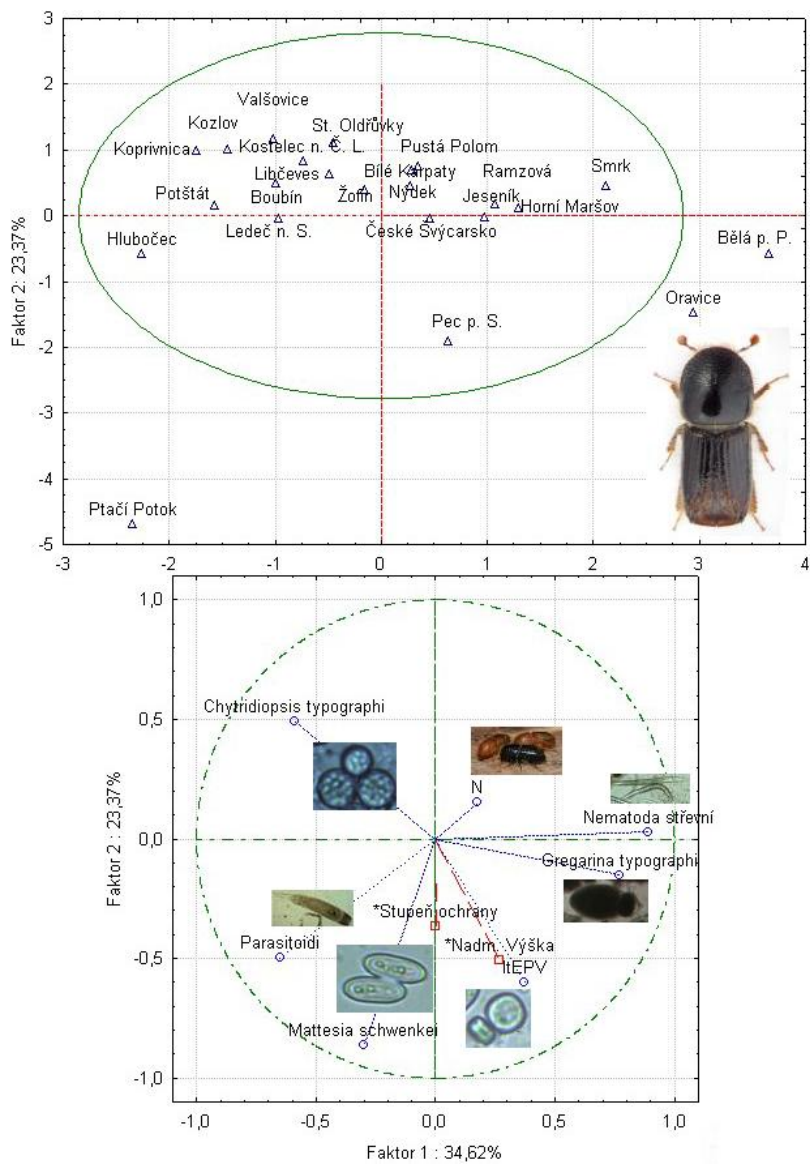
Použitá statistická metodologie: PCA analýza

Souhrn: V letech 2008-2011 jsme analyzovali infekční hladiny jednotlivých patogenů lýkožrouta smrkového na 23 lokalitách v České republice i Evropě. Celkem bylo analyzováno 17 651 brouků. Mezi nejběžnější patogeny patří střevní hlístice (průměrně u 31 % jedinců), mimostřevní hlístice (21 %), *Ch. typographi* a *G. typographi* (průměrná nákaza kolem 5 %). Druhové spektrum patogenů lýkožrouta smrkového je velmi podobné na většině studovaných lokalit s výjimkou několika extrémních hodnot danými vysokou infekcí *G. typographi* a *M. schwenkei*, které ale netvoří zřetelné shluky a jsou spíše izolované. Složení patogenních organismů lýkožrouta smrkového na jednotlivých lokalitách nevykazuje žádnou geografickou izolaci i přes značné kolísání infekčních hladin a nedochází k vzniku specifických ohnisek jednotlivých nemocí.

Novelty: Práce přináší nové poznatky o rozložení patogenů na různých lokalitách v České republice a dalších státech Evropy. Výsledky ukazují, že rozložení patogenů je srovnatelné ve všech studovaných smrkových porostech s výskytem lýkožrouta smrkového. Můžeme tedy tvrdit, že výskyt patogenních organismů nevykazuje geografické specifika ani výrazné rozdíly v distribuci. Podobné výsledky očekáváme v celém areálu výskytu lýkožrouta smrkového.

Klíčová slova: lýkožrout smrkový, virus, prvoci, mikrosporidie, PCA analýza

Grafický abstrakt:



Obsah

Obsah.....	4
1 Úvod a literární část	5
2 Teoretická část.....	7
3 Experimentální část	9
4 Výsledky a diskuse	11
4.1 Exploratorní analýza zdrojové matice	11
4.2 Faktorová analýza – FA	14
4.3 Shluková analýza – CLU.....	15
4.4 Analýza hlavních komponent - PCA.....	16
5 Závěry.....	22
6 Použitá literatura.....	23
6 Použitá literatura.....	23

1 Úvod a literární část

Lýkožrout smrkový *Ips typographus* (Linné, 1758) je nejvážnější škůdce napadající smrkové lesy (*Picea abies* L. (Karst.) v Eurasii (Christiansen & Bakke 1988). Kolonizuje živé stresované či čerstvě odumřelé stromy hromadným náletem řízeným prostřednictvím agregačního feromonu, který láká obě pohlaví (Wermelinger 2004). Aby bylo napadení úspěšné, musí být denzita brouků dostatečná k překonání odolnostního potenciálu stromu (Raffa & Berryman 1983). Počet generací lýkožroutů v jednom roce závisí na teplotních podmínkách. Ve vysokých nadmořských výškách se objevuje jedna, v nízkých polohách dvě generace ročně, za vyšších letních teplot až tři, s vrcholem letové aktivity: duben/květen, červenec a srpen/září (Wermelinger 2004).

Význam patogenů v populační dynamice lýkožroutů je často diskutován a zatím nebyl vyroben účinný prostředek založený na jejich použití a aplikovatelný v biologickém boji. Zřejmě také pro jejich nízkou efektivitu v praxi. U *I. typographus* bylo zatím zjištěno 10 patogenů (Wegensteiner 2004; Takov et al. 2010). Lýkožrouti se infikují horizontálně pozřením nakaženého trusu, zbytků těla uhynulých jedinců a kanibalismem či vertikálně – přenosem ze samice na vajíčka (Wegensteiner 2004).

Jediným virem zaznamenaným u kůrovců je *Entomopoxvirus typographi* (ItEPV). Objevuje se ve stěně střeva ve formě a bílkovinných světlolomných inkluzí (Weiser & Wegensteiner 1994; Wegensteiner & Weiser 1995). Virové částice (sendvičovitý tvar) se uvolňují výkaly (Wegensteiner 2004).

Nejběžnějším patogenem u l. smrkového je eugregarina *Gregarina typographi* (Fuchs, 1915) (Protozoa: Apicomplexa). Je lokalizována ve střední části střeva a vyznačuje se několika vzhledově odlišnými stádii (Takov et al. 2007; Holuša et al. 2009; Takov et al. 2010; Kereselidze et al. 2010). Dle posledních studií se považuje za nevirulentní patogen (Wegensteiner et al. 2010), neboť způsobená poškození střeva jsou lehce kompenzována buněčnou regenerací (Tanada & Kaya 1993). Tukové těleso l. smrkového rozkládají další dva druhy prvoků: schizogregariny (Apicomplexa, Neogregarinida) *Menzbieria chalcographi* sporulující v kulovitých cystách s 30 protáhlými člunkovitými sporami a *Mattesia schwenkei* s vejčitými sporami. Nakažení jedinci většinou nevy létají a zůstávají v chodbičkách po úživném žiru. K přenosu na nové jedince dochází až po rozložení hostitele (Weiser et al. 2000). V Malpighických trubicích a ve střevě *I. typographus* se objevuje měňavka

Malamoeba scolyti (Rhizopoda, Amoebidae) s velkými vejčitými cystami (Wegensteiner et al. 1996; Händel et al. 2001), které mohou při ucpání trubic zabránit vyměšování odpadních látek (Weiser 2002).

U kůrovců je známo několik druhů mikrosporidií, např. *Unikaryon montanum* (Weiser, Wegensteiner & Žižka, 1998) a *Nosema typographi* (Weiser, 1955) jsou nalézány v tukové tkáni, Malphigických trubicích a vaječnicích (Wegensteiner & Weiser 1996a; Wegensteiner & Weiser 2004). Promoření v populacích *I. typographus* je běžně velmi nízké, pohybuje se kolem 2% i méně (Wegensteiner & Weiser 1996b; Händel et al. 2003). Nejběžnější mikrosporidie *Chytridiopsis typographi* [(Weiser, 1954) Weiser, 1970] se vyznačuje tvorbou odolných silnostěnných cyst se 16-32 kulovitými spory (Wegensteiner 2004; Takov et al. 2010). Jedná se o nespecifický patogen napadající pouze epitel střeva řady zástupců podčeledi Scolytinae (Wegensteiner 2004; Wegensteiner & Weiser 2004; Holuša et al. 2009; Wegensteiner et al. 2010). Mezi další houbové patogeny řadíme kvasinku *Metschnikowia typographi* (Ascomycota: Metschnikowiaceae), která je příležitostný patogen v hemolymfě a střevním epitelu lýkožroutů (Weiser et al. 2003; Unal et al. 2009).

U lýkožrouta smrkového je popsáno několik druhů parazitických hlístic (Nematoda). Determinace jednotlivých druhů je obtížná, protože se uvnitř těla lýkožroutů objevují často pouze juvenilní jedinci a je nutné je dochovávat, např. larvy rodu *Parasitorhabditis* nelze od sebe rozeznat vůbec (Rühm 1956). Parazitické druhy se tělními otvory dostávají do těla brouků a najdeme je volně v hemolymfě: rody *Contortylenchus* a *Parasitylenchus*, v Malphigických trubicích: rod *Cryptaphelenchus* i ve střevě: rody *Aphelenchoides* a *Parasitorhabditis* (Rühm 1956). Průměrná nákaza kůrovců střevními hlísticemi se pohybuje kolem 50% (Wegensteiner & Weiser 1996a; Kereselidze et al. 2010).

Použití mnohorozměrné analýzy při studiu patogenů kůrovců je inovativním přístupem, protože většina autorů se patogeny zabývá pouze z faunistického hlediska bez hlubší statistické analýzy. Cílem práce je přehledná popisná statistika experimentálních dat, transformace původních znaků (skupin patogenů) do menšího počtu latentních proměnných a grafické znázornění dat i výsledků analýz. Informace získané pomocí statistických nástrojů interpretujeme v biologickém kontextu a zhodnotíme jejich dopad pro lesnickou praxi. Především se pokusíme definovat faktory ovlivňující složení patogenů lýkožrouta smrkového v Evropě.

2 Teoretická část

Pokud se chceme podívat jen na jednu vysvětlovanou proměnnou a nemáme k dispozici žádné prediktory, tak zmůžeme stěžejně něco víc než shrnutí jejích distribučních vlastností. U mnohorozměrných dat můžeme použít buď ordinační přístup představovaný metodami nepřímé gradientové analýzy (indirect gradient analysis, z nichž nejvýznamnější jsou analýza hlavních komponent - principal components analysis, PCA, detrendovaná korespondenční analýza - detrended correspondence analysis, DCA, a nemetrické mnohorozměrné škálování - nonmetric multidimensional scaling, NMDS) nebo se můžeme pokusit naše vzorky (hierarchicky) rozdělit do kompaktních oddělených skupin metodami klastrové analýzy s.l. (Lepš & Šmilauer 2000).

PCA tedy Metoda hlavních komponent je jedna z nejstarších a běžně používaných statistických metod v mnohorozměrné analýze. Poprvé byla zavedena Pearsonem již v roce 1901 a nezávisle poté Hotellingem v roce 1933 (Meloun et al. 2005).

Hlavním cílem této analýzy je redukovat původní počet proměnných nově vytvořenými (umělými) veličinami = komponenty. Komponenty jsou vzájemně nezávislé, seřazeny dle míry jejich příspěvku k vysvětlení celkového rozptylu experimentálně získaných proměnných a shrnují informaci o původních proměnných ovšem za cenu ztráty části informace. PCA analýza je citlivá na změnu měřítka a provádí se normalizace původních proměnných.

Matematicky definujeme PCA analýzu jako ortogonální lineární transformaci dat z původního do nového souřadnicového systému, jehož osy jsou tvořeny hlavními komponentami. Osy procházejí směry maximálního rozptylu, protože podmínka nezávislosti komponent vede ke kolmosti os.

Cílem analýzy hlavních komponent je zjednodušit popis skupiny vzájemně korelovaných znaků. V analýze hlavních komponent nejsou znaky děleny na závislé a nezávislé proměnné jako v regresi. Techniku lze popsat jako metodu lineární transformace původních znaků na nové, nekorelované proměnné, nazvané hlavní komponenty. Každá hlavní komponenta představuje lineární kombinaci původních znaků. Základní charakteristikou každé hlavní komponenty je její míra variability čili rozptyl. Hlavní komponenty jsou seřazeny dle důležitosti, tj. dle klesajícího rozptylu, od největšího k nejmenšímu. Většina informace o variabilitě původních dat je přitom soustředěna do první

komponenty a nejméně informace je obsaženo v poslední komponentě. Platí pravidlo, že má-li nějaký původní znak malý či dokonce žádný rozptyl, není schopen přispívat k rozlišení mezi objekty (Meloun et al. 2005)

PCA se týká rozkladu matice dat X na strukturní část TP^T a šumovou část E dle vztahu: $\mathbf{X} = \mathbf{TP}^T + \mathbf{E}$. T je matice komponentního skóre a P je matice komponentních vah, E je matice reziduí. Modelem hlavních komponent PCA nazýváme součin TP^T . Matice reziduí E není část modelu – jedná se o modelem nevysvětlené části dat X a jedná se o míru netěsnosti proložení původních reálných dat počítačovým modelem.

Model hlavních komponent PCA vypočteme dle vzorce:

$$\mathbf{X} = \mathbf{t}_1\mathbf{p}_1^T + \mathbf{t}_2\mathbf{p}_2^T + \dots + \mathbf{t}_A\mathbf{p}_A^T + \mathbf{E}$$

Výpočet probíhá v několika krocích, nejprve vypočítáme t_1 a p_1 z X a dosadíme $E_1 = X - t_1p_1^T$. Následuje vyčíslení $E_2 = E_1 - t_2p_2^T$ a pokračujeme dále po $E_A = E_{A-1} - t_{A-1}p_{A-1}^T$. Tímto způsobem tedy vyčísíme všech A komponent $= A = \min(n, m)$. Tímto postupem snížíme počet proměnných i dimenzionalitu a rozdělíme původní matici dat na strukturní TP^T a šumovou část E . Hledáme optimální počet hlavních komponent, abychom dosáhli nejlepšího proložení a matice byla co nejmenší. Čím nižší hodnota E tím lepšího modelu jsme dosáhli.

3 Experimentální část

Největší komplikací při studiu patogenů kůrovců je nalezení lokalit s dostatečným promořením populací. Pokud je populační hustota brouků nízká a navíc se jedná o hospodářské lesy s intenzivním hospodářským managementem, je infekční hladina i druhové spektrum patogenních organismů malé. Naopak v lesních komplexech bez managementu a s vysokými populačními hustotami kůrovců, dochází k nahuštění patogenů a jejich intenzivnímu předávání. V letech 2008-2011 byla sledována infekční hladina jednotlivých patogenů na 23 lokalitách v České republice i Evropě (viz. Tabulka 1).

Brouci byli odebíráni dvěma metodami:

- 1) z feromonových lapačů: brouci byli hromadně sesypáni do 2 dcl plastových lahví
- 2) z lapáků (pokácený a odvětvený smrk ztepilý): individuálně po rodinách pomocí exhaustoru z půl až metrových sekcí stromu (nejčastěji 4 sekce: I. 0,5m od paty kmene, II. v polovině kmene, III. začátek zeleného větvení, IV. polovina koruny), šířka sekce se rovna polovině obvodu kmene

Pro každou lokalitu a období odběru vzorků bylo shromážděno vždy maximum brouků z každé půlmetrové sekce stromu a alespoň 30 brouků z lapače. Čas odběru z lapačů byl určen na základě letové aktivity brouků obou generací (květen a červenec), z lapáků pak později během rozvoje požerků pod kůrou (nejčastěji červen a srpen). Výzkum byl zaměřen vždy na matečné (rodičovské) brouky, protože patogeny se snadněji zjišťují u dospělých brouků (Wegensteiner & Weiser 1996b).

Odebrané vzorky lýkožrouta smrkového byli spolu s kouskem navlhčené vaty (= udržení vlhkosti ve vzorcích) uloženi v plastových 2,5 ml nádobách typu Eppendorf do chladu při -5°C. Brouky jsme postupně pitvali pomocí chirurgických pinzet do připravené kapky vody na podložním skle. Vzorky byly analyzovány pod světelným mikroskopem Arsenal LPE 5013i-T při zvětšení 100x – 400x. Inspekce se zaměřila především na vnitřní orgány: trávicí soustavu, Malphigické trubice, gonády a tukové těleso, kde jsou patogeny nejčastěji nalézány. Z každé pitvy byl veden detailní záznam o přítomnosti patogenních organismů do připraveného formuláře. Pozornost byla věnována mimo jiné houbám, prvokům, virům, hlísticím a endoparazitoidům. Pozitivní nálezy byly vyfotografovány a proměřeny v programu Atlas 3.5.12.0.

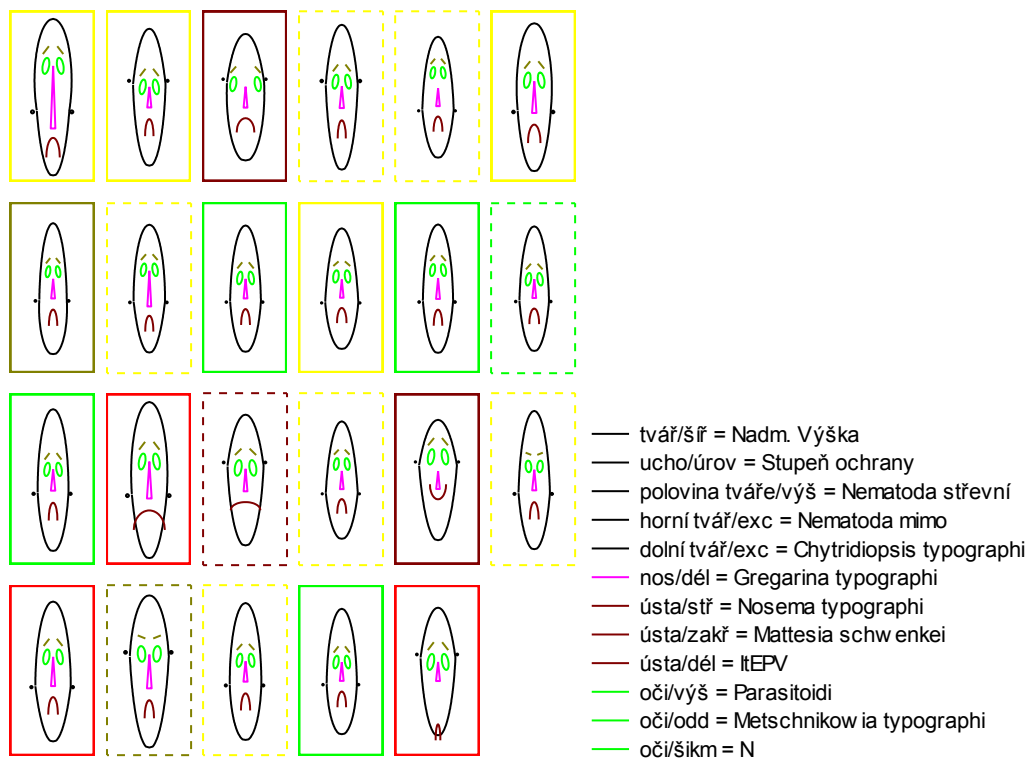
Získaná data byla převedena do tabulkového procesoru MS Excel 2007, průměrné infekční hladiny zaokrouhleny na 2 desetinná místa. Poté byla data graficky a statisticky vyhodnoceny v programu Statistica 9. Při analýzách byla vždy sledována základní popisná statistika a následně provedeny další pokročilé analýzy určující struktury a vzájemné vazby mezi znaky na studovaných lokalitách (analýza hlavních komponent, shluková a faktorová analýza). Grafický abstrakt byl zpracován v programu Adobe Photoshop 7.0 CE.

4 Výsledky a diskuse

4.1 Exploratorní analýza zdrojové matice

Pomocí ikonových grafů jsme nejdříve data graficky znázornili a kategorizovali do skupin (podle stylu rámečku). Chernoffovy tváře charakterizují každou jednotlivou složku vektoru nějakým znakem, který je součástí schématu tváře. V našich datech je celkem 12 různých znaků vysvětlených v Grafu 1. Například délka nosu určuje hladinu infekce u střevních hlístic a výška očí hladinu infekce eugregarinou *Gregarina typographi*. Podobně znázorňuje jednotlivé proměnné graf hvězdy (Graf 2).

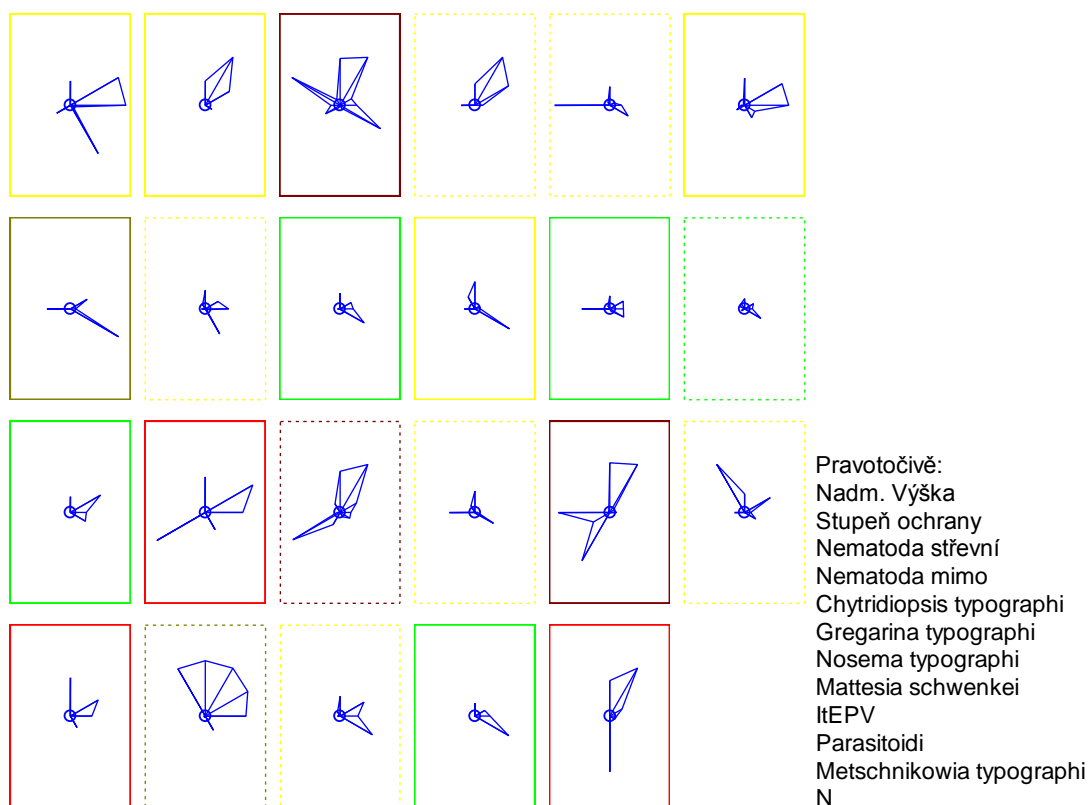
Graf 1 Ikonový graf - Chernoffovy tváře.



Souhrné statistiky zahrnující průměry, minima, maxima a směrodatné odchylky jsou zobrazeny v Tabulce 1 a zobrazeny v Grafu 3. Celkem bylo analyzováno 17 651 jedinců *I. typographus*. Patogenní organismus s nejvyšším průměrem 30,99 % jsou střevní hlístice (také největší rozptyl hodnot), které byly zaznamenány na všech studovaných lokalitách. Následované mimostřevními hlísticemi s průměrnou nákazou 21,07 %. Na některých lokalitách v Evropě jsou infekce hlísticemi i vyšší (Wegensteiner & Weiser 1996a; Kereselidze et al. 2010)

Dva nejběžnější mikroorganismy ve střevě brouků jsou *Chytridiopsis typographi* a *Gregarina typographi* (Wegensteiner 2004; Takov et al. 2010). To potvrzuje i naše analýza s průměrnými hodnotami infekční hladiny kolem 5 %. Stejně jako jiné patogeny, na některých lokalitách zaznamenány byly na jiných ne. Srovnání proměnlivosti všech faktorů – patogenů zobrazuje Graf 3.

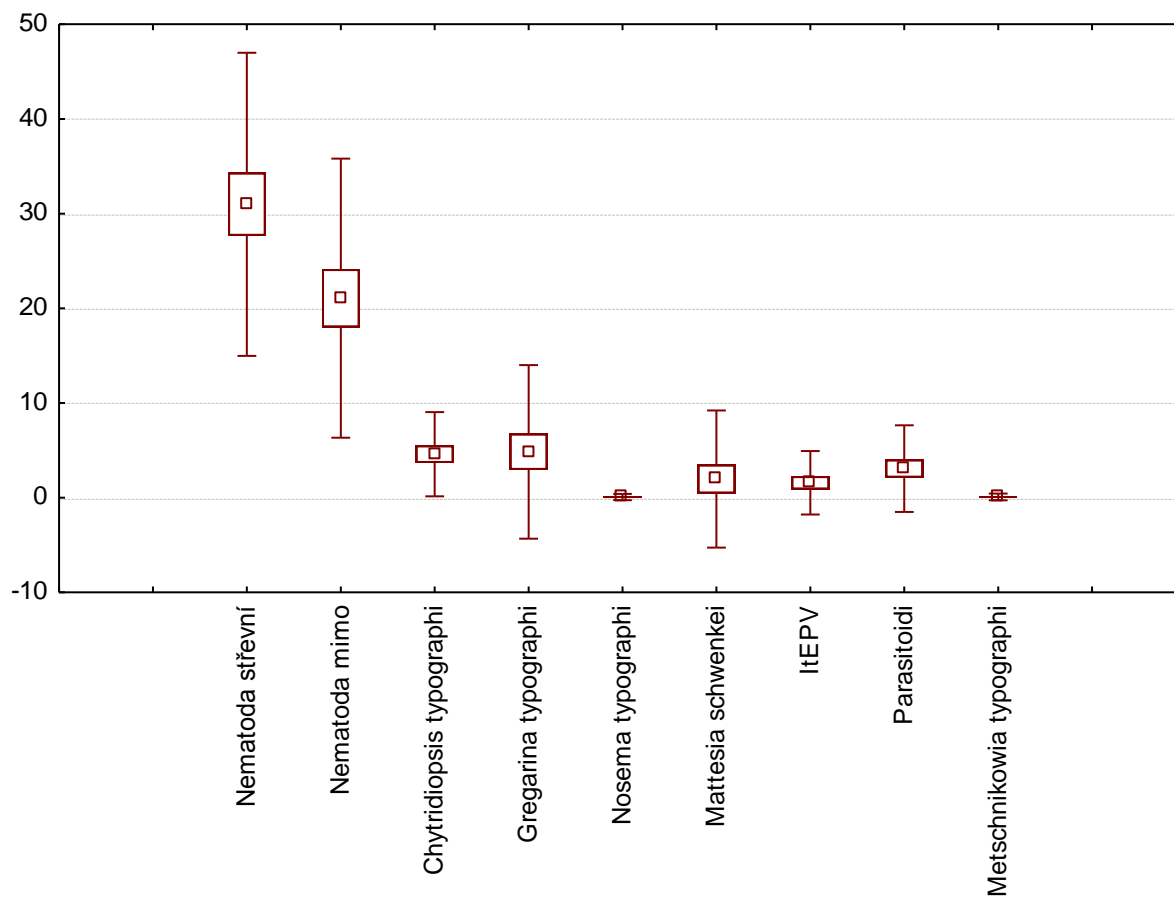
Graf 2 Ikonový graf - Hvězdičky.



Tabulka 1 Souhrné statistiky aktivních i doplňkových kvantitativních proměnných.

Proměnná	Popisné statistiky (Celková tabulka)				
	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.
Nadm. Výška	23	575,6522	120,0000	1100,000	243,195
Stupeň ochrany	23	0,3043	0,0000	1,000	0,470
Nematoda střevní	23	30,9892	8,3994	62,090	16,006
Nematoda mimo	23	21,0709	3,9216	60,339	14,733
Chytridiopsis typographi	23	4,5934	0,0000	14,865	4,447
Gregarina typographi	23	4,8444	0,0000	38,530	9,164
Nosema typographi	23	0,0691	0,0000	1,590	0,332
Mattesia schwenkei	23	1,9703	0,0000	34,153	7,245
ItEPV	23	1,5731	0,0000	11,540	3,349
Parasitoidi	23	3,0743	0,0000	15,869	4,576
Metschnikowia typographi	23	0,0820	0,0000	1,732	0,361
N	23	767,4348	42,0000	5221,000	1434,956

Graf 3 Boxplot jednotlivých patogenních organismů u *Ips typographus*. Krabici tvoří průměr (čtverec) \pm směrodatná chyba, svorka označuje směrodatnou odchylku od průměru.

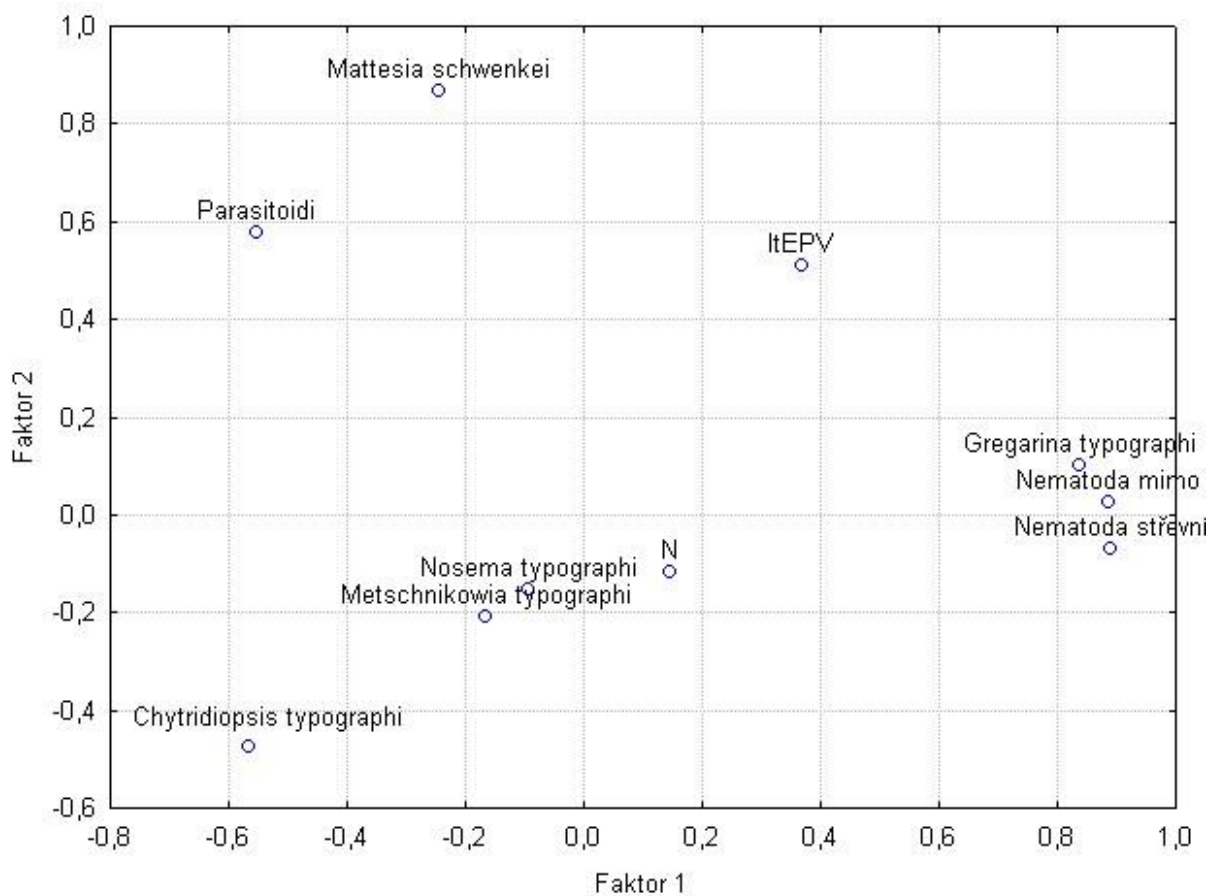


4.2 Faktorová analýza – FA

Faktorová analýza se také pokouší redukovat počet proměnných v datech, na rozdíl od PCA však můžeme vysvětlit závislost proměnných.

Pomocí faktorových zátěží pro 2 faktory (nad hodnotou 1, Graf 4) poznáme i korelaci s původními znaky. Pomocí grafického znázornění jsme zjistili silnou korelaci mezi infekčními hladinami obou typů hlístic a *G. typographi* a také korelaci mezi *N. typographi* a *M. typographi* (Graf 4). Druhá zmíněná korelace je zřejmě dána nízkou infekční hladinou a nízkou frekvencí obou patogenů na studovaných lokalitách.

Graf 4 Faktorové zátěže Faktor 1 k Faktoru 2.

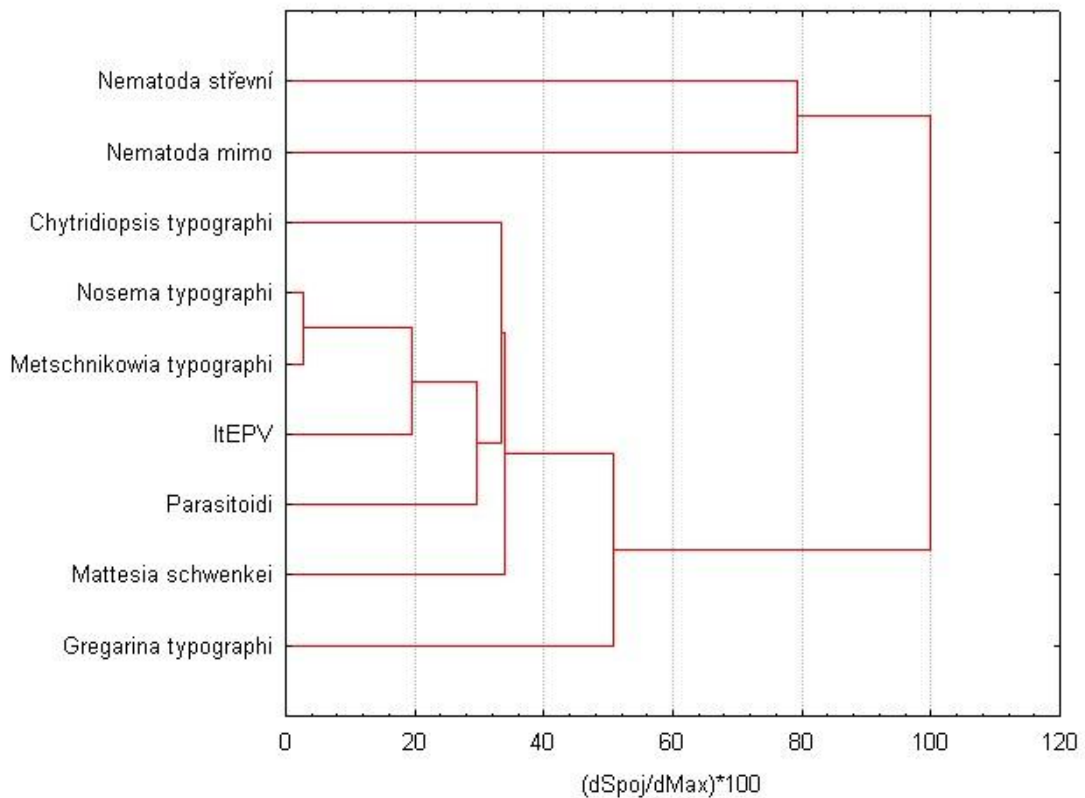


4.3 Shluková analýza – CLU

Shluková analýza patří mezi metody zabývající se zkoumáním podobnosti objektu, u nichž známe několik proměnných.

Euklidovská vzdálenost vyjadřuje vzdálenost mezi dvěma objekty. Data můžeme rozdělit na 2 hlavní shluky. První tvoří patogenní organismy náležící mezi parazitické hlístice, druhý shluk mikrobiální patogeny a parazitoidi. Na jedné straně tohoto shluku jsou prvoci (*G. typographi* a *Mattesia schwenkei*), druhou tvoří mikrosporidie (*Ch. typographi* a *N. typographi*), virus (*ItEPV*), parazitoidi a kvasinka *M. typographi*. (Graf 5).

Graf 5 Verikální graf hierarchického stromu po standartizaci.



4.4 Analýza hlavních komponent - PCA

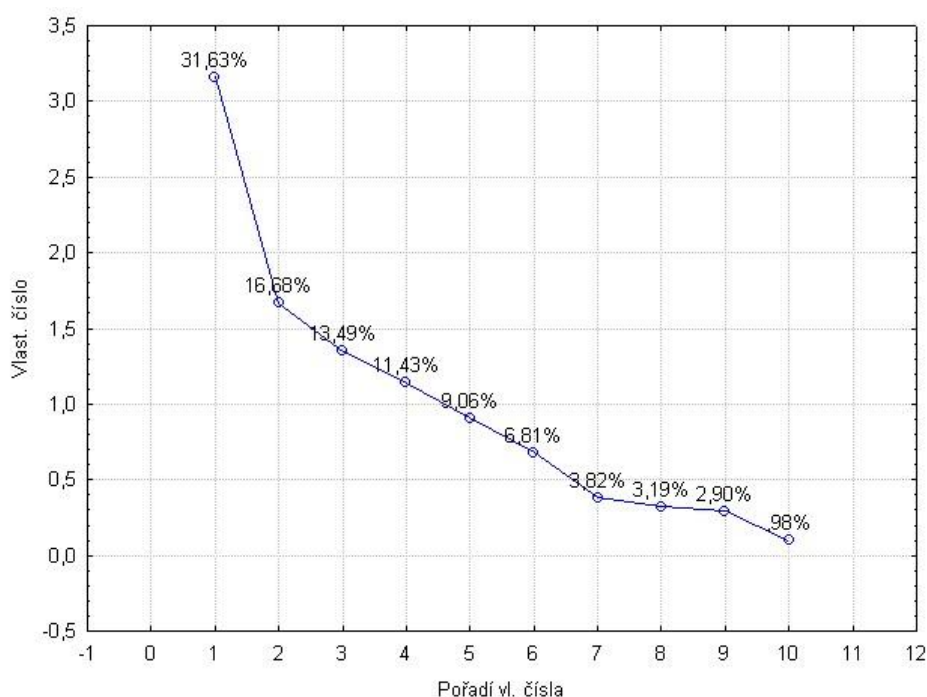
Největší vlastní číslo pokrývá 31,63 % proměnlivosti dat, druhé vlastní číslo 16,68 % (Graf 6). Podle Kaiserova kritéria dosahují první 4 hlavní komponenty vlastních čísel vyšších než 1.0 (Graf 6), čili hodnota zdrojové matice je 4.

Většinou se požaduje součet prvních nejvyšších komponent dosahující 85-92%. První dvě komponenty vysvětlují celkem 48,31 % variability v datech, první čtyři celkem 73,23 % (Graf 6). Graf komponentních vah pro první 2 komponenty (Graf 7) nám ukazuje, že spolu korelují infekční hladiny střevních a mimostřevních hlístic – tvoří shluky (stejně jako nám ukázala FA a CLU analýza), zároveň tyto dvě proměnné vykazují slabou korelaci s *G. typographyi*. Podobně slabě korelují infekční hladiny *N. typographyi* a *M. typographyi*.

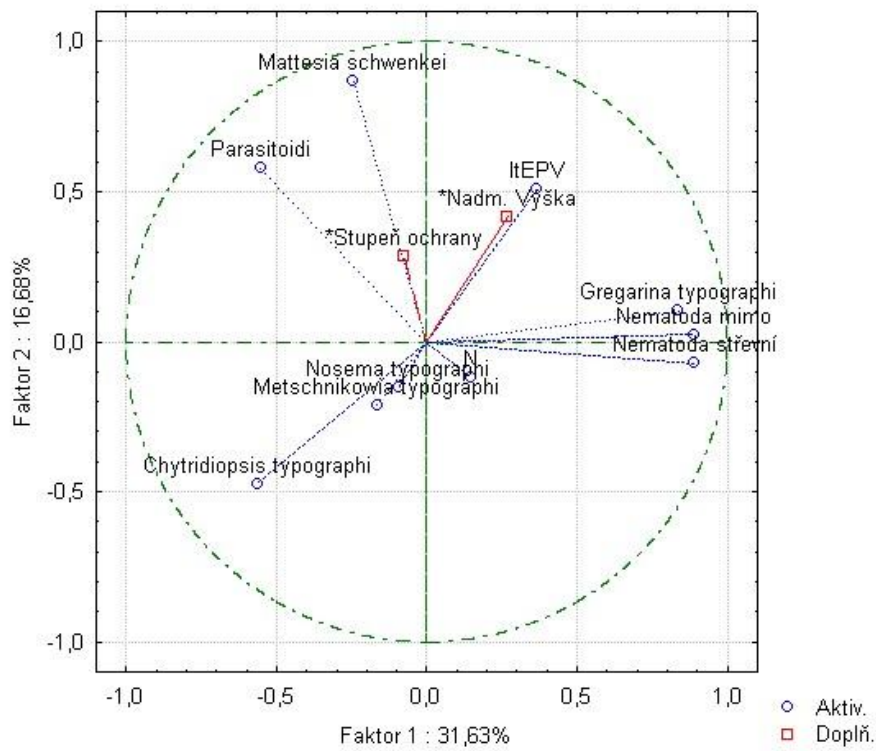
Pro první komponentu má nejvyšší přínos faktor infekční hladiny hlístic a *G. typographyi*, pro druhou komponentu je to infekční hladina *M. schwenkei*.

Vzhledem ke korelaci proměnných jsme se rozhodli z další analýzy vyloučit proměnnou mimostřední hlístice a obě proměnné *N. typographyi* a *M. typographyi* vzhledem k jejich nízké frekvenci na studovaných lokalitách, což je běžný jev i v dalších studiích (Wegensteiner & Weiser 1996a; Händel et al. 2003). Provedli jsme PCA analýzu znovu.

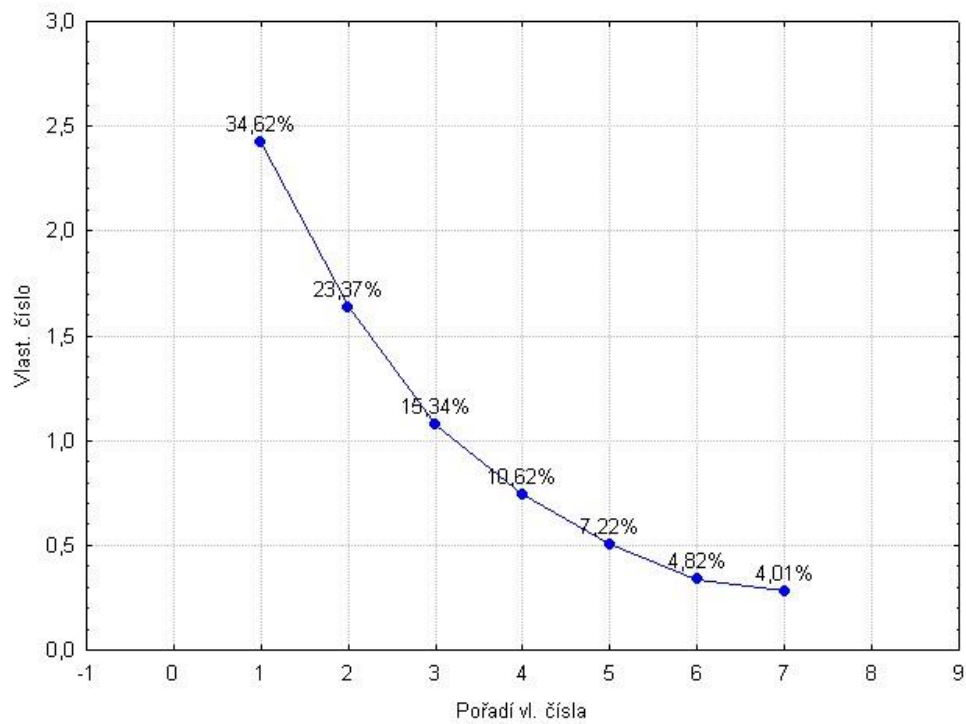
Graf 6 Cattelův indexový diagram vlastních čísel.



Graf 7 2D graf projekce proměnných do faktorové roviny.

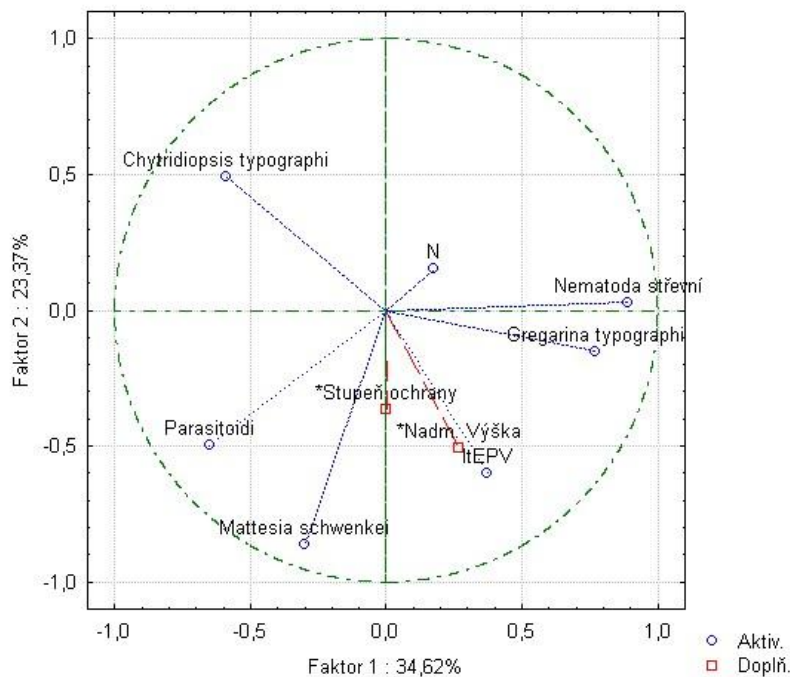


Graf 8 Upravený Cattellův indexový diagram vlastních čísel.



Po odstranění korelovaných proměnných pokrývá nejvyšší vlastní číslo 34,62 % proměnlivosti dat, druhé vlastní číslo 23,37 % a třetí 15,34 % (Graf 8). Kaiserova kritéria dosahují tedy již pouze 3 hlavní komponenty. Součet těchto komponent je 73,33 %, což je procento vysvětlení variability v datech, což nám postačí pro další analýzu.

Graf 9 2D graf projekce proměnných do faktorové roviny (Faktor 1 ku Faktoru 2).

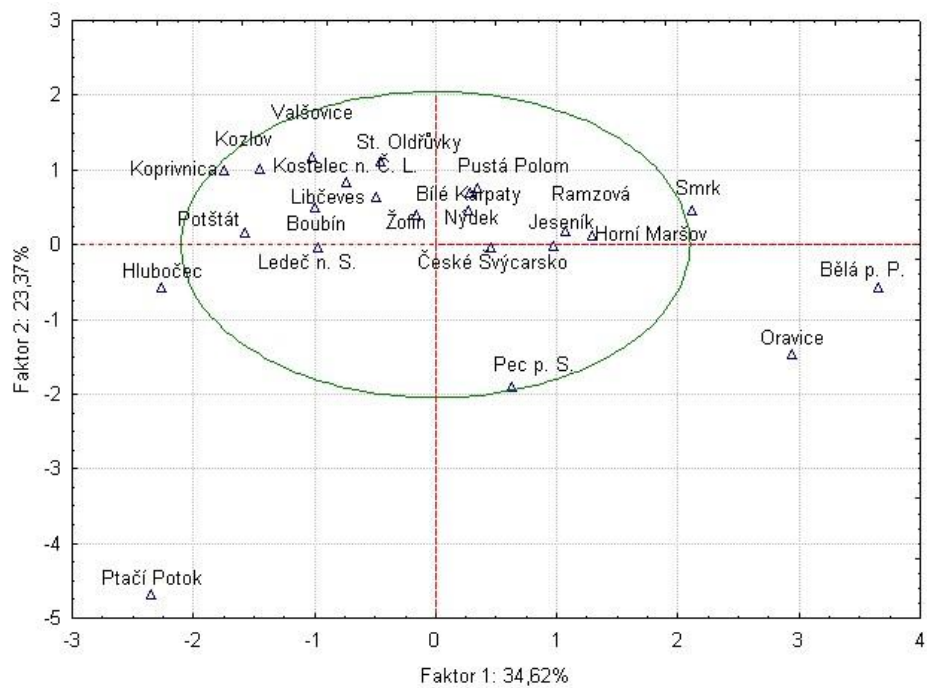


První komponenta určuje nejvíce *G. typographi* a přítomnost hlístic. Druhá komponenta je určena infekční hladina *Ch. typographi* (Graf 9).

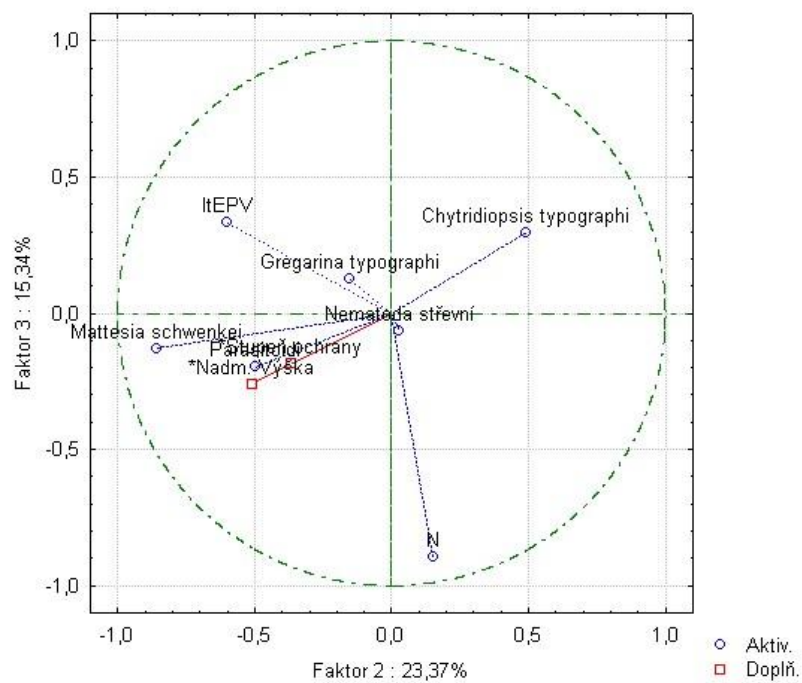
Lokality tvoří jeden velký dominantní shluk, ze kterého vybočují lokality Bělá pod Pradědem a Oravice, protože se vyznačují nejvyšší hladinou infekce *G. typographi*. Mimo shluk je rovněž také lokalita Ptačí Potok ze Šumavy, kde probíhal odběr v pozdním létě a vyskytovala se zde dominantně *M. schwenkei* jako patogen tukového tělesa. Odběr proběhl, když už část matečných brouků opustila pozerky. Brouci nakažení touto nemocí zůstávají v matečných chodbách a hladina infekce tak byla vysoká (Weiser et al. 2000).

Třetí komponentu pak určuje infekční hladina viru *ItEPV* a *Ch. typographi* (Graf 11), proto vyško k vybočení lokalit Oravice a Pec pod Sněžkou, kterou charakterizovali vysoké hladiny těchto patogenů. Lokality Smrk a Pustá Polom se dostaly mimo hlavní shluk na Grafu 12 kvůli extrémně vysokému počtu studovaných jedinců oproti jiným studiím (proměnná N).

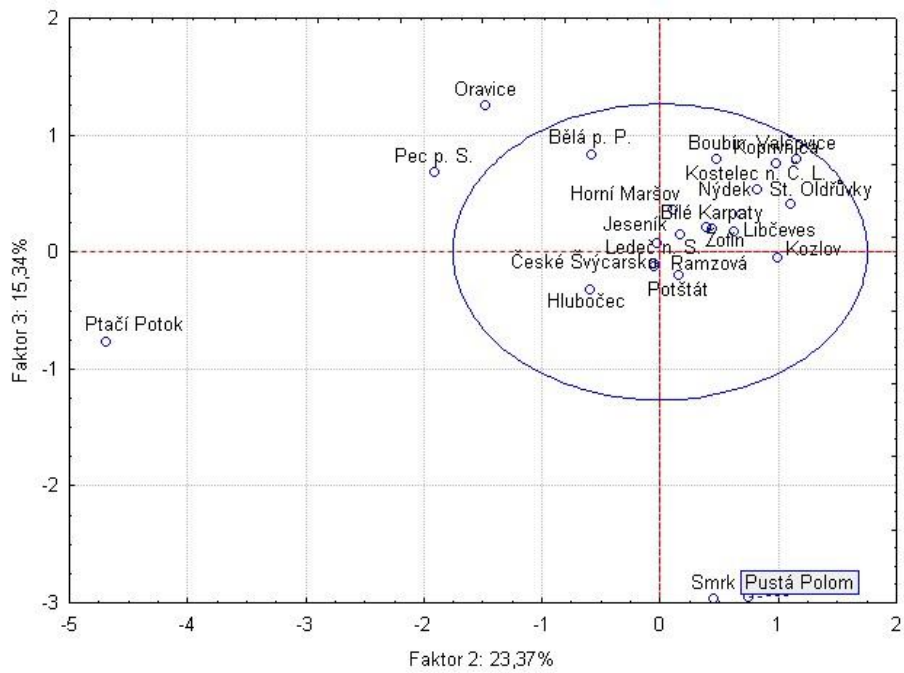
Graf 10 Projekce případů do faktorové roviny.



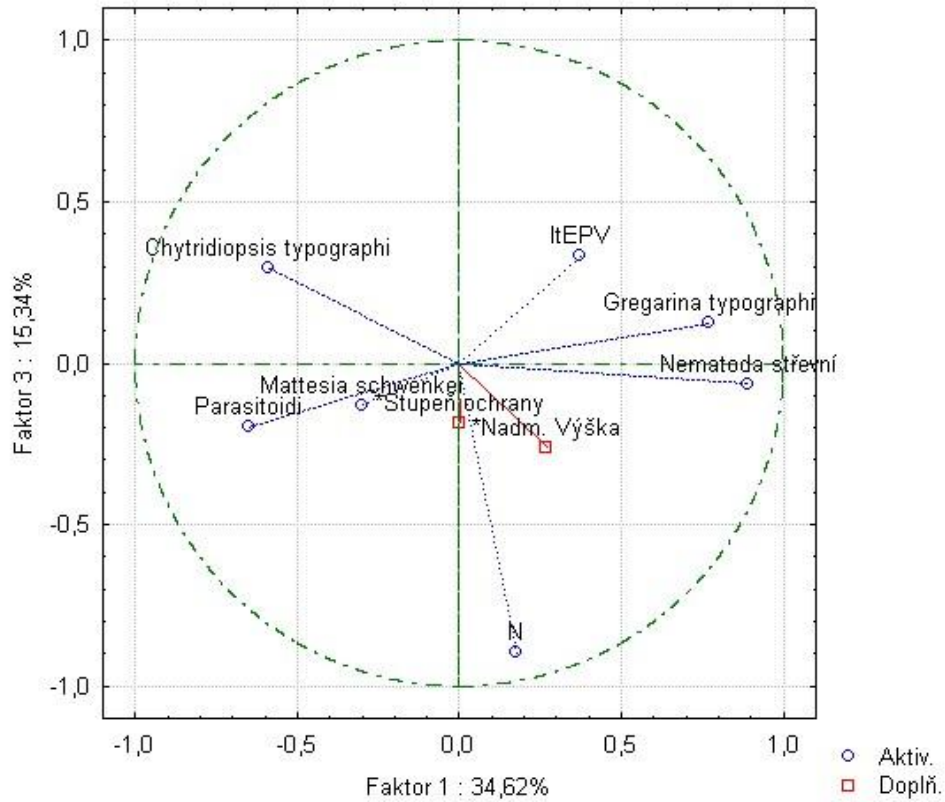
Graf 11 2D graf projekce proměnných do faktorové roviny (Faktor 2 ku Faktoru 3).



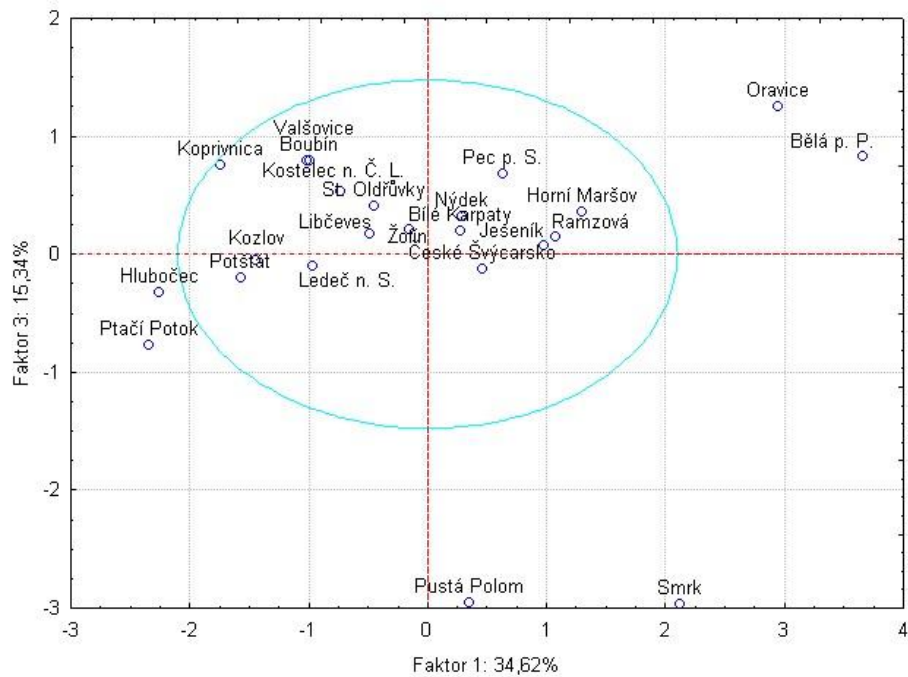
Graf 12 Projekce případů do faktorové roviny.



Graf 13 2D graf projekce proměnných do faktorové roviny (Faktor 1 ku Faktoru 3).



Graf 14 Projekce případů do faktorové roviny.



Výsledky statistické i grafické analýzy potvrzují předchozí výzkumy založené pouze na tabulkovém hodnocení (Weiser 2002), že nedochází k výraznému zoogeografickému teritoriálnímu nebo výškovému členění patogenních organismu u lýkožrouta smrkového, ani ke vzniku specifických ohnisek omezenými územními celky. Infekční nákazy sice varíují stejně jako jednotlivé frekvence patogenů. Tato kolísání však nejsou dostatečně statisticky průkazná.

5 Závěry

- na většině lokalit se objevují nejběžnější patogeny lýkožroutů rodu *Ips*: gregarina *G. typographi*, *Ch. typographi* a parazitické hlístice
- ostatní patogeny se vyskytují ve většinou v nízkých frekvencích a navíc některé spolu koreluje (střevní s mimostřevními hlísticemi a *G. typographi* či *N. typographi* s *M. typographi*)
- složení patogenů lýkožrouta smrkového (*Ips typographus*) je srovnatelné na většině studovaných lokalit
- neexistuje specifická geografická izolovanost jednotlivých lokalit ani specifické oblasti charakterizované jedním patogenem s výjimkou lokalit s vysokou infekční hladinou *G. typographi* (Bělá pod Pradědem, Oravice) a *M. schwenkei* (Ptačí Potok).

6 Použitá literatura

- Händel U., Kenis M. & Wegensteiner R. 2001: Untersuchungen zum Vorkommen von Pathogenen und Parasiten in Populationen überwinternder Fichtenborkenkäfer (Col., Scolytidae). *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie*, 13: 423-428.
- Händel U., Wegensteiner R., Weiser J. & Žižka Z. 2003: Occurrence of pathogens in associated living bark beetles (Col., Scolytidae) from different spruce stands in Austria. *Journal of Pest Science*, 76: 22-32.
- Holuša J., Weiser J. & Žižka Z. 2009: Pathogens of the spruce bark beetles *Ips typographus* and *Ips duplicatus*. *Central European Journal of Biology*, 4: 567-573.
- Christiansen E. & Bakke A. 1988: The spruce bark beetle of Eurasia. In: Berryman A. A. (Ed.), *Dynamics of Forest Insect Populations; Patterns, Causes, Implications*. Plenum Press, New York, pp. 479-503.
- Kereselidze M., Wegensteiner R., Goginashvili N., Tvaradze M. & Pilarska D. 2010: Further studies on the occurrence of natural enemies of *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Georgia. *Acta Zoologica Bulgarica*, 62: 131-139.
- Lepš J. & Šmilauer P. 2000: *Mnohorozměrná analýza ekologických dat*. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, České Budějovice, 102 pp.
- Meloun M., Militký J. & Hill M. 2005: *Počítačová analýza vícerozměrných dat*. Academia, Praha, 450 pp.
- Raffa K. F. & Berryman A. A. 1983: The role of host plant resistance in the colonization behavior and ecology of bark beetles (Coleoptera: Scolytidae). *Ecological Monographs*, 53: 27-49.
- Rühm W. 1956: *Die Nematoden der Ipiden: Parasitologische Schriftenreihe, 6*. Veb Gustav Fischer Verlag, Jena, 437 pp.
- Takov D., Doychev D., Wegensteiner R. & Pilarska D. 2007: Study on the pathogens of bark beetles (Coleoptera, Scolytidae) from different coniferous stands in Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica*, 59: 87-96.

- Takov D., Pilarska D. & Wegensteiner R. 2010: List of protozoan and microsporidian pathogens of economically important bark beetle species (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Europe. *Acta Zoologica Bulgarica*, 62: 201-209.
- Tanada Y. & Kaya H. K. 1993: Protozoan infection: Apicomplexa, Microspora. In: *Insect Pathology*, Academic Press, San Diego, pp. 414-458.
- Unal S., Yaman M., Tosun O. & Aydin C. 2009: Occurrence of *Gregarina typographi* (Apicomplexa, Gregarinidae) and *Metschnikowia typographi* (Ascomycota, Metschnikowiaceae) in *Ips sexdentatus* (Coleoptera: Cucculionidae, Scolytinae) populations in Kastamonu (Turkey). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8: 2687-2691.
- Wegensteiner R. 2004: Pathogens in bark beetles, In: Lieutier F., Day K. R., Battisti A., Grégoire J. C., Evans H. F. (Eds.), *Bark and wood boring insects in living trees in Europe*, Asynthesis. Kluwer, Dordrecht, pp. 291–313.
- Wegensteiner R., Dedryver C.-A. & Pierre J.-S. 2010: The comparative prevalence and demographic impact of two pathogens in swarming *Ips typographus* adults: a quantitative analysis of long term trapping data. *Agricultural and Forest Entomology*, 12: 49-57.
- Wegensteiner R. & Weiser J. 1995: A new *Entomopoxvirus* in the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 65: 203-205.
- Wegensteiner, R. & Weiser, J. 1996a: Untersuchungen zum Auftreten von Pathogen by *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) aus einem Natwschutzgebiet in Schwarzwald (Baden-Württemberg). *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz*, 69, 162–167.
- Wegensteiner R. & Weiser J. 1996b: Occurrence of *Chytridiopsis typographi* (Microspora, Chytridiopsida) in *Ips typographus* L. (Col., Scolytidae) field population and in a laboratory stock. *Journal of Applied Entomology*, 120: 595-602.
- Wegensteiner R. & Weiser J. 2004: Annual variation of pathogen occurrence and pathogen prevalence in *Ips typographus* L. (Col, Scolytidae) from the BOKU University Forest Demonstration Centre. *Journal of Pest Science*, 77: 221-228.

- Wegensteiner R., Weiser J. & Führer E. 1996: Observations on the occurrence of pathogens in the bark beetle *Ips typographus* L. (Coleoptera, Scolytidae). *Journal of Applied Entomology*, 120: 199-204.
- Weiser J. 2002: Patogenní organismy. In: Skuhrový V. (Ed.), *Lýkožrout smrkový (Ips typographus L.) a jeho kalamity*. Agrospoj, Praha. pp. 97-100.
- Weiser J., Pultar O. & Žižka Z. 2000: Biological protection of forest against bark beetle outbreaks with poxvirus and other pathogens. *IUAPPA, Section B*: 168-172.
- Weiser J. & Wegensteiner R. 1994: A new *Entomopoxvirus* in the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera, Scolytidae) in Czechoslovakia. *Zeitschrift für angewandte Zoologie*, 80: 425-434.
- Weiser J., Wegensteiner R., Händel U. & Žižka Z. 2003: Infections with the Ascomycete *Metschnikowia typographi* n. sp. in the bark beetle *Ips typographus* and *Ips amitinus* (Col., Scolytidae.). *Folia Microbiologica* 48: 611-618.
- Wermelinger B. 2004: Ecology and management of the spruce bark beetle *Ips typographus* – a review of recent research. *Forest Ecology and Management*, 202: 67-82.