

## Sušenje jelovih krošenj zaradi gliv povezanih s *Pityokteines vorontzowi*

Ana BRGLEZ<sup>1\*</sup>, Barbara PIŠKUR<sup>1</sup>, Andreja KAVČIČ<sup>1</sup>

### Uvod

Podlubniki (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) pogosto živijo v sožitju (simbiozi) z glivami iz redov *Ophiostomatales* in *Microascales* (Jankowiak in sod., 2017). Koristi od tovrstne povezave imajo pogosto oboji. Glive podlubnikom predstavljajo vir hranil oziroma pomagajo pri razgradnji in absorpciji hranil iz lesa, razgrajujejo snovi, ki jih gostiteljska drevesa uporabljajo v obrambnih mehanizmi in lahko posledično privabljajo podlubnike na gostiteljska drevesa, kjer so pogoji za napad ugodnejši ter nenazadnje ščitijo svojega partnerja (podlubnika) pred okužbami z drugimi, zanj patogenimi, glivami (Ranger in sod., 2018; Kandasamy in sod., 2023). Po drugi strani pa glivam sobivanje s podlubniki predstavlja možnost razširjanja na nove gostitelje oziroma nove lokacije.

Glive, ki so vključene v simbiozo s podlubniki, lahko povzročajo boleznim gostiteljskih dreves (npr. traheomikoze – boleznim prevodnega sistema kot je holandska brestova bolezen, ki jo povzročata glivi *Ophiostoma ulmi* (Buisman) Nannf. in *O. novo-ulmi* Brasier, katere prenašalca sta veliki brestov beljavar (*Scolytus scolytus* Fabricius) in mali brestov beljavar (*S. multistriatus* Marsham)) in znižujejo ekonomsko vrednost lesa (npr. modrenje lesa). Pogosti simbioziti podlubnikov so tudi glive iz rodu *Geosmithia* Pitt (Jankowiak in Bilański, 2018). Trenutno najbolj aktualen primer je bolezen tisočerih rakov na oreh, ki jo povzroča gliva *G. morbida* M. Kolařík, Freeland, C. Utley & Tisserat, ki jo prenaša orehov vejni lubadar (*Pityophthorus juglandis* Blackman).

V literaturi lahko najdemo številne raziskave, ki preučujejo povezave gliv in podlubnikov, ki povzročajo sušenje drevja in predstavljajo veliko tveganje za zdravje gozdov. V Sloveniji se je omenjene povezave raziskovalo predvsem na smrekah (Repe in sod., 2013). Namen tega prispevka pa je identifikacija in predstavitev simbioze med jelovimi podlubniki in glivami odgovornimi za sušenje jelk v Trnovskem gozdu.

### Metode dela

Novembra 2022 smo bili obveščeni o izrazitem sušenju krošenj navadnih jelk v Trnovskem gozdu (X: 405816 m, Y: 94677 m). Skupinsko sušenje jelk je bilo na tem mestu opaženo že v aprilu 2022.

Vzorke za analizo nam je posredoval Zavod za gozdove Slovenije. Prejeli smo kose vej bele jelke (*Abies alba* Mill.) z znaki napada jelovih podlubnikov (smoljenje in luknjice v skorji). Prejete vzorce smo v Laboratoriju za varstvo gozdov Gozdarskega inštituta Slovenije

(GIS) natančno pregledali. V skorji so bili prisotni številni rovni sistemi, v katerih smo našli ličinke, bube in hrošče podlubnikov. Na mestih napada podlubnikov so bila v skorji in lesu prisotna rjava obarvanja okrogle in ovalne oblike. Odrasle osebkke oz. hrošče podlubnikov smo identificirali do vrste z morfološko metodo za določanje žuželk z uporabo stereo lupe Olympus SZX16 in s pomočjo določevalnih ključev (Grüne, 1979; Freude in sod., 1981; Pfeffer, 1995).

Odrasle osebkke podlubnikov in obarvane koščke lesa smo v nadaljevanju uporabili za analizo na prisotnost gliv. Koščke lesa velikosti približno 2 × 2 mm in podlubnike smo brez predhodne površinske sterilizacije nacepili na PDA (angl. potato dextrose agar) gojišča z dodanim antibiotikom Streptomycin in izraščajoče glive izolirali v čiste kulture. Kulture smo po sedmih dneh inkubacije pri 24 °C glede na morfološke značilnosti razvrstili v morfotipe. Reprezentativno kulturo posameznega morfotipa smo identificirali s pomočjo molekularnih metod, in sicer z določanjem nukleotidnega zaporedja regije ITS-rDNA ter primerjavo z referenčnimi zaporedji v javno dostopni bazi GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Kulture gliv smo deponirali v Zbirko trajnih kultur Laboratorija za varstvo gozdov (ZLVG) na GIS, nukleotidna zaporedja pa v podatkovno bazo GenBank (Tabela 1).

### Rezultati

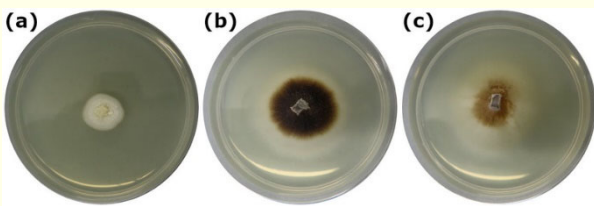
Na podlagi morfoloških lastnosti odraslih osebkov oz. hroščev, ki smo jih našli v rovnih sistemih v skorji, smo ugotovili, da gre za Vorontzowovega vejnega lubadarja (*Pityokteines vorontzowi* (Jakobson, 1895)). Hrošči te vrste imajo na koničniku pet parov zobcev. Zobca prvega para (suturalna zobca) sta koničasta in usmerjena poševno navzgor, zobci drugega in petega para so veliki in usmerjeni vodoravno. Zobca drugega para sta močno odebeljena in koničasta ter nekoliko ukrivljena navznoter. Zobca petega para sta ozka in zašiljena. Zobci tretjega in četrtega para so majhni in bolj spominjajo na nekakšne grbice (Slika 1).

Z izolacijami iz podlubnikov in koščkov lesa smo pridobili 17 čistih kultur, ki smo jih razvrstili v pet morfotipov in na podlagi nukleotidnih zaporedij identificirali tri različne vrste gliv (Tabela 1, Slika 2).

<sup>1</sup> Gozdarski inštitut Slovenije, Večna pot 2, 1000 Ljubljana; \*ana.brglez@gozdis.si



Slika 1: Vorontzowov vejni lubadar (*Pityokteines vorontzowi*)



Slika 2: Reprezentativne kulture izoliranih gliv: a) *Ceratocystiopsis* sp., b) *Geosmithia* sp. 9 in c) *Ophiostoma pityokteinis* po sedmih dneh inkubacije pri 24 °C na PDA gojišču.

Tabela 1: Frekvenca (%) izoliranih vrst gliv iz podlubnikov in lesa *Abies alba* ter pripadajoče šifre v ZLVG in GenBank.

|                                | Frekvenca (%) |      |        | ZLVG | GenBank  |
|--------------------------------|---------------|------|--------|------|----------|
|                                | Podlubniki    | Les  | Skupaj |      |          |
| <i>Ceratocystiopsis</i> sp.    | /             | 3,6  | 3,6    | 1007 | OQ570959 |
| <i>Geosmithia</i> sp. 9        | 16,7          | 18,8 | 17,9   | 1006 | OQ569485 |
| <i>Ophiostoma pityokteinis</i> | 41,7          | 37,5 | 39,3   | 1005 | OQ570958 |

## Razprava

Glivi *Geosmithia* sp. 9 in *O. pityokteinis* smo izolirali iz podlubnikov *Pityokteines vorontzowi* in lesa, medtem ko smo *Ceratocystiopsis* sp. izolirali le iz lesa vzorčene veje *A. alba*.

Najpogosteje izolirana glivna vrsta v naši raziskavi *O. pityokteinis* ima specifičnega rastlinskega gostitelja (*A. alba*) in različne žuželčje vektorje (*Pityokteines curvidens*, *P. vorontzowi*, *Cryphalus piceae*) (Jankowiak in sod., 2019). Gliva je bila opisana na Poljskem, kjer je pogosta predvsem v asociaciji z vrstami podlubnikov iz rodu *Pityokteines* (Jankowiak in sod., 2017). Asociacije med podlubniki *Pityokteines* spp. in glivami iz rodu *Geosmithia* sta prva opisala Jankowiak in Bilański (2018), ki sta v isti raziskavi ločila tudi dve do tedaj neopisani vrsti gliv, *Geosmithia* sp. 9 in 16. Ravno vrsto *Geosmithia* sp. 9 sta prepoznala kot specialista, vezanega predvsem na tanjše veje *A. alba* in jelove podlubnike (Jankowiak in Bilański, 2018). Glive iz rodu *Ceratocystiopsis* v literaturi prav tako povezujejo s podlubniki iglavcev v Evropi in Severni Ameriki (Jankowiak

in sod., 2022). V svetu je najpogostejša in najbolj razširjena vrsta *C. minuta*, ki ima nekoliko nejasno taksonomijo.

Prispevek kaže na veliko pestrost in slabo raziskavnost asociacij gliv in njihovih vektorjev pri nas. Te asociacije imajo lahko negativen vpliv na ekonomsko in ekološko vrednost gostiteljskih dreves. Drevesa so namreč v prvi vrsti prizadeta zaradi napada podlubnikov, dodatno pa je njihovo zdravstveno stanje ogroženo zaradi delovanja gliv, povezanih s podlubniki. S takšnimi poskusi širimo naše vedenje in razumevanje delovanja tovrstno pomembnih gliv in žuželk ter njihovih asociacij.

## 5 Zahvala

Raziskava je nastala v okviru Javne gozdarske službe na Gozdarskem inštitutu Slovenije, ki jo financira Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano. Za poslan vzorec se zahvaljujemo gozdarjem Zavoda za gozdove Slovenije OE Tolmin.

## Viri

- Freude H., Harde K. W., Lohse G. A. 1981. Die Käfer Mitteleuropas 10: Bruchidae, Anthribidae, Scolytidae, Platypodidae, Curculionidae. Krefeld, Goecke & Evers Verlag: 295 str.
- Grüne S. 1979. Handbuch zur Bestimmung der europäischen Borkenkäfer. Brief illustrated Key to European Bark Beetles. Hannover: Schaper, Springer Verlag: 182 str.
- Jankowiak R., Bilański P. 2018. *Geosmithia* species associated with fir infesting beetles in Poland. Acta Mycologica, 53, 2: 1115. <https://doi.org/10.5586/am.1115>.
- Jankowiak R., Bilański P., Strzalka B., Linnakoski R., Bosak A., Hausner G. 2019. Four new *Ophiostoma* species associated with conifer- and hardwood-infesting bark and ambrosia beetles from the Czech Republic and Poland. Antonie van Leeuwenhoek, 112: 1501-1521. <https://doi.org/10.1007/s10482-019-01277-5>.
- Jankowiak R., Solheim H., Bilański P., Mukhopadhyay J., Hausner G. 2022. *Ceratocystiopsis* spp. associated with pine- and spruce-infesting bark beetles in Norway. Mycological Progress, 21, 61. <https://doi.org/10.1007/s11557-022-01808-x>.
- Jankowiak R., Strzalka B., Bilański P., Kacprzyk M., Lukášová K., Linnakoski R., Matwiejczuk S., Misztela M., Rossa R. 2017. Diversity of Ophiostomatales species associated with conifer-infesting beetles in the Western Carpathians. European Journal of Forest Research, 136: 939-956. <https://doi.org/10.1007/s10342-017-1081-0>.
- Kandasamy D., Zaman R., Nakamura Y., Zhao T., Hartmann H., Andersson M. N., Hammerbacher A., Gershenson J. 2023. Conifer-killing bark beetles locate fungal symbionts by detecting volatile fungal metabolites of host tree resin monoterpenes. PLoS Biology, 21, 2: e3001887. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001887>.
- Pfeffer A. 1995. Zentral- und westpaläarktische Borken- und Kernkäfer (Coleoptera: Scolytidae: Platypodidae). Naturhistorisches Museum Basel, Pro Entomologica: 310 str.
- Ranger C. M., Biedermann P. H. W., Phuntumart V., Beliagala G. U., Ghosh S., Palmquist D. E., Mueller R., Barnett J., Schultz P. B., Redding M. E., Benz J. P. 2018. Symbiont selection via alcohol benefits fungus farming by ambrosia beetles. Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America, 115, 17: 4447-4452. <https://doi.org/10.1073/pnas.1716852115>.
- Repe A., Kirisits T., Piškur B., de Groot M., Kump B., Jurec M. 2013. Ophiostomatoid fungi associated with three spruce-infesting bark beetles in Slovenia. Annals of Forest Science, 70: 717-727. <https://doi.org/10.1007/s13595-013-0311-y>.